

Univerzita Palackého v Olomouci

Diplomová práce

Olomouc 2013

Bc. Hana Vanžurová

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra buněčné biologie a genetiky



Charakterizace diploidní pšenice
***Triticum monococcum* jako zdroje nových genů**
pro šlechtění pšenice

Diplomová práce

Bc. Hana Vanžurová

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Molekulární a buněčná biologie

Forma studia: Prezenční

Olomouc 2013

Vedoucí práce: Mgr. Miroslav Valárik, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod metodickým vedením Mgr. Miroslava Valárika, Ph.D. a za použití uvedené literatury.

V Olomouci 8. května 2013

Bc. Hana Vanžurová

Souhrn

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je z hlediska výživy jednou z nejdůležitějších plodin světa. Pšenice poskytuje 20 % všech kalorií konzumovaných lidskou populací. Vzhledem k rozrůstající se lidské populaci, měnícím se klimatickým podmínkám a omezeným zdrojům osevních ploch je pšenice předmětem studií řady genetických a šlechtitelských programů zaměřených na navýšení jejího výnosu a kvality. Hlavní obstrukcí v tomto úsilí je její relativně velký allohexaploidní genom. Jednou z možností snížení komplexity pšeničného genomu je využití příbuzných druhů s nižším stupněm ploidie, které slouží jako modely pro jednotlivé subgenomy. V případě subgenomu A to nejčastěji bývá diploidní jednozrnka (*Triticum monococcum* L.). Ta může být díky své zachované genetické diverzitě použita jako zdroj nových genů k obohacení genomu pšenice seté. Cílem předkládané práce bylo studium agronomicky významných kvantitativních znaků u *Triticum monococcum* L. Práce se skládá ze dvou částí, teoretické a praktické.

Teoretická část práce je zaměřena na přehled vybraných kvantitativních znaků pšenice jednozrnky ovlivňujících výnos, kvalitu zrna a odolnost vůči biotickým a abiotickým stresům. V rámci praktické části byly dopěstovány dvě generace RIL mapovací populace *Triticum monococcum* L. a byla zahuštěna stávající vazebná mapa *Triticum monococcum* L. Mapa, s celkovou délkou 863 cM a 480 zamapovanými markery, byla použita k identifikaci QTL pro jedenáct znaků, které byly popsány v teoretické části práce. Znaky pro QTL analýzu byly sledovány po dobu čtyř let. Celkem bylo na sedmi chromozómech lokalizováno 35 lokusů pro devět kvantitativních znaků.

Summary

Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important crops in the world and provides 20 % all calories consumed by human population. In spite of climate changes, limited resources of arable land and fast growing human population are yield and quality improvements the major changes of sustainable agriculture. The main obstructions in identification of genes affecting wheat improvement are size and complexity of the allohexaploid wheat genome. One of the possibilities of reduction complexity wheat's genome is application of related species with lower ploidy. *Triticum monococcum* L. which is related to wheat genome A is frequently used for this purpose. The main advantage of the *Triticum monococcum* L. is diploid genome and well preserved genetic diversity can be used as source of new genes to enrichment bread wheat gene pool. The main aim of the proposed work was study of agricultural important qualitative traits of *Triticum monococcum* L. The work is composed of two parts, theoretical and practical.

The theoretic part of the work is targeted to reviewing of chosen qualitative traits of einkorn wheat which have the influence on yield, quality of grain and resistance of biotic and abiotic stress. Within of practical part of this work were cultivated two generations RIL mapping population *Triticum monococcum* L, and existing linkage map of *Triticum monococcum* L. was saturated with additional markers. Total length of the map was 863 cM with 480 markers. The map was used for identification QTL for 11 traits, which are described in the theoretic part. The quantitative traits were monitored for 4 years. In total on 7 chromosomes were mapped 35 loci of 9 quantitative traits.

Tímto bych chtěla poděkovat Mgr. Miroslavu Valárikovi, Ph.D. za jeho odborné rady, trpělivost a čas, který mi věnoval během zpracování mé diplomové práce. Můj dík patří též Mgr. Barboře Klocové za ochotu, čas a cenné připomínky. Dále bych ráda poděkovala Ing. Tiboru Sedláčkovi za statistické analýzy. Taktéž děkuji všem laborantkám a studentům z ÚEB v Olomouci, zejména Bc. Evě Komínkové a Bc. Zuzaně Tulpové, za pomoc při sázení a sběru dat, a dále doc. Ing. Jaroslavu Doleželovi, DrSc. za vytvoření excelentních podmínek pro vypracování diplomové práce.

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíle práce	9
3 Současný stav řešené problematiky	10
3.1 OBILOVINY.....	10
3.1.1 <i>Triticum aestivum</i> L.	11
3.1.2 <i>Triticum monococcum</i> L.....	12
3.1.3 <i>Triticum monococcum</i> L. jako zdroj nových genů pro šlechtění hexaploidní pšenice	13
3.2 AGRONOMICKY VÝZNAMNÉ KVANTITATIVNÍ ZNAKY	14
3.2.1 Obsah proteinů v zrnech.....	15
3.2.2 Váha zrn	17
3.2.3 Velikost zrn	19
3.2.4 Tvar zrn	21
3.2.5 Morfologie klasu	23
3.2.6 Odnožování a rozkladitost trsu.....	26
3.2.7 Výška rostliny	29
3.2.8 Chlupatost	30
3.2.9 Metání	31
4 Materiál a metodika	33
4.1 Rostlinný materiál	33
4.2 Přístroje	33
4.3 Chemikálie a roztoky	34
4.3.1 Vysokovýkonná izolace DNA.....	34
4.3.2 Polymerázová řetězová reakce (PCR).....	34
4.3.3 Nedenaturující polyakrylamidová elektroforéza	35
4.4 Metodika	36

4.4.1 Pěstování mapovací populace	36
4.4.2 Vysokovýkonná izolace DNA.....	37
4.4.3 Polymerázová řetězová reakce	38
4.4.4 Nedenaturující polyakrylamidová elektroforéza	39
4.4.5 Zahuštění vazebné mapy	39
4.4.6 Hodnocení fenotypu	40
4.4.7 Analýza QTL.....	43
4.4.8 Použité programy	43
5 Výsledky	44
5.1 Molekulární markery.....	44
5.2 Analýza QTL.....	46
5.3 Vazebná mapa	81
6 Diskuze	89
7 Závěr	95
8 Literatura	96
9 Seznam použitých zkratk	111

1 Úvod

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je zemědělsky významná plodina, která tvoří ~90 % světové produkce pšenice a je základní potravinou pro 40 % světové populace. Díky své nutriční hodnotě, nízké náročnosti na podmínky pěstování, jednoduché skladovatelnosti a dlouhé trvanlivosti zrn je nejrozšířenější obilovinou na světě. S ohledem na její stále rostoucí spotřebu a omezené množství osevních ploch je nutno pěstovat vyšlechtěné kultivary, které jsou odolnější a mají vyšší výnos. Překážkou při šlechtění pšenice je její velký genom ($2n = 6x = 42$, AABBDD, 1C = 17 Gb) se třemi homeologními subgenomy. Pro zjednodušení se používají blízké příbuzné druhy s nižším stupněm ploidie, které slouží jako modely pro jednotlivé subgenomy. Pro studium pšeničného genomu A je ideální blízké příbuzná *Triticum monococcum* L., u které je díky dostupnosti kultivované i plané formy zachována vysoká míra genetické diverzity využitelná pro obohacení genomu hexaploidní pšenice.

Předkládaná práce se zabývá studiem agronomicky významných kvantitativních znaků *Triticum monococcum* L.

2 Cíle práce

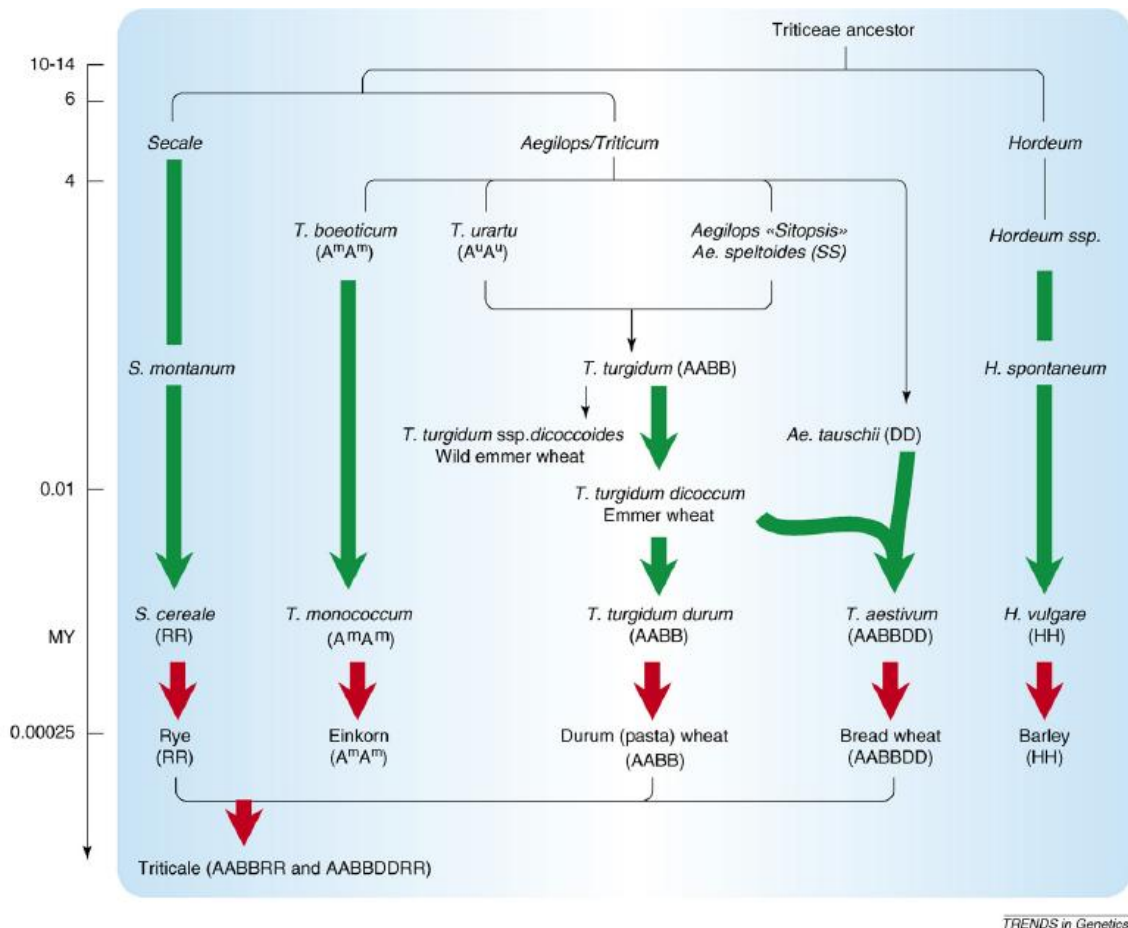
Cílem této diplomové práce je studium kvantitativních znaků *Triticum monococcum* L. významných pro šlechtění pšenice.

1. Dopěstování mapovací populace a její genotypování.
2. Návrh pokusu pro QTL mapování v sezóně 3 a 4.
3. Sběr dat a jejich vyhodnocení.
4. Integrace genetických map založených na PCR a DArT platformách.
5. Identifikace QTL a integrace sezón 1, 2, 3 a 4.
6. Vypracování diplomové práce.

3 Současný stav řešené problematiky

3.1 OBILOVINY

Čeď trávy (*Poaceae*) zahrnuje přes 10 000 druhů. Jejich reprodukční mechanismus, anatomie a genetická variabilita mají za následek velkou schopnost adaptovat se na široké spektrum přírodních podmínek, což umožnilo rozšíření trav od rovníku až za polární kruh (Keller a Feuillet, 2000). Agronomicky nejdůležitějšími plodinami této čeledi jsou obiloviny. Od počátku zemědělství (před více než 10 000 lety) představují obiloviny významný zdroj kalorií pro lidstvo. Díky svému relativně vysokému výnosu, nutriční hodnotě, bezproblémovému uskladňování a transportu se staly zemědělskou plodinou a některé byly domestikovány (Zohary a Hopf, 2000). Největší zastoupení domestikovaných druhů má tribus *Triticeae*, jehož zástupci tvoří v současnosti přes třetinu celosvětové produkce obilovin (Feuillet a kol., 2007). Součástí tribu *Triticeae* jsou rody *Triticum*, *Secale* a *Hordeum* (Obr. 1). Nejproduktivnější je rod *Triticum* (pšenice). Co se týče uspořádání genomu, jedná se o variabilní skupinu zahrnující diploidní ($2n = 2x = 14$), např.: *Triticum monococcum* L. a *T. boeoticum* Boiss., *T. urartu*, tetraploidní ($2n = 4x = 28$), např.: *T. turgidum* L., *T. turgidum* ssp. *durum*, *T. turgidum* ssp. *dicoccum* atd. a hexaploidní ($2n = 6x = 42$), např.: *T. spelta* L. a *T. aestivum* L. V současnosti je nejdůležitějším zástupcem *Triticum aestivum* L., která tvoří ~90 % světové produkce pšenice (<http://faostat.fao.org/>). Současně je základní potravinou pro 40 % lidské populace (<http://www.cimmyt.org/>). Z historického hlediska má obrovský význam *Triticum monococcum* L. (Devos a Gale, 1997; Feuillet a kol., 2007).



Obr. 1: Evoluce tribu *Triticeae*

(převzato z Feillet a kol., 2007)

3.1.1 *Triticum aestivum* L.

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je allohexaploidní obilovina ($2n = 6x = 42$, AABBDD), jejíž genom je složen ze tří homeologních subgenomů (A, B, D). Genom obsahuje asi 17 Gb (Bennett a Smith, 1991).

Prvním krokem vedoucím k polyploidizaci pšenice (před 0,5 až 3 miliony lety) byla hybridizace diploidní pšenice *Triticum urartu* ($2n = 2x = 14$, $A^u A^u$; donor genomu A; Dvořák a kol., 1988; Dvořák a kol., 1993), s dosud neznámým druhem ze sekce *Sitopsis*, blízké příbuzným s *Aegilops speltoides* (SS), který poskytl genom B (Dvořák a Zhang, 1990). Výsledkem byl fertilní tetraploid *Triticum turgidum* ($2n = 4x = 28$, $A^u A^u BB$). *Triticum turgidum* byla oproti svým diploidním předkům vitálnější, měla vyšší výnos a větší schopnost adaptace na měnící se environmentální podmínky. Před více než 10 000 lety byla

domestikována. Byla z ní vyšlechtěna řada odrůd, které byly pěstovány po celém světě. V současnosti má malý ekonomický význam pouze *Triticum turgidum* ssp. *durum* (pšenice tvrdá), která je pěstována na výrobu těstovin. Druhá evoluční událost, vedoucí k pšenici seté, se odehrála v oblasti na jih od Kaspického moře (před 8 000 až 10 000 lety), kde se pšenice tvrdá zkřížila s planým diploidním druhem *Aegilops tauschii* ($2n = 2x = 14$, DD), donorem genomu D. Tato hybridizace dala vzniknout hexaploidnímu druhu známému jako pšenice setá *Triticum aestivum* ($2n = 6x = 42$, AABBDD). Genom D nese geny pro lepší adaptaci na kontinentální klima střední Asie, což umožnilo další ekologické a geografické rozšíření pšenice. Mimo jiné kóduje proteiny zlepšující vlastnosti kynutých produktů pšenice. Kombinace těchto faktorů přispěla k celosvětovému rozšíření pšenice seté (Feuillet a kol., 2007).

3.1.2 *Triticum monococcum* L.

Triticum monococcum L., někdy též nazývána jako jednozrnka, je jednou z nejprimitivnějších obilovin. Jedná se o diploidní ($2n = 2x = 14$, $A^m A^m$) pluchatou pšenici s plochým dvouřadým osinatým klasem. Klas je křehký s lámavým větvením. Většina kulturních jednozrnek produkuje jedno zrnko na klásek, odtud její název, ale objevují se i kultivary se dvěma zrny (Zohary a Hopf, 2000).

Jednozrnka byla pravděpodobně první pšenicí, která byla široce kultivována, a to před více než 10 000 lety v oblasti „Úrodného půlměsíce“. Ta se rozkládala na území dnešního Egypta, Turecka, Iráku, Iránu, Izraele a Sýrie (Obr. 2), což je domovina plevele jednozrnky *Triticum boeoticum* Boiss. Z té byla působením selekce vyšlechtěna domestikovaná forma *Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum* (Heun a kol., 1997). Přes svůj nízký výnos byla po několik tisíciletí hlavní plodinou tohoto regionu, odkud byla díky adaptaci na chudé písčité, vápenaté a jílovité půdy, mrazuvzdornosti a odolnosti vůči různým patogenům masivně rozšířena. V současné době se jednozrnka pěstuje zejména jako krmivo pro zvířata a její zemědělský význam je minimální. Mnohem větší využití má jako zdroj nových alel pro zlepšení výnosu a kvality příbuzných kultivovaných pšenic, a to díky své zachované genetické variabilitě (Feuillet a kol., 2007; Zohary a Hopf, 2000).



Obr. 2: Oblast „Úrodného pŕlmĕsíce“ (zelenĕ), mĭsta domestikace jednozrnky
(převzato z Feuillet a kol., 2007)

3.1.3 *Triticum monococcum* L. jako zdroj nových genů pro šlechtĕní hexaploidní pšenice

Kultivací, domestikací a šlechtĕním se snižuje diverzita dnešních elitních kulturních plodin, jejichž genetický fond představuje pouze část možné rozmanitosti. Pro moderní zemědělství jsou proto velmi užitečné příbuzné planĕ rostoucí druhy (plodiny), které tvoří zdroj užitečných znaků (genů) a mohou být použity jako modelové rostliny (Feuillet a kol., 2007; Hajjar a Hodgkin, 2007; Rawat a kol., 2012). Vhodným genetickým modelem pro pšenici setou je pšenice jednozrnka, která je diploidní a blíže příbuzná s donorem subgenomu A hexaploidní pšenice, s *Triticum urartu*. Jednozrnka si zachovala velkou genetickou variabilitu (nebyla intenzivně šlechtĕna a zahrnuje planĕ i kultivované odrůdy) a je pro ni vytvořena relativně hustá genetická mapa (Dubcovsky a kol., 1996; Singh a kol., 2007).

Prostřednictvím *Triticum monococcum* L. byly zamapovány geny *VRN-1* a *VRN-2*, jejichž ortology byly identifikovány i u *Triticum aestivum* L. *VRN-1* a *VRN-2* jsou geny kontrolující potřebu jarovizace (vystavení chladu) rozdĕlující pšenici na ozimá a jařinu. Ozimá pšenice vyžaduje pro přechod z vegetativní do generativní fáze období nízkých teplot. Tento mechanismus zabraňuje poškození na chlad citlivého kvĕtního meristému během zimy.

Vernalizace spolu s citlivostí na délku dne hraje důležitou roli v adaptaci pšenice na řadu prostředí (Dubcovsky a kol., 1998; Yan a kol., 2003).

VRN-1 a *VRN-2* jsou hlavními geny jarovizace u jednozrnky. *Vrn-A^{m1}* byl zamapován na 5A^mL chromozómu (Dubcovsky a kol., 1998) a po té pozičně klonován (Yan a kol., 2003). Hexaploidní pšenice má tři ortologní geny jarovizace. Hlavním z nich je *Vrn-A1* (původně označován jako *Vrn1*), který je v dominantním stavu u jařiny, redukuje jarovizaci. *Vrn-A1* byl lokalizován na dlouhém raménku 5A chromozómu. *Vrn-B1* (původně *Vrn4* a *Vrn2*) byl zamapována na chromozómu 5B, *Vrn-D1* (původně *Vrn3*) se nachází na 5DL chromozómu.

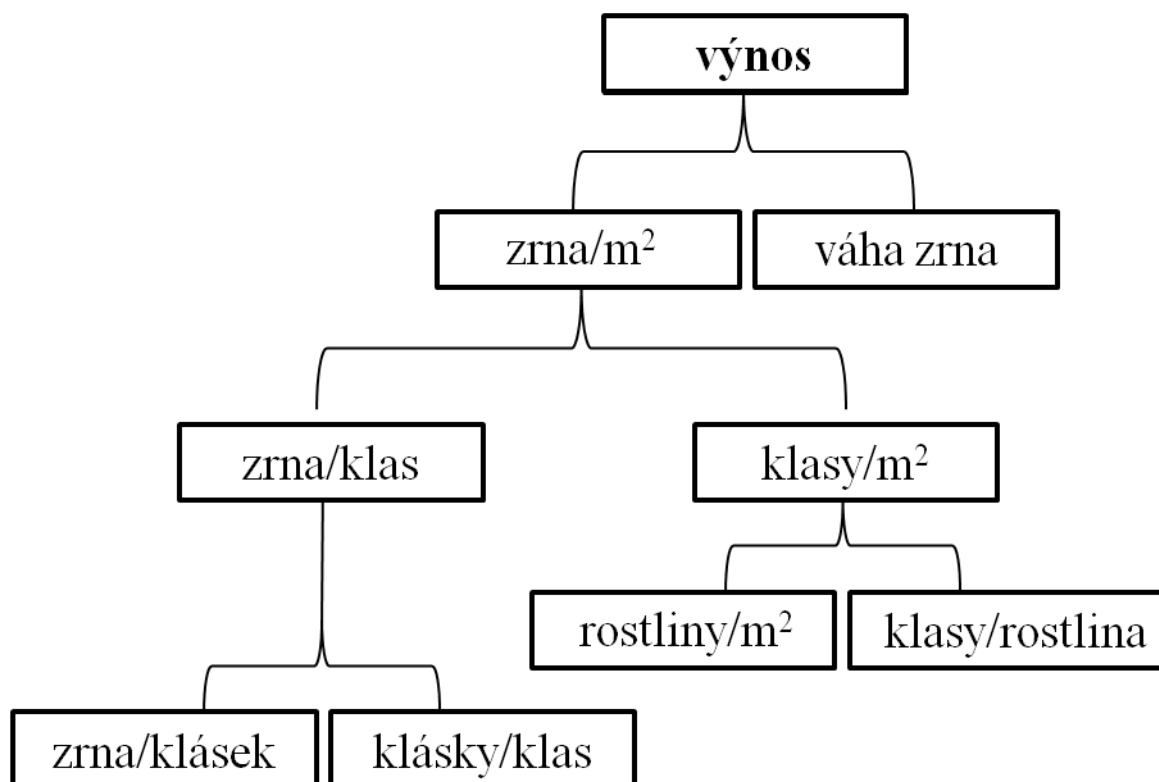
Druhý gen jarovizace nalezený u *Triticum monococcum* L., *Vrn-A^{m2}*, leží v distální oblasti chromozómu 5A^mL., v segmentu translokovaném z chromozómu 4A^m. Tento gen nebyl u *Triticum aestivum* L. mapován, přestože byla potvrzena jeho exprese (Dubcovsky a kol., 1998; Kosová a kol., 2008; Yan a kol., 2003; Yan a kol., 2004).

Pomocí *Triticum monococcum* L. byly identifikovány tři geny rezistence proti padlí (*Blumeria graminis*), a to *Pm1b*, *Pm25* a *pm2026*. Schmolke a kol. (2012) zamapovali na 2AL chromozómu novou alelu pro tuto rezistenci, *Pm4*. Faris a kol. (2003) s využitím BACové knihovny *Triticum monococcum* L. zaklonovali *Q* lokus, který hrál důležitou roli při domestikaci pšenice. Kuraparthi a kol. (2007) lokalizovali na dlouhém rameni 3A^m chromozómu mutantní mapovací populace *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* gen *tin3*. Jedná se o jeden z genů řídících odnožování.

3.2 AGRONOMICKY VÝZNAMNÉ KVANTITATIVNÍ ZNAKY

Kvantitativní znaky vykazující kontinuální fenotypovou variabilitu jsou řízeny QTL (*quantitative trait loci*, lokus s kvantitativním znakem). QTL jsou místa na chromozómech, s jedním nebo více geny, podílející se různou měrou na projevu daného znaku. Mezi agronomicky významné kvantitativní znaky řadíme např. toleranci k biotickým a abiotickým stresům, dobu kvetení, kvalitu zrna a výnos. Výnos lze definovat jako výsledek růstu a vývojového procesu plodiny (Slafer, 2003). Jedná se o komplexní znak podmíněný více geny s nízkou dědivostí, jehož projev je silně ovlivňován environmentálními podmínkami (Cuthbert a kol., 2008). Hlavními komponenty výnosu jsou: množství klasů na m², počet zrn na klas a velikost zrn nebo taky váha tisíce zrn (Obr. 3). Jednotlivé komponenty vykazují

vyšší dědivost a menší citlivost k vnějším podmínkám než výnos jako celek (Cuthbert a kol., 2008). Výnos ať přímo či nepřímo souvisí s dalšími kvantitativními znaky (výška rostliny, počet odnoží, obsah proteinů v zrnech atd.), které jsou charakterizovány v následujících podkapitolách.



Obr. 3: Podrobné schéma jednotlivých komponentů výnosu

(upraveno podle Slafer, 2003)

3.2.1 Obsah proteinů v zrnech

GPC (*grain protein content*) je kvantitativní znak, který ovlivňuje nutriční hodnotu zrn a kvalitu z nich vyrobených potravin. Hodnotí se nejen typ přítomných proteinů, ale i jejich procentuelní zastoupení.

Majoritním proteinem (až 80 % proteinového obsahu) v pšeničných obilkách je lepek. Ten je tvořen dvěma hlavními frakcemi: gliadiny a gluteniny. **Gliadiny** dělíme, na základě jejich pohyblivosti v PAA gelu, na α -, β -, γ - a ω -gliadiny. U pšeničných odrůd pěstovaných na výrobu nudlí je vyžadována přítomnost γ -gliadinu 45 namísto γ -gliadinu 42. γ -gliadin 45

totiž výrazně zvyšuje kvalitu vařených těstovin (Kosmolak a kol., 1980). **Gluteniny** tvoří dvě skupiny lišící se molekulovou hmotností, a to HMW-GS (vysoká molekulová hmotnost) a LMW-GS (nízká molekulová hmotnost; Bietz a Wall, 1972). HMW podjednotky jsou kódovány *Glu-1* lokusy na dlouhých ramenech chromozómů skupiny 1, které vykazují značnou genetickou variabilitu (Payne a kol., 1987). Tato ovlivňuje pekařskou kvalitu, konkrétně viskoelastické vlastnosti těsta. Pro ohodnocení pekařského potenciálu pšeničných kultivarů zavedl Payne (1987) statistický přístup, při kterém je každé gluteninové podjednotce přiřazeno kvalitativní skóre. Z hodnot jednotlivých podjednotek je vypočítána celková chlebopekárenská kvalita kultivaru (s maximální hodnotou 10).

Z kvantity, kvality a vzájemné kombinace jednotlivých frakcí lepku se odvíjí kvalita mouky a následně i její využití. To může být, podle obsahu proteinů, následující: 10,5 % až 14 % pekárenský průmysl, 8 % až 11,5 % výroba nudlí, méně jak 8,5 % cukrárenský průmysl. Zrna s obsahem proteinů nad 14 % se přidávají do směsí k zrnům s nízkou kvalitou proteinů (Bushuk, 1998).

GPC, stejně jako další kvantitativní znaky, je silně ovlivňován environmentálními podmínkami (úrodností půdy, teplotou, srážkami, množstvím dusíku atd.; Groos a kol., 2003; Krupnov a Krupnova, 2012). Genotyp zodpovídá pouze za 5 % variability znaku (Johnson a kol., 1973). Rozdíly v GPC se objevují nejen mezi jednotlivými rostlinami populace ale i mezi obilkami klasu (Stuber a kol., 1962). Stejně tak lze pozorovat odlišné hodnoty GPC mezi jařinou a ozimem a mezi tetraploidní a hexaploidní pšenicí, přičemž vyšší obsah proteinů má vždy první ze srovnávané dvojice (Shilbom, 1962). Variabilita GPC mezi planou a kultivovanou pšenicí je zapříčiněna hybridizací genomu DD *Aegilops tauschii* s tetraploidním genomem AABB (Tyuterev a kol., 1973). Přestože pro *Aegilops tauschii* není typický nízký obsah proteinů, interakcí jeho genomu s genomem AABB dochází k vzájemné supresi genů pro vysoký GPC (Kushnir a Halloran, 1982; Zlatska a Sozinov, 2003). Z tohoto důvodu má planá pšenice vyšší obsah proteinů než ta kultivovaná, u které se GPC pohybuje v rozmezí 10 % až 14 % (Blanco a kol., 2006). Cílem šlechtitelů je navýšit tuto hodnotu. Setkávají se tu však s řadou komplikací. Hierarchie kontrolující GPC je složitá. Dosud nebyl objasněn molekulární mechanismus regulace tohoto znaku. Na projevu GPC se totiž podílejí nejen QTL umístěné na různých chromozómech, podmínky prostředí (mimo jiné dostupnost dusíku v půdě), ale i řada regulačních genů ovlivňujících např. expresi podjednotek gluteninu (*Glu-1A*, *Glu-1B*, *Glu-1D*; Payne a kol., 1987) a skladování proteinů (Kulwal a kol., 2005).

Dalším úskalím je negativní korelace GPC s komponenty výnosu a tedy nemožnost současného navýšení obou těchto pěstitelsky významných znaků (Loffler a Busch, 1982).

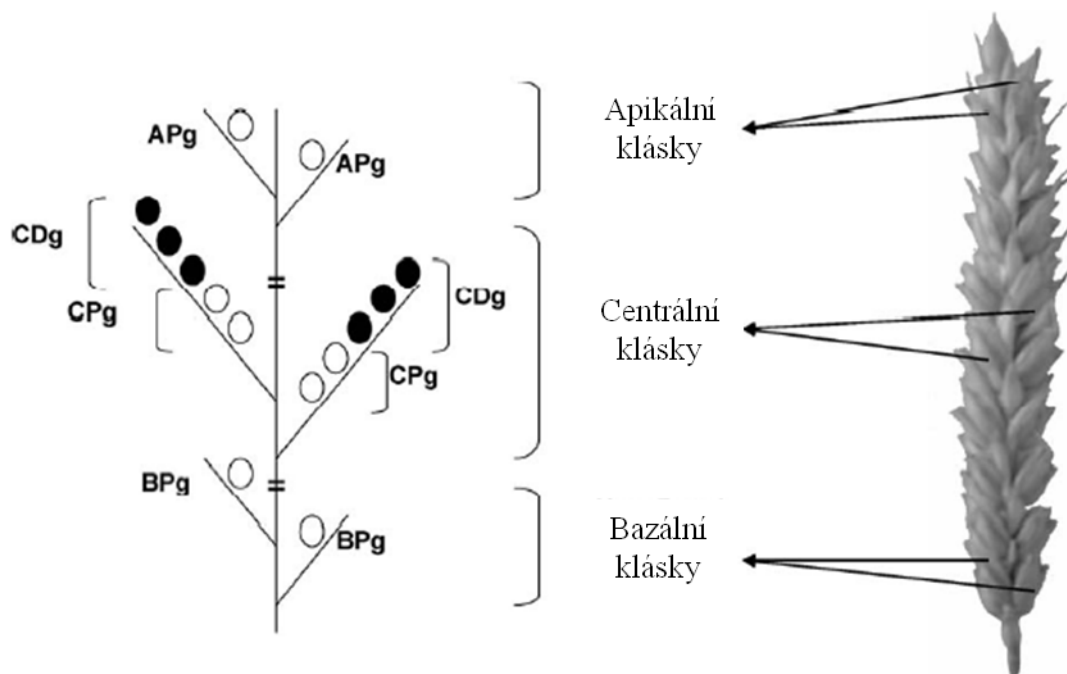
Řada již vyšlechtěných linií s vysokou hodnotou GPC však naznačuje, že tyto problémy nejsou neřešitelné (Zlatska, 2005). Podmínkou zdařilého transferu genetického materiálu nesoucího požadovaný znak je schopnost párování donorových chromozómů s chromozómy recipienta. *Triticum aestivum* se relativně jednoduše páruje s chromozómy tetraploidních pšenic. Opačně tomu je např. u druhů *Aegilops*. Výjimkou jsou *Aegilops speltoides* a *Aegilops mutica*, které nesou geny blokuující *Ph* systém (systém zabraňující homeolognímu párování chromozómů; Riley a kol., 1961).

QTL pro GPC byly zamapovány jak při genetické analýze hexaploidní pšenice, tak i tetraploidní pšenice. Konkrétně na chromozómech 2A, 2D, 3A, 4D, 7A a 7D (Börner a kol., 2002; Groos a kol., 2003), respektive 4B, 5A, 6A, 6B, 7A a 7B (Blanco a kol., 2002). Uauy a kol. (2006) zaklonovali *Gpc-B1*, pšeničný kvantitativní lokus ovlivňující obsah proteinů, zinku a železa v zrnech.

3.2.2 Váha zrn

Váha zrn (KW, *kernel weight*) je jedním ze tří hlavních komponentů výnosu. Nejčastěji je uváděna jako váha tisíce zrn (TKW, *thousand-kernel weight*). Stejně jako u ostatních kvantitativních znaků, i v tomto případě, je konečný projev znaku výsledkem interakce genů (s nízkou dědivostí) s environmentálními podmínkami. Váha zrn je mimo jiné ovlivňována korelací s dalšími kvantitativními znaky. Cui a kol. (2011) potvrdili stabilní genetickou asociaci KW s rozměry pšeničného zrna. Nejsilnější vliv má šířka obilky, následně její délka. Průměr zrna má pro tento znak minimální význam. Váha zrn se mění i v závislosti na jejich množství. Průměrná váha zrn na jednotku plochy je s nárůstem počtu zrn redukována. Avšak vzhledem k poloze jednotlivých zrn na klasu není snížení váhy tak výrazné (kromě apikální oblasti; Obr. 4). Obecně platí, že proximální zrna v centrální oblasti klasu jsou těžší než ta distální. To je nejspíše zapříčiněno dříve započatým vývojem proximálních květů (González a kol., 2005), které mají větší pestíky (Calderini a Reynolds, 2000). Nárůst počtu zrn negativně ovlivňuje proximální zrna v bazální, centrální i apikální oblasti. Naopak váha distálních zrn v centrální oblasti klasu pozitivně koreluje s počtem zrn (Acreche a Slafer;

2006). Jak již bylo výše zmíněno, váha zrn je ovlivňována řadou environmentálních vlivů, např. teplotou. Ugarte a kol. (2007) při své studii zjistili, že zvýšená teplota před obdobím kvetení (zejména v době elongace stonku) může způsobit výrazné snížení KW. V případě, že maximální teploty překročí 27°C, může dojít k produkci sterilních zrn (Mitchell a kol., 1993).



Obr. 4: Pozice zrn na klasu

Proximální zrna (bílá kolečka) v apikálních (APg), centrálních (CPg) a bazálních (BPg) kláscích a distální zrna (černá kolečka) v centrálních kláscích (CDg). (převzato z Acreche a Slafer, 2006)

QTL pro KW byly zamapovány na chromozómu 1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2D, 3A, 3B, 3D, 4A, 4B, 5A, 5B, 6A, 7A, 7D (Börner a kol., 2002; Cui a kol., 2011; Cuthbert a kol., 2008; Groos a kol., 2003; Huang a kol., 2003; Huang a kol., 2004; Kumar a kol., 2006; Mir a kol., 2012; Tsilo a kol., 2010). Na chromozómech 2B, 5B a 7D jsou lokalizovány společně s QTL pro výnos. Jelikož má TKW vyšší dědivost, dalo by se tohoto společného výskytu QT lokusů využít ve šlechtitelských programech ke zvýšení výnosu (Groos a kol., 2003).

Röder a kol. (2008) jemným mapováním dříve popsaného QTL, konkrétně v telomerické oblasti chromozómu 7DS (*QTgw.ipk-7D*), potvrdili přítomnost genu *gw1* regulujícího váhu zrn.

Zhang a kol. (2012b) na základě vazebného mapování, asociační analýzy a analýzy exprese genu *TaCKX6-D1* (pšeničného ortologu rýžového genu *OsCKX2*) prokázali jeho výraznou asociaci s TKW. *TaCKX6-D1* kóduje cytokinin oxidázu/dehydrogenázu (CKX). CKX se ireverzibilní degradací cytokininů (CK) podílejí na regulaci CK-dependentních procesů, jako je např. proliferace a diferenciacie rostlinných buněk, senescence, transdukce nutričních signálů a rostlinná produktivita (Schmülling a kol., 2003). Funkce jednotlivých CKX se v závislosti na rozdílných způsobech exprese liší. Konkrétně *OsCKX2* je převážně exprimována v květenstvích, naopak *TaCKX6* v zrnech. Redukcí exprese *OsCKX2* dochází k akumulaci CK v meristému květenství, což vede k navýšení počtu reprodukčních orgánů a tím pádem i počtu zrn. Naopak snížená exprese *TaCKX6* je spojena s nárůstem váhy zrn (Zhang a kol., 2012b).

3.2.3 Velikost zrn

Velikost zrn je důležitým komponentem výnosu, definovaným třemi rozměry: délkou, šířkou a tloušťkou. Tyto pozitivně korelují s váhou zrn (Bednarek a kol., 2012; Cui a kol., 2011; viz kapitola 3.2.2). V rámci rostlinné říše se jedná o velmi variabilní znak. Jako příklad lze uvést rozdíl váhy semene orchideje (0,0001 mg) a palmy *Lodoicea maldivica* (20 kg). Značné rozdíly jsou i v rámci počtu zrn. Již zmíněná orchidej jich vyprodukuje zhruba 4 000 000. Naopak *Lodoicea maldivica* má pouze 1, které však patří mezi největší v rostlinné říši. Z tohoto srovnání je zřejmá negativní korelace mezi velikostí a počtem semen (Grupta a kol., 2006).

U zemědělsky významných plodin, mezi které patří i pšenice, lze v rámci domestikace pozorovat trend vedoucí ke zvětšování zrn. Konkrétně při přechodu plané jednozrnky (*Triticum monococcum* ssp. *aegilopoides*) na domestikovanou formu *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* nebo při přechodu tetraploidní pšenice *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* na *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Obr. 5; Gegas a kol., 2010). Tento proces je pochopitelný. Nejenže větší zrna znamenají vyšší výnos, ale souvisí i s vyšší životaschopností semínek a lepší klíčivostí (Su a kol., 2011). Avšak zajistit vysoký výnos jednoduchou selekcí rostlin s velkými semeny (fenotypová selekce) není příliš efektivní. Tento znak je totiž silně ovlivňován řadou ekologických faktorů: fotoperiodita, půdní podmínky, srážky, množství CO₂ ve vzduchu, teplota, nadmořská výška, zeměpisná šířka atd. Dále tu jsou fyziologické

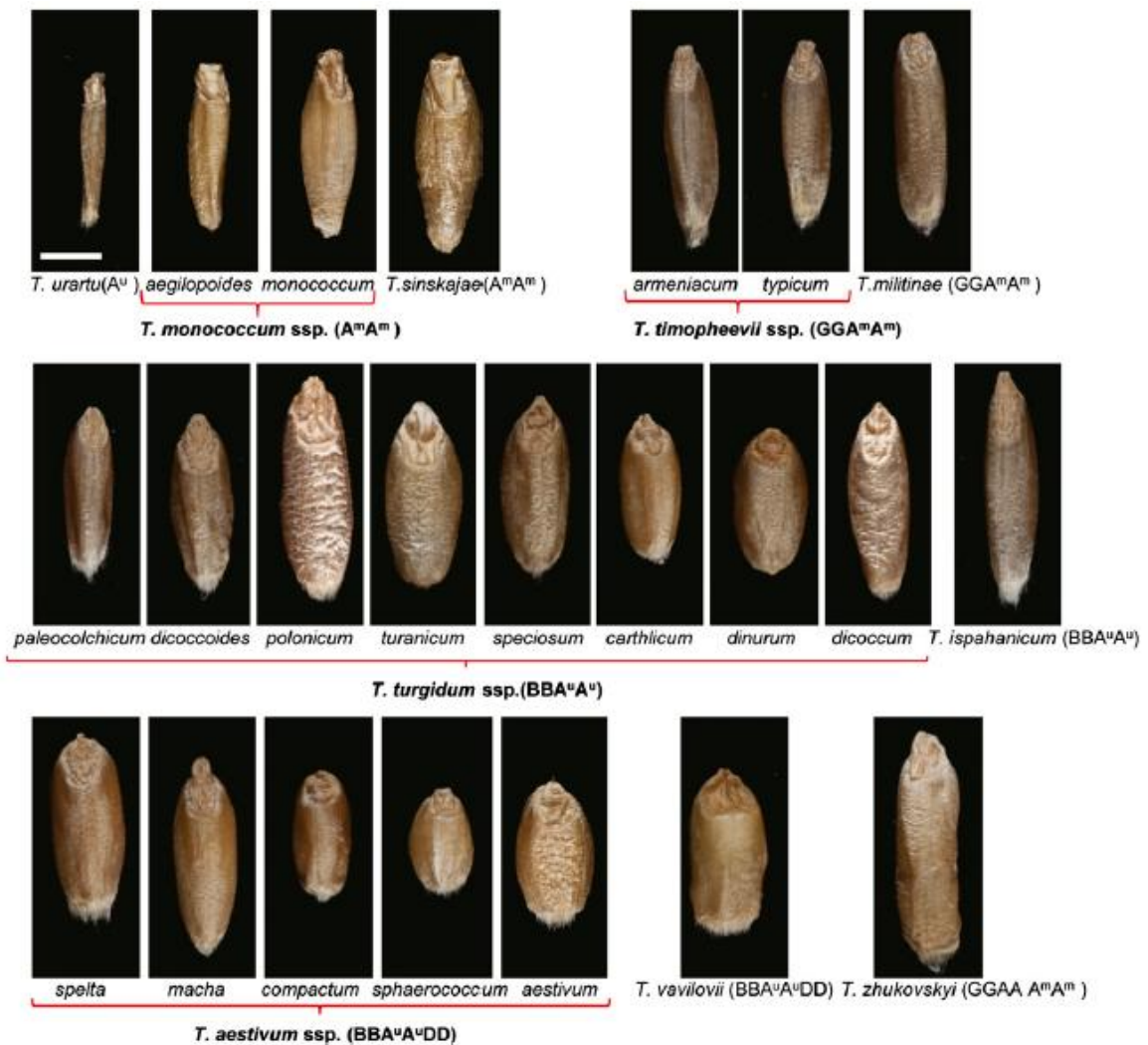
faktory, které působí nepřímo, a to ovlivňováním rychlosti a doby plnění zrn, rychlosti fotosyntézy, množství a velikosti buněk ve vyvíjejícím se zrně atd. (Grupta a kol., 2006). Spolehlivější a méně časově náročnou alternativou k fenotypové selekci je markery asistovaná selekce (MAS).

Přestože bylo u pšenice zamapováno několik QTL pro velikost zrn (na chromozómech 1A, 1D, 2A, 2D, 6B, 7A; Breseghello a Sorrells, 2007; Tsilo a kol., 2010), byl doposud izolován a plně charakterizován pouze jeden gen kontrolující tyto QTL, a to **TaGW2** (Bednarek a kol., 2012; Su a kol., 2011). Opakem je rýže s klonovanými a prozkoumanými geny **GS3** (Fan a kol., 2006), **GW2** (Song a kol., 2007) a **GW5** (Weng a kol., 2008).

TaGW2 je homologem rýžového genu *GW2*. Ten byl izolován z QTL kontrolujícího šířku a váhu zrn lokalizovaného na krátkém rameni chromozómu 2. *GW2* kóduje E3 ligázu typu RING, která ubikvitinací proteinového substrátu (není znám) výrazně redukuje velikost zrn. Naopak *TaGW2* u pšenice pozitivně reguluje dělení a plnění vyvíjející se obilky. To má za následek větší a těžší obilky. *TaGW2* byl zamapován na 6AS chromozómu v blízkosti centromery (Bednarek a kol., 2012; Su a kol., 2011).

Opačná funkce dvou ortologních genů není příliš obvyklá. Důvodem může být interakce s jinými proteiny zapříčiněná buď to (1) odlišnou lokalizací produktů těchto genů (*GW2* v cytozolu; *TaGW2* v cytozolu i v jádře) nebo jejich (2) stavbou. Přestože produkty genů *GW2* a *TaGW2* mají 87% shodu v aminokyselinovém složení, jejich vazebné domény (C-konec) jsou odlišné (Bednarek a kol., 2012).

TaGW2 může být důležitým nástrojem pro posílení výnosu pšenice, jakým je u rýže např. již výše zmíněný gen *GS3*. *GS3* protein se skládá ze čtyř domén (OSR, TNFR/NGFR, VWFC) a funguje jako regulátor velikosti zrn a rostlinných orgánů. OSR doména, umístěná na N-konci proteinu, je nezbytná pro negativní regulaci. Ztráta její funkce nebo případná delece domény má za následek produkci dlouhých zrn. Interakce TNFR/NGFR a C-terminální domény VWFC s OSR vede k její inhibici. Produkovaná zrna jsou redukována, stejně tak rostlinné orgány (Mao a kol., 2010).



Obr. 5: Variabilita tvaru a velikosti obilek rodu *Triticum*

(převzato z *Gegas a kol., 2010*)

3.2.4 Tvar zrn

Tvar zrn je agronomicky důležitým znakem řady obilovin, jako je rýže, pšenice, ječmen a další, který at' přímo či nepřímou souvisí s kvalitou a kvantitou obilek (Iwata a kol., 2010). Například od tvaru (a dalších kritérií) plodů ječmene se odvíjí jejich vhodnost pro sladování (Ayoub a kol., 2002). U pšeničných zrn je tvar důležitým prvkem pro stanovení jejich tržní hodnoty, protože spolu s hustotou a uniformitou ovlivňuje výtěžek a kvalitu mouky. Ve srovnání s primitivními pšeničnými druhy dochází směrem k domestikovaným pšenicím k redukci fenotypové variability ve tvaru obilek, které jsou v současnosti kratší a širší (Obr. 5). V případě pšenice se však nezdá být tvar obilek hlavním komponentem

domestikačního syndromu (je jím velikost zrn). Jinak je tomu u rýže, která byla během domestikace selektována jak na základě velikosti zrn, tak na základě jejich tvaru (Gegas a kol., 2010). Podle tvaru obilek dělíme rýži na dlouhozrnou (poměr délky zrna (GL, *grain length*) k jeho šířce (GW, *grain width*) je > 3), se střední délkou zrn (mezi 2,1 a 2,9) a krátkozrnou (< 2 ; Bai a kol., 2010). Tyto tři kategorie se liší kuchařskou kvalitou. Ta je ovlivňována nejen chemickými složkami a texturou zrn, ale podle některých studií i tvarem obilek (Yang a kol., 2001, cit. Bai a kol., 2010). Pro většinu dlouhých rýžových zrn je typický vysoký obsah amylozy. Tato zrna jsou po uvaření pevná, měkká a nelepí. Krátká a středně dlouhá zrna mají nízký obsah amylozy a po uvaření jsou měkká a lepkavá. Díky těmto vlastnostem dochází k odlišné preferenci rýžových zrn. V Severní a Jižní Americe, na jihu Číny a v Evropě upřednostňují dlouhé a štíhlé obilky. Naopak v Japonsku, na severu Číny a v Severní a Jižní Koreji to jsou krátká a zaoblená zrna (Bai a kol., 2010).

Tvar obilek, GL, GW a GT (tloušťka), pozitivně koreluje s velikostí, která je obvykle hodnocena jako váha tisíce zrn (TKW). Nejsilnější korelace je mezi GW a TKW (Sun a kol., 2009). Pro svůj podíl na výnosu a kvalitě obilovin přitahuje tvar obilek značnou pozornost v řadě šlechtitelských programů. Jedná se o komplexní znak kontrolovaný mnoha geny s malým efektem. Studium charakteristických rýžových mutantů byly nalezeny geny *Lk-f* a *Mi* řídící délku zrn (Bai a kol., 2010). QTL pro tvar obilek byly detekovány jak u pšenice, pro KW na 1A, 1B, 2A, 2B, 2D, 3D, 5D, 6A, pro KL na 1B, 2B, 4A, 2D, 3B, 4B, 5B, 5D, 6B, 7B (Breseghello a Sorrells, 2007; Dholakia a kol., 2003; Sun a kol., 2009; Tsilo a kol., 2010), tak u rýže (Bai a kol., 2010) a ječmene (na všech chromozómech; Ayoub a kol., 2002). U rýže bylo plně izolováno a charakterizováno 5 QTL kontrolujících tvar obilek (Hu a kol., 2012). Nejvýznamnějším QTL je *GS3*, který hrál důležitou roli při domestikaci kultivované rýže. *GS3* se skládá ze tří domén (OSR, TNFR/NGFR, VWFC), přičemž mutace (jedno-nukleotidová „nonsense“ substituce) v jedné z nich (OSR) vedla k výraznému prodloužení obilek. Druhy s touto alelou byly během šlechtění silně preferovány a následně celosvětově pěstovány (Fan a kol., 2006; Mao a kol., 2010). Na chromozómu 5 je umístěn lokus *GS5* fungující jako pozitivní regulátor šířky obilek. Pozitivní efekt pro šířku zrn má i lokus *GWS*. *qSW5/GW5* identifikované na chromozómu 5 jsou negativními regulátory, jejichž mutantní alela způsobuje navýšení šířky obilky. Stejně tak *GW2* kódující E3 ubikvitin ligázu typu RING, která redukuje buněčné dělení. Zmutovaná alela podporuje buněčné dělení klásků, což vede k nárůstu šířky zrn a jejich váhy. Homology tohoto genu byly nalezeny u kukuřice, *ZmGW2-CHR4*, kde je spojen se šířkou zrn a TKW a u pšenice, *TaGW2*, přičemž *TaGW2* má

opačný účinek než *GW2* (Bai a kol., 2010; Bednarek a kol., 2012; Gegas a kol., 2010; Hu a kol., 2012; Li a kol., 2011; Shao a kol., 2012; Song a kol., 2007; Su a kol., 2011; Weng a kol., 2008). Dalšími lokusy s vlivem na GL, GW a GT rýže jsou na chromozómu 7, a to *GS7* (Shao a kol., 2012) a *qGL7* (Bai a kol., 2010). Talukdar a Zhang (2008) zamapovali na rýžovém chromozómu 8 kvantitativní lokus *gw8* pro šířku zrn. Nově byl na chromozómu 3 identifikován *qGL3-1* pro délku obilek (Hu a kol., 2012).

3.2.5 Morfologie klasu

Klas obilovin se v rámci kultivarů liší řadou morfologických znaků, které jsou důležitým kritériem pro jejich třídění. Jedná se o délku a šířku klasu, jeho tvar, počet klásků na klas, hustotu klasu (poměr mezi počtem klásků na klas a délkou klasu), atd. (Obr. 6). Hlavními geny kontrolujícími tyto vlastnosti jsou *Q*, *C* a *SI* (Sourdille a kol., 2000).

Q gen má vysoký stupeň podobnosti se členy *APETALA2* rodiny transkripčních faktorů a hraje důležitou roli při domestikaci pšenice (Simonov a Pshenichnikova, 2012). Všechny plané pšenice tzv. speltoidního fenotypu jsou nositelkami recesivní *q* alely (Obr. 7). Tyto mají tvrdé pluchy, které při loupání obilek vyžadují větší mechanické působení (tzv. *non-free-threshing*). Klas se po dozrání rozpadá celý, tj. včetně vřetene (Jantasuriyarat a kol., 2004; Sourdille a kol., 2000). Spontánní mutace, substituce jedné aminokyseliny v tomto genu, dala vzniknout dominantní *Q* alele, která měla obrovský význam pro zemědělství (Simons a kol., 2006). Nositelkami *Q* alely jsou tetra- a hexaploidní druhy pšenice s hustým klasem (tzv. *square-headed*; redukce délky a současné navýšení počtu klásků), nelámavým vřetenem (v oblasti klasu) a s *free-threshing* obilkami (Obr. 7; Jantasuriyarat a kol., 2004; Sourdille a kol., 2000). *Q* gen pleiotropně ovlivňuje mnoho dalších domestikačních znaků jako je tvar a pevnost pluch, výška rostliny a doba vzniku klasu (Simons a kol., 2006). Tyto vlastnosti umožnily efektivní sklizeň obilí ve velkém měřítku, což je jeden z důvodů, proč byla polyploidní pšenice tak rychle celosvětově rozšířena (Zhang a kol., 2011). Fenotypová variabilita *Q* genu je připisována alelickému kolísání, rozdílnému genetickému pozadí a interakcím tohoto genu s dalšími lokusy ovlivňujícími vlastnosti pluch a stonku (Jantasuriyarat a kol., 2004). Kerber a Dyck (1969) zjistili, že zkřížením tetraploidní *free-threshing* pšenice ($2n = 4x = 28$, AABB) s *Aegilops tauschii* ($2n = 2x = 14$, DD) vznikne *non-free-threshing* hexaploidní pšenice, přestože je dominantně homozygotní pro *Q*. To je

způsobeno přítomností částečně dominantního genu **Tg** (pro houževnatost pluch) na 2D chromozómu. Tento gen je odvozený od *Aegilops tauschii* a inhibuje expresi genu *Q*. Pro *free-threshing* fenotyp musí být *tg* alela v recesivním stavu a *Q* alela v dominantním (Kerber a Rowland, 1974).

Hexaploidní pšenice jsou na základě výše uvedených vlastností rozdělovány do 6 poddruhů: *vulgare*, *sphaerococcum*, *compactum*, *spelta*, *macha* a *vavilovii*. Pro *sphaerococcum*, *compactum* a *vulgare* jsou typická pevná (nerozpadavá) větvena a *free-threshing* semínka. Naopak *spelta*, *vavilovii* a *macha* mají křehká větvena a nejsou *free-threshing* (Jantasuriyarat a kol., 2004).

Q gen byl zamapován na 5AL chromozómu (Faris a Gill, 2002; Snape a kol., 1985). Homeologní *q* lokusy na 5BL a 5DL spolu s 5AQ/q ovlivňují řadu domestikačních znaků. Přispívají k potlačení speltoidního fenotypu. Jejich funkce je však závislá na přítomnosti konkrétní alely genu (5AQ/q), přičemž 5AQ funguje jako represor exprese 5Bq a 5Dq (Obr. 6; Zhang a kol., 2011).

C gen byl zamapován na 2D chromozómu v blízkosti centromery. Jeho dominantní alela přispívá k vývoji krátkých rovnoměrně hustých kompaktních klasů u pšenic patřících do skupiny *Triticum compactum* (Unrau, 1950). Pro *Triticum sphaerococcum* je charakteristická přítomnost recesivní *sI* alely vedoucí k produkci kulatých zrn na krátkých klasech porostlých krátkými hustými osinami, případně bez osin. Tento gen byl lokalizován na krátkém rameni 3D chromozómu (Rao, 1977).

Na výsledné morfologii klasu se nepřímo podílejí i další geny, a to např. **Ppd1** a **Ppd2** geny kontrolující fotoperiodickou odezvu. Ty regulací délky životního cyklu redukovují počet vyvíjejících se klásků (Jantasuriyarat a kol., 2004). Dále je tu řada QTL. QTL podílející se na vývoji klásků byly zamapovány na 2B, 3A, 3D, 4A, 6D, 7A a 7B chromozómech. QTL ovlivňující délku klasu byly lokalizovány na chromozómech 1B, 4A, 4D, 5A, 6A a 7A. QTL pro *free-threshing* obilky byly nalezeny na chromozómech 2A, 2B, 2D, 5A, 6A a 6D. Fragilitu větvene regulují QTL na 1B, 2B, 4A, 5A, 6A, 6D a 7B (Börner a kol., 2002; Jantasuriyarat a kol., 2004; Kato a kol., 1999; Kato a kol., 2000; Simonetti a kol., 1999; Sourdille a kol., 2000).



Obr. 6: Morfologie klasu pšenice v závislosti na kombinaci Q/q lokusů homeologních chromozómů a na chromozomální delecii v oblasti Q/q lokusů

(CS) *Triticum aestivum* cv. *Chinese Spring*; (q) pseudogen; (--) delece zahrnující Q/q lokus

Delece $5AQ$ (CS del143) nebo její nahrazení $5Aq$ (CS-DIC 5A) vede oproti CS k navýšení transkripce $5Bq$ a $5Dq$. Delece $5Dq$ (CS 5DL-5) snižuje míru transkripce $5AQ$, ale na transkripci $5Bq$ nemá žádný efekt. Delece pseudogenu $5Bq$ (CS 5BL-14) snižuje transkripci lokusu $5Dq$ a nepatrně redukuje přepis $5AQ$. Během delece $5AQ$ a $5Dq$ (CS 5A/5Ddd), kdy není tvořen funkční protein Q ani q, je úroveň transkripce $5Bq$ nižší než u CS a CS del143. (převzato ze Zhang a kol., 2011)



Obr. 7: Vliv 5AQ na morfologii klasu

A: (**vlevo**) díky 5AQ je klas hustý (*square headed*); (**vpravo**) absence 5AQ vede ke speltoidnímu klasu, který má tvar kopí a je delší, což je důsledek prodlužování jednotlivých segmentů větene.

B: (**vlevo**) zrna jsou díky 5AQ *free-threshing*. Při bázi plevy dochází k jejímu oddělení od větene klasu. To zůstává neporušené.; (**vpravo**) kvůli absenci 5AQ drží plevy kolem zrn pevněji. Proto je nutné mechanické působení během jejich loupání. Semena se oddělují v celých kláscích, u jejichž báze zůstává připevněna část větene. Vřeteno se rozpadne společně s klasem. (*převzato ze Zhang a kol., 2011*)

3.2.6 Odnožování a rozkladitost trsu

Odnožování obilovin je důležitým agronomickým znakem. Odnože se formují z úzlabních pupenů v odnožovacím uzlu (Obr. 8; Spielmeyer a Richards, 2004). Koordinovaně s nimi se tvoří i kořenový systém. Vývoj odnoží je dvou krokový proces zahrnující (1) iniciaci růstu odnoží a (2) následně jejich přežití až do reprodukční fáze rostliny. Během toho dochází k diferenciaci odnoží na plodné (s klasy) a neplodné (bez klasů). Odnože produkující klasy jsou klíčovým komponentem výnosu. Proto redukce

neplodných odnoží a navýšení podílu plodných odnoží je jednou z cest ke zlepšení výnosu řady obilovin (Naruoka a kol., 2011).

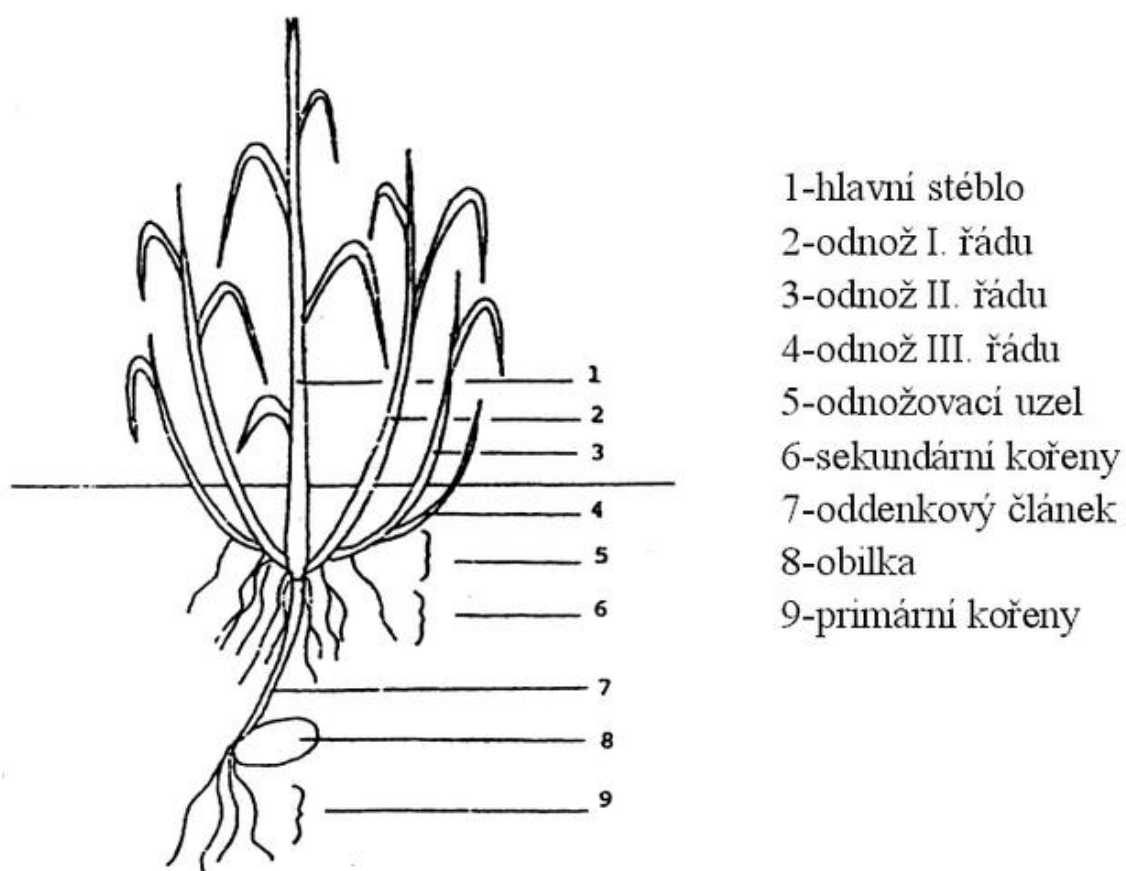
V současné době ještě není zcela přesně znám mechanismus genetické kontroly počtu fertálních odnoží. Bylo již však nalezeno několik genů s vlivem na odnožování. Spielmeyer a Richards (2004) identifikovali recesivní gen *tin1*, který byl u pšenice zamapován na 1AS chromozómu, v oblasti syntenické k části rýžového chromozómu 5. *Tin1* narušuje vytváření úžlabních pupenů a tím redukuje počet odnoží. Agronomický potenciál tohoto genu demonstroval Richards (1988), když objevil spojitost linií s nízkým počtem odnoží s vyšším sklizňovým indexem, redukovanou výškou rostliny a s větší velikostí zrn. *Tin2* je dominantní gen redukující odnožování, který je zamapovaný na 2A chromozómu (Peng a kol., 1998). Kuraparthi a kol. (2007) lokalizovali na dlouhém rameni 3A chromozómu mutantní mapovací populace *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* gen *tin3*. Mutanti s *tin3* mají oproti planým druhům s mnoha odnožemi jen jeden hlavní stonek. Zhang a kol. (2012a) identifikovali u pšenice nový gen *ftin*. Jedná se o recesivní gen lokalizovaný na krátkém rameni 1A chromozómu s charakteristickým fenotypem. Semenáčky mají nenarušenou schopnost odnožování, ale tvorba fertálních odnoží je v reprodukční fázi rostliny inhibována.

Přestože bylo identifikováno několik genů pro počet odnoží na rostlině, patří odnožování mezi kvantitativní znaky s nízkou dědivostí (0,62 u pšenice; Li a kol., 2002). QTL pro tento znak byly nalezeny na několika chromozómech (1D, 2D, 3A, 3B, 4B, 4D, 5A, 5D, 6A, 6B, 6D, 7B; Li a kol., 2010; Naruoka a kol., 2011). Počet a efekt QTL ovlivňujících množství odnoží se v jednotlivých vývojových stádiích liší (Li a kol., 2010).

Období odnožování obilovin je ideální pro pozorování dalšího znaku ovlivňujícího výnos a výslednou kvalitu zrn. Jedná se o **rozkladitost trsu**, která určuje tvar rostliny. Ten je mezi odrůdami velmi variabilní (Obr. 10). V souvislosti s tímto znakem byla provedena řada studií zabývajících se zejména jeho vlivem na konkurenceschopnost rostliny vůči plevelu (Konvalina a kol., 2009; Konvalina a kol., 2010; Šrámek a kol., 2009).

Přemnožení plevelu vedoucí ke snížení výnosu způsobuje zemědělcům značné ekonomické ztráty. Jednou z možností, jak tomu předejít, je regulace růstu plevelu pomocí chemikálií. Jejich použití je však řízeno danými legislativními předpisy. Schůdnější alternativou se zdá být pěstování vhodných odrůd pšenice konkurujících plevelu i bez chemických postřiků. Lepší konkurenční schopnost mají rostliny, které pokryjí půdu již

během prvních fází svého růstu To je, mimo jiné, spojeno s vysokým stupněm odnožování a rozkladitostí trsu. Vzpřímený až velmi vzpřímený trs, typický pro moderní odrůdy pšenice, nedokáže plevel dostatečně zastínit. Největší pokryvnost půdy mají rostliny s rozprostřeným trsem (Obr. 10). V tomto případě ale nastává problém s plísněmi (*Blumeria graminis*). Jako ideální lze proto označit polovzpřímený až rozložený trs (Konvalina a kol., 2009; Konvalina a kol., 2010; Šrámek a kol., 2009).



Obr. 8: Odnožování pšenice

(převzato z http://text.czu.cz/phpskriptakapitola.php?titul_key=81&idkapitola=4)

3.2.7 Výška rostliny

60. a 70. léta minulého století jsou tzv. obdobím Zelené revoluce. Tehdy došlo k imponantnímu navýšení výnosu u pšenice, a to kvůli zavedení nových druhů (Hedden, 2003; Peng a kol., 1999). Ty obsahovaly **Rht** geny (*reduced plant height*), díky kterým rostliny abnormálně reagují na růstový hormon GA (kyselina giberelová; Beharav a kol., 1994; Gale a Marshall, 1972). To má za následek nižší vzrůst doprovázený vyšším výnosem a větší odolností vůči větru a dešti. Kratší stonky jsou silnější a tedy schopné unést těžká zrna vysoce výnosových odrůd. Nedochozí k poléhání stonků, a to ani za deštivého a větrného počasí. Redukcí stonku „ušetřené“ produkty asimilace jsou využity v pletivech zrn (Youssefian a kol., 1992). Všechny tyto faktory pozitivně ovlivňují výnos, tj. počet zrn na klas a kvalitu zrna.

V současné době je u pšenice známo přes 20 genů redukujících výšku (Divashuk a kol., 2012). Mezi jedny z nejrozšířenějších patří GA-nesenzitivní **Rht-1** (*Rht-B1*) a **Rht-2** (*Rht-D1*) lokalizované na 4B, respektive 4D chromozómu (Divashuk a kol., 2012; Zhang a kol., 2008). V případě, že je rostlina homozygotní v jednom z genů (*Rht-1*, nebo *Rht-2*), bude mít výšku zredukovanou až o 50 % oproti normální rostlině (*rht*). Výsledkem homozygotního stavu obou genů (*Rht-1* a *Rht-2*) bude zakrslý fenotyp, který nedosáhne ani 50 % výšky *rht* (Pinthus a Abraham, 1996). *Rht-1* a *Rht-2* jsou ortology kukuřičných *dwarf8* (*d8*) genů (Harberd a Freeling, 1989) a *Gibberellin Insensitive* (*GAI*) genů z *Arabidopsis* (Peng a kol., 1997). *Rht-1a/d8/GAI* tvoří podskupinu proteinů rodiny GRAS, které fungují jako transkripční faktory. Na N-konci mají konzervativní DELLA doménu (Pysh a kol., 1999). Peng a kol. (1999) identifikovali substituce u *Rht-B1b* a *Rht-D1b* výšku redukujících alel, které jsou příčinou zavedení stop kodonu v DELLA oblasti. Případné znovuzahájení translace na jednom z několika metioninů za tímto stop kodonem, může mít za následek vznik zkráceného Rht proteinu bez DELLA domény. Tyto proteiny pak mají sníženou citlivost ke GA. GA za vhodných podmínek prostředí (stimulujících růst rostliny) podporuje degradaci proteinů (redukujících růst) s DELLA doménou. To způsobuje transkripční změny, které zprostředkovávají růstové odpovědi rostliny. Mutované proteiny pak fungují jako konstitutivní (GA-nesenzitivní) represory růstu (Pearce a kol., 2011).

Až 70 % celosvětově pěstované pšenice obsahuje *Rht-1* a *Rht-2* geny odvozené z pšeničné odrůdy Norin 10, která má původ v Japonsku. Tento zakrslý vysoce výnosový druh

byl v USA křížen s Brevor 14. Vzniklý kříženec byl následně křížen s druhy přizpůsobenými k růstu v tropických a subtropických oblastech. Potomci byli rozšířeni do Latinské Ameriky, jižní a jihovýchodní Asie, kde se rychle adaptovali a přispěli ke zvýšení výnosu (Hedden, 2003).

Některé *Rht* geny mají, kromě pozitivního vlivu na výnos, negativní dopad na rezistenci pšenice vůči *Fusarium head blight* (FHB). Srinivasachary a kol. (2009) zjistili, že *Rht* geny jsou ve vazbě s okolními geny, které se liší ve svém vlivu na FHB. *Rht-2* genotyp (chromozóm 4D; Draeger a kol., 2007) je méně rezistentní než *Rht-1* (chromozóm 4B; Gosman a kol., 2007).

Výška rostlin je kódována nejen mendelistickými geny, ale i kvantitativními. Bylo zamapováno několik QTL s minoritním vlivem na výšku rostliny (na chromozómech 1A, 1D, 2B, 2D, 3A, 4B, 4D, 5A, 6A, 7B, a 7D; Ahmed a kol., 2000; Zhang a kol., 2008). Konkrétně Wang a kol. (2010) detekovali tři aditivní QTL (QPh.cgb-1B.3, QPh.cgb-4D.1, QPh.cgb-5B.2) a tři páry epistatických QTL (QPh.cgb-1B.1 – QPh.cgb-1B.3, QPh.cgb-2A.1 – QPh.cgb-2D.1, QPh.cgb-2D.1 – QPh.cgb-5B.2). S ohledem na dynamiku regulace během růstového období bylo zjištěno, že aktivita těchto QTL je rozdílná. Některé se podílejí na regulaci krátkodobě, jiné sice déle, ale jen ve specifických situacích. Zato žádné QTL nejsou aktivní po celou dobu růstu rostliny.

3.2.8 Chlupatost

Na povrchu řady rostlinných orgánů, včetně listů, stonků a květů, lze pozorovat epidermální výrůstky nazývané trichomy neboli chlupy. Tento morfologický znak výrazně zvyšuje odolnost rostliny vůči biotickým a abiotickým stresům a má spojitost s adaptací rostliny na prostředí.

Vrstva chlupů chrání povrch rostliny před slunečním zářením a zvyšuje její toleranci k chladu a suchu. Trichomy nejenže představují překážku pro vodu difundující do prostředí, ale také snižují proudění vzduchu v okolí rostliny. Chlupy zabezpečují ochranu před herbivory a některými brouky, např. z čeledi Mandelinkovití (*Chrysomelidae*; Dobrovolskaya a kol., 2007; Roy a kol., 1999; Taketa a kol., 2002).

Chlupatost (hustota chlupů) má komplexní charakter utvářený dvěma oddělenými znaky: (1) plochou listu a (2) počtem chlupů na list. Velikost listu je primárně kontrolována environmentálními podmínkami, kdežto variabilita v počtu chlupů je spíše geneticky založena (Roy a kol., 1999). Chlupatost je v jednotlivých vývojových stádiích kontrolována různými geny, jejichž exprese je ovlivňována řadou modifikátorů (Taketa a kol., 2002). Z tohoto důvodu lze pozorovat rozdílnou míru chlupatosti i v rámci druhu, a to v závislosti na vývojovém stádiu rostliny, její lokalizaci a počtu založených trichomů. Iniciale jejich tvorby totiž končí ještě před ukončením buněčného dělení v epidermis listů, tedy v době, kdy podmínky prostředí (množství vody, osvětlení, boru atd.) působí na další fáze vývoje listu a tudíž ovlivňují jeho výslednou plochu (Roy a kol., 1999).

Již byla zamapována řada genů kontrolujících tvorbu trichomů pluch (**Hg**), kolínek (**Hn**), oušek (*auricula*; **Pa**) a pochvy listu (**Hs**; Dobrovolskaya a kol., 2007). Pro chlupatost listů jsou v současné době zamapovány dva geny, a to **H11** (*hairy leaf 1*) a **H12** na chromozómu 4BL, respektive 7BS (Pshenichnikova a kol., 2007; Taketa a kol., 2002). Hori a kol. (2007) na mapovací populaci vzniklé křížením *Triticum monococum* L. s *T. boeoticum* Boiss. lokalizovali lokus pro chlupatost na 5AL chromozómu.

3.2.9 Metání

Pěstování pšenice je celosvětově rozšířeno. Avšak ne ve všech oblastech jsou k tomu ideální podmínky. Produkce může být omezena nedostatkem vody, rostoucími teplotami, mrazem atd. Z těchto důvodů je správné načasování fáze metání, předcházející kvetení pšenice, důležitým faktorem pro výnos a kvalitu zrna. Metání by mělo být zahájeno v době s dostatečnou půdní vlhkostí, před nástupem vysokých teplot. Avšak příliš brzké zahájení této vývojové fáze by mohlo vést k poškození generativních orgánů rostliny mrazem (Richards, 1991). Čas metání je ovlivňován interakcí genetických faktorů zodpovědných za fotoperiodickou senzitivitu (*PPD*), potřebu jarovizace (*VRN*) a řadou QTL (Worland, 1996; Yan a kol., 2004).

VRN geny regulují potřebu jarovizace, tedy vystavení rostliny chladu, pro zahájení procesu kvetení. Centrálními geny jsou *VRN-1* a *VRN-2*. U jařiny je dominantní *VRN-1*, který

redukuje jarovizaci, u ozimé pšenice naopak *VRN-2* (viz kapitola 3.1.3; Dubcovsky a kol., 1998; Yan a kol., 2003; Yan a kol., 2004).

PPD geny ovlivňují citlivost rostliny na fotoperiodizmus. Dominantní alely tuhle senzitivitu snižují, což vede k dřívějšímu kvetení. Hlavní geny, *Ppd-D1*, *Ppd-B1* a *Ppd-A1*, byly zamapovány na 2D, 2B, respektive na 2A chromozómu (Worland a kol., 1998). Minoritní QTL pro tento znak byly lokalizovány na 1A, 7A a 7B chromozómu (Kuchel a kol., 2006).

Na základě QTL analýz bylo zjištěno, že všechny skupiny chromozómů se podílejí na regulaci doby metání, a to nezávisle na jarovizaci a fotoperiodě. Bennett a kol. (2012) lokalizovali tyto QTL na chromozómu 1A, 4A, 4B, 5A, 5B, 7A a 7B, Scarth a Law (1983) na chromozómu 2B, Law a kol. (1976) na chromozómu 5A a 5D, Griffiths a kol. (2009) na chromozómu 1B, 1D, 2A, 3A, 3B, 4B, 4D, 5A, 5B, 6A, 6B, 7A, 7B a 7D.

4 Materiál a metodika

4.1 Rostlinný materiál

Mapování bylo provedeno na 86 liniích F₈ RIL mapovací populace jednozrnky, fenotyp byl hodnocen na generaci F₉ až F₁₂. RIL mapovací populace byla odvozena z F₂ jedinců vzniklých křížením kulturní jednozrnky *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* DV92 (Itálie) s planě rostoucí jednozrnkou *Triticum monococcum* ssp. *aegilopoides* G3116 (Libanon). Semena RIL F₈ a rodičů (DV92 a G3116) byla poskytnuta prof. J. Dubcovským (University of California, Davis, USA).

4.2 Přístroje

binokulární lupa (Carl Zeiss, Jena)

dokumentační systém pro analýzu gelů ChemiGenius BioImaging System (Syngene, UK)

elektroforetická aparatura Dual Adjustable Mega-Gel Kit C-DASG-400-50 (C.B.S. Scientific, USA)

homogenizační oscilační mlýn MM301 (Retsch, Německo)

chlazená centrifuga Jouan CR4i (Thermo, USA)

magnetická destička, 96 direct Inject Magnet (Beckman Coulter, USA)

semimikro váhy, SBC 21 (Scaltec, Německo)

spektrometer Nicolet ANTARIS II FT (Thermo, USA)

termostat, BT 120M (Laboratorní přístroje Praha, Česká republika)

thermocycler C-1000 (Bio-Rad, USA)

thermocycler C-1000 Touch™ (Bio-Rad, USA)

thermocycler gradientový PTC-200 (MJ RESEARCH, USA)

transluminátor Model GVM20 (Syngene, UK)

váhy Scaltec SPO 51 (Scaltec, Německo)

vodní lázeň GRANT SUB 6 (Grant Instruments, UK)

zdroj, MP-500V Power Supply (Major Science, USA)

zdroj, Standard Power Pack P25 (Biometra, Německo)

4.3 Chemikálie a roztoky

4.3.1 Vysokovýkonná izolace DNA

Základ lyzačního pufru (pH 7,2)

500 mmol/l NaCl

100 mmol/l Tris-HCl

50 mmol/l EDTA

Lyzační pufr

0,5% hydrogensířičitan sodný

0,1% kyselina askorbová

1% merkaptoetanol

10 mg/ml RNAsa

magnetické kuličky (GeneFind 2.0, Immunotech)

4.3.2 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

10x PCR pufr

100 mmol/l Tris-HCl (pH 8,2)

500 mmol/l KCl

15 mmol/l MgCl₂

1% Triton X-100

Nukleotidy (Fermentas, Litva)

100 mmol/l dATP

100 mmol/l dCTP

100 mmol/l dGTP

100 mmol/l dTTP

Cresol red (Sigma-Aldrich, UK)

sacharóza (Lachema, ČR)

Taq polymeráza (Finzyme, Finsko)

SSR primery (Invitrogen, USA)

4.3.3 Nedenaturující polyakrylamidová elektroforéza

5x TBE

450 mmol/l Tris base

450 mmol/l kyselina boritá

10 mmol/l EDTA

10% APS - peroxodisulfát amonný (Fluka BioChemika, USA)

40% směs akrylamid : N, N'-metylenbisakrylamid 19 : 1 (Bio-Rad, USA)

10% etidium bromid (Sigma Chemical CO., USA)

TEMED - tetrametyletylendiamin (Bio-Rad, USA)

velikostní marker, Gene Ruler 100 bp, DNA Ladder Plus (Fermentas, Kanada)

4.4 Metodika

4.4.1 Pěstování mapovací populace

Sezóna 2011 (rozdělena na 2011a, tj. rostliny vysazené na podzim, a na 2011b, tj. rostliny vysazené na jaře):

24. září 2010 bylo do venkovních parcel v areálu ÚEB Olomouc ve třech opakováních zaseto pět semínek každé linie mapovací populace *Triticum monococcum* L. (Obr. 9). Pozice jednotlivých linií byly randomizovány programem Research Randomizer (<http://randomizer.org/form.htm>). Na jaře byla vybrána nejsilnější rostlina dané linie a zbylé čtyři byly odstraněny.

3. února 2011 bylo 12 semínek z každé linie umístěno do Petriho misek s buničitou vatou navlhčenou pitnou vodou, kde po dobu jednoho týdne klíčila. 9. února bylo z každé linie vybráno 9 naklíčených semen, která byla zasazena do jiffy květináčů (5 × 5 cm) se zahradnickým substrátem, hnojivem (Osmocote exact) a Agrisorbem (1%). Jarovizace probíhala po dobu 7 týdnů při teplotách 1°C až 10°C, a to ve skleníku s přirozeným osvětlením. Rostliny byly jednou týdně přihnojovány roztokem 1x Hoagland. 15. března byly rostliny jednotlivých linií vysazeny, ve dvou opakováních, do venkovních parcel v areálu ÚEB Olomouc. Pozice rostlin v políčkách byla opět randomizována programem Research Randomizer (<http://randomizer.org/form.htm>).

Sezóna 2012 (rozdělena na 2012a, tj. rostliny vysazené na podzim, a na 2012b, tj. rostliny vysazené na jaře):

10. října 2011 bylo do venkovních parcel v areálu ÚEB Olomouc ve třech opakováních zaseto pět semínek každé linie mapovací populace (Obr. 9). Pořadí rostlin bylo náhodné, vygenerované pomocí programu Research Randomizer (<http://randomizer.org/form.htm>). Nevyklíčená semena a rostliny zničené mrazem byly během 17. až 19. dubna 2012 nahrazeny

sazenicemi, které klíčily v Petriho miskách (viz *Sezóna 2011*). Na jaře byla od každé linie vybrána nejsilnější rostlina a zbylé čtyři byly odstraněny.

12 semen z každé linie bylo naklíčeno, vysazeno a jarovizováno stejně jako v minulé sezóně.



Obr. 9: Prostorové uspořádání obilek při setí

Černé symboly představují obilky jedné mapovací linie a jejich vzájemné pozice, které byly během podzimního setí pšenice dodržovány.

4.4.2 Vysokovýkonná izolace DNA

Z každé linie *Triticum monococcum* L. byl odebrán list (3 × 3 cm) do 96jamkové destičky s 2ml jamkami, nebo do 2ml plastových mikrozkušavek a usušen v termostatu BT 120M (2 dny při 37°C; Laboratorní přístroje Praha, Česká republika). Rostlinný materiál byl mechanicky homogenizován v oscilačním mlýnku MM301 (Retsch, Německo) se dvěma skleněnými kuličkami (0,5 cm) 4 min/27 Hz. Po centrifugaci (96jamková destička: 2 000 rpm, 1 min; mikrozkušavky: 10 000 rpm, 5 min; Jouan CR4i, Thermo, USA) bylo k homogenizovaným vzorkům přidáno po 1 ml lyzačního pufru. Následujících 45 min probíhala inkubace ve vodní lázni (65°C; GRANT SUB 6, Grant Instruments, UK). Lyzát v 96jamkové destičce byl centrifugován 10 min při 3 000 rpm, 4°C nebo 5 min při 10 000 rpm v mikrozkušavkách. 100 µl lyzátu bylo přidáno k 10 µl magnetických kuliček (GeneFind 2.0, Immunotech) a 70 µl izopropanolu v PCR destičce. Po promíchání se směs inkubovala 5 min při pokojové teplotě. Poté byly vzorky umístěny na magnet (Beckman

Couter, USA), dokud nedošlo k jejich vyčiření (~5 min). Následně byl odpipetován supernatant. DNA na kuličkách byla promyta přidáním 100 µl 70% etanolu a důkladným promícháním mimo magnet. Vzorky byly opět umístěny na magnet (~5 min, do vyčiření) a byl odpipetován supernatant. Poslední krok promytí byl ještě dvakrát opakován. PCR destička, v níž izolace probíhala, byla vysušena fénem. Mimo magnet bylo přidáno 50 µl H₂O, resuspendováno. Po 2min eluci byly vzorky extrahované DNA umístěny na 10 min na magnet. 40 µl purifikované DNA bylo přeneseno do nové PCR destičky.

4.4.3 Polymerázová řetězová reakce

Polymerázová řetězová reakce byla provedena v 15 µl reakční směsi, která obsahovala 1x PCR pufr, 200 µmol/l každého dNTP (Fermentas, Litva), 1 µmol/l primeru (Invitrogen, USA), 0,5 U *Taq* polymerázy (Finzyme, Finsko), 0,01% Cresol red (Sigma-Aldrich, UK), 1,5% sacharózu (Lachema, ČR) a 15 ng DNA. Primery byly vybrány z již zhotovené mapy *Triticum monococcum* L. (Singh a kol., 2007), a to tak, aby rovnoměrně pokrývaly chromozómy a byly od sebe vzdáleny přibližně 10 cM.

Podmínky PCR pro SSR primery:

Zahřátí	95°C – 5 min	
Denaturace	95°C – 30 s	} 40 cyklů
Přisedání	Tab. I (vybrané primery) – 30 s	
Polymerace	72°C – 30 s	
Závěrečná polymerace	72°C – 10 min	

4.4.4 Nedenaturující polyakrylamidová elektroforéza

Pro separaci PCR produktů byla použita 6% nedenaturující polyakrylamidová elektroforéza.

Gel byl připraven smícháním 15 ml 5x TBE, 22,5 ml 40% směsi akrylamid : N, N'-metylenbisakrylamid (Bio-Rad, USA) v poměru 19 : 1, 110 µl TEMED (Bio-Rad, USA), 1 ml 10% APS (Fluka BioChemika, USA) a doplněn destilovanou vodou na 150 ml. Po 45minutové polymeraci byl gel upevněn do vertikální elektroforetické aparatury Dual Adjustable Mega-Gel Kit C-DASG-400-50 (C.B.S. Scientific, USA). Katodový i anodový prostor byl naplněn 0,5x TBE pufrem. K pufru v anodovém prostoru bylo přidáno 10 µl 10% etidium bromidu (Sigma Chemical CO., USA). Pro nasycení gelu etidium bromidem byl asi na 2 hodiny při 300 V spuštěn „prerun“. Následně byly nanесeny vzorky (5 µl) a velikostní marker (60 ng; Gene Ruler 100 bp, DNA Ladder Plus, Fermentas, Kanada). Amplifikovaná DNA byla separována zhruba po dobu 1 hodiny, a to při 350 V. DNA byla vizualizována dokumentačním zařízením ChemiGenius BioImaging System (Syngene, UK).

4.4.5 Zahuštění vazebné mapy

Pro konstrukci vazebné mapy byly použity markery, jejichž polymorfismus byl testován v rámci diplomové práce Klocové (2010) a Gallové (2011), bakalářské práce Vanžurové (2011) a předkládané diplomové práce. Pomocí programu JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006) byla analyzována frekvence rekombinací mezi těmito markery. V případě, že byla frekvence rekombinací menší než 0,4 a LOD skóre větší než 1, byla potvrzena přítomnost vazby. Genetická vzdálenost mezi markery byla stanovena za pomoci Kosambi funkce (Kosambi, 1943). Na identifikaci vazebných skupin byla použita metoda regresního mapování. Po přidání každého markeru bylo, s ohledem na tři okolní markery (*ripple*), provedeno přepočítání veličin.

4.4.6 Hodnocení fenotypu

Fenotyp byl hodnocen u 86 linií F₉ až F₁₂ RIL mapovací populace. Celkem bylo sledováno jedenáct znaků, a to obsah proteinů v zrnech, váha zrn, počet klásků na klas, počet obilek na klásek, délka klasu, rozpadavost klasu, počet odnoží, rozkladitost trsu (tvar rostliny), výška rostliny, ochlupení listů a doba metání.

Obsah proteinů v zrnech: u každé linie byl pomocí přístroje Nicolet ANTARIS II FT (Thermo Scientific, USA) spektrometricky měřen obsah dusíku v sušině vyloupaných semen.

Průměrná hmotnost zrna: u každé linie bylo s přesností na mg zváženo 100 vyloupaných a od plev očištěných zrn. Hodnoty byly přepočítány na váhu jednoho zrna.

Počet klásků na klas: byl počítán u pěti nejvyšších klasů každé linie v době mléčné zralosti. Naměřené hodnoty byly pro jednotlivé linie zprůměrovány.

Počet obilek na klásek: z celkového počtu vyloupaných semínek jednotlivých linií bylo stanoveno zastoupení obilek vyskytujících se v klásku po jednom nebo po dvou.

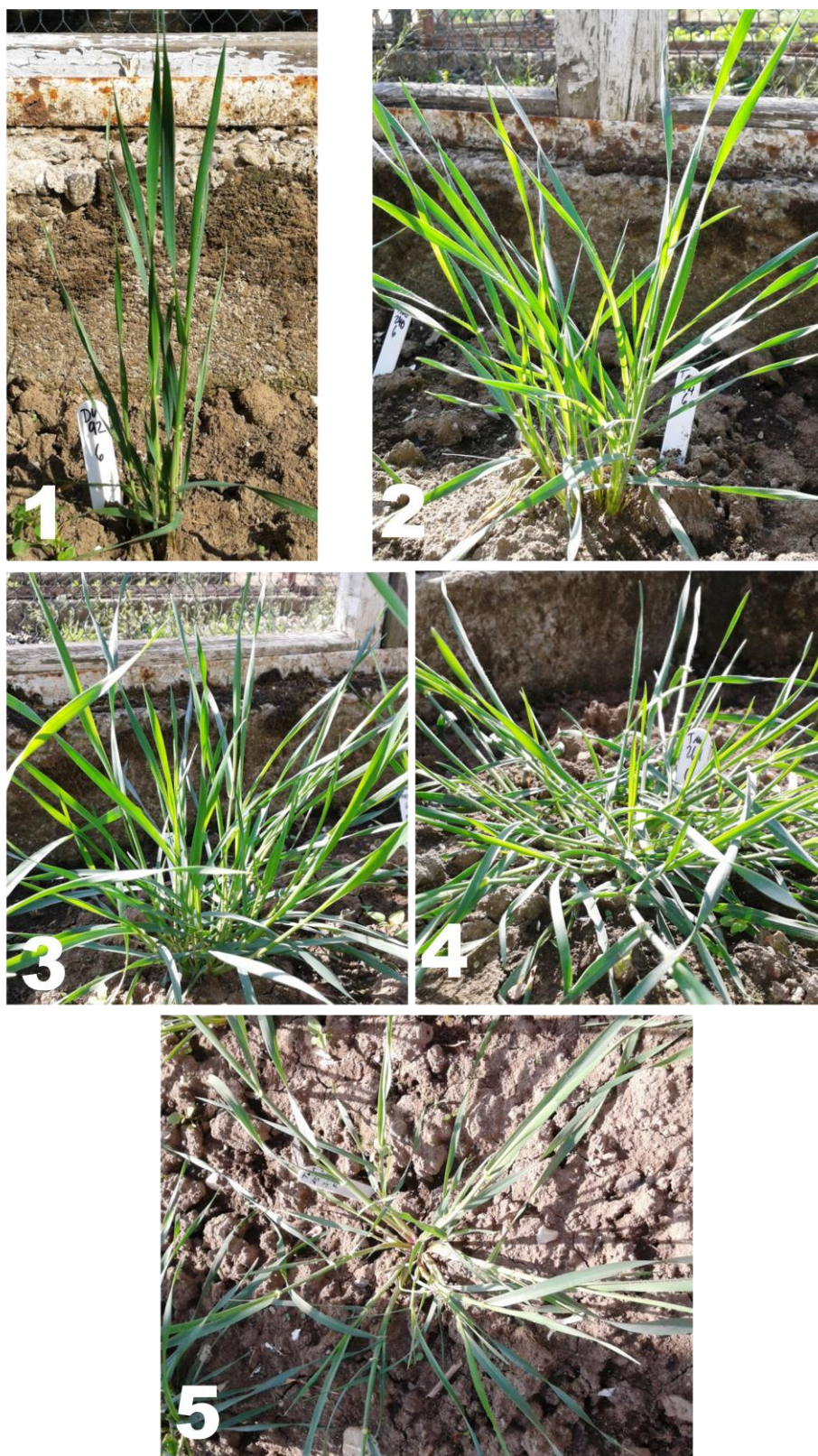
Délka klasu: byla měřena s přesností 0,5 cm u pěti nejvyšších klasů dané rostliny, od báze klasu po jeho vrchol (bez osin), v době mléčné zralosti. Hodnoty byly u jednotlivých linií zprůměrovány.

Rozpadavost klasu: zralé klasy byly sesbírány a usušeny při pokojové teplotě. Následně byly srovnávány s rodičovskými liniemi. Rodič DV92 má nerozpadavý klas. K oddělení klásků od centrálního vřetene klasu je třeba mechanického působení. Rodič G3116 má klas rozpadavý. Klásky se od vřetene klasu oddělují samovolně.

Počet odnoží: 20 až 30 cm nad zemí byl stanoven počet stébel.

Rozkladitost trsu: vizuální hodnocení a následné rozdělení do pěti skupin podle Bareše a kol. (1985):

- 1) velmi vzpřímený trs (při odnožování $< 25^\circ$; Obr. 10.1)
- 2) vzpřímený trs (25° až 40° ; Obr. 10.2)
- 3) polovzpřímený trs (41° až 55° ; Obr. 10.3)
- 4) rozložený trs (56° až 70° ; Obr. 10.4)
- 5) rozprostřený trs ($> 70^\circ$; Obr. 10.5)



Obr. 10: Pět typů rozkladitosti trsu vyskytujících se u *Triticum monococcum* L.

1) velmi vzpřímený trs (při odnožování $< 25^\circ$) charakteristický pro *Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum* cv. DV92; 2) vzpřímený trs (25° až 40°); 3) polovzpřímený trs (41° až 55°); 4) rozložený trs (56° až 70°); 5) rozprostřený trs ($> 70^\circ$) typický pro *Triticum monococcum* L. ssp. *aegilopoides* cv. G3116

Výška rostliny: měřena v období mléčné zralosti od země po poslední obilku nejvyššího klasu s přesností na 0,5 cm.

Ochlupení listů: rodič DV92 nemá na adaxiální straně listů skoro žádné chlupy, kdežto rodič G3116 má výrazné ochlupení. V sezóně 2009 se fenotyp hodnotil jako kvalitativní znak, tj. přítomnost/nepřítomnost chlupů na listech (praporcové listy, *flag leaves*). Během sezóny 2010 byl spočítán počet chlupů ve středové oblasti listu. Data byla přepočítána na plochu 1 cm². Tento způsob hodnocení byl však časově velmi náročný. Z toho důvodu byly v sezóně 2011 a 2012 počítány chlupy vyrůstající z náhodně vybrané žilnatiny (1 cm) uprostřed listu. Tímto způsobem získaná data korelovala s daty z předešlých let (korelační koeficient 0,73). Navíc bylo dosaženo přesnějších výsledků při QTL analýze tohoto znaku.

Doba metání: byl hodnocen počet dnů od vysazení rostlin do půdy do vynoření se klasů z pochev praporcových listů.

4.4.7 Analýza QTL

Získané údaje o fenotypu jednotlivých linií byly zapsány do tabulek počítačového programu *Microsoft Office Excel 2007*. Zde byly, v závislosti na typu znaku, provedeny i jednoduché matematické výpočty. Takto upravená data zanalyzoval Ing. Tibor Sedláček pomocí programu *R/Qtl* (Broman a kol., 2003). Pro identifikaci QTL bylo použito jednoduché mapování pomocí intervalu.

4.4.8 Použité programy

Pro zpracování primárních dat, tvorbu vazebné mapy a analýzu QTL byly použity následující programy:

Microsoft Office Excel 2007 – zpracování fenotypických dat, jednoduché statistické metody

JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006) – konstrukce vazebné mapy

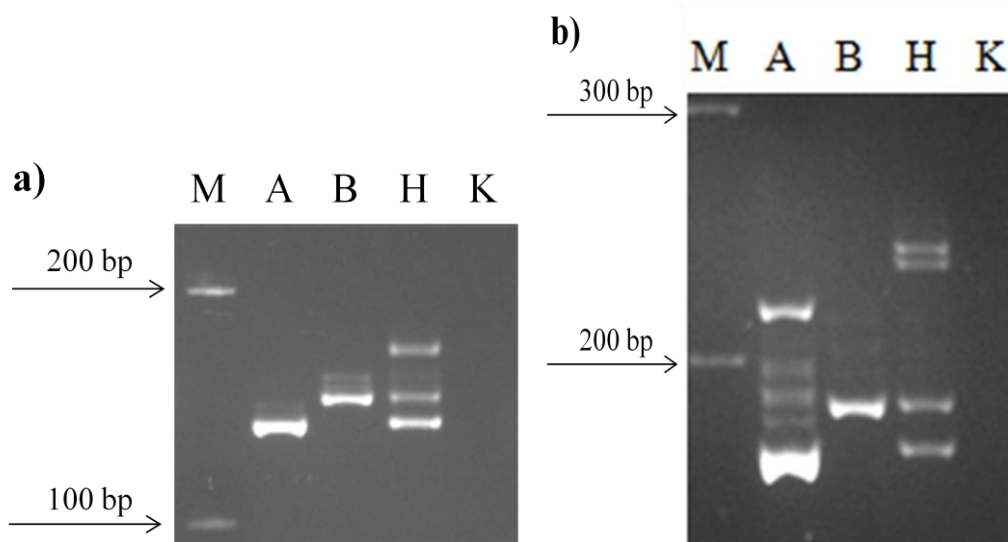
R/Qtl (Broman a kol., 2003) – detekce QTL pro sledované znaky

5 Výsledky

S návazností na diplomovou práci Klocové (2010) a Gallové (2011) a bakalářskou práci Vanžurové (2011) byla stávající vazebná mapa *Triticum monococcum* L. zahuštěna dalšími molekulárními markery. Pro verifikaci identifikovaných QTL (z let 2009 a 2010) byla přidána fenotypová data z dalších dvou sezón (2011 a 2012). Byla optimalizována metoda hodnocení chlupatosti praporcových listů pšenice.

5.1 Molekulární markery

Bylo testováno 51 párů SSR primerů, z toho 32 vykazovalo polymorfismus mezi rodičovskými DNA. Všechny detekované polymorfizmy byly kodominantní (Obr. 11). Pouze signál ze 14 SSR primerů se podařilo spolehlivě reprodukovat i na liniích mapovací populace. Zbylých 18 primerů bylo vyřazeno. Úspěšně bylo do mapy *Triticum monococcum* L. zamapováno 14 SSR markerů (Tab. I).



Obr. 11: Příklady polymorfizmů SSR primerů

a - primer cfd223; **b** - primer wmc371; **M** – velikostní marker; **A** – rodič DV92; **B** – rodič G3116; **H** – heterozygot; **K** – negativní kontrola

Tab. I: Přehled markerů zamapovaných do mapy *Triticum monococcum* L.

Marker	Sekvence primeru: Forward (F), Reverse (R)	Teplota nasedání primeru na DNA (T _a)	Chromozóm
cf59	F: TCA CCT GGA AAA TGG TCA CA R: AAG AAG GCT AGG GTT CAG GC	60°C	1A ^m
gdm33	F: GGC TCA ATT CAA CCG TTC TT R: TAC GTT CTG GTG GCT GCT C	55°C	
gdm36	F: ATG CAA AGG AAT GGA TTC AA R: CAA ATC CGC ATC CAG AAA AT	50°C	
gwm135	F: TGT CAA CAT CGT TTT GAA AAG G R: ACA CTG TCA ACC TGG CAA TG	60°C	
barc122	F: CCC GTG TAT ATC CAG GAG TG R: CAG CCC TTG TGA TGT GAT G	52°C	2A ^m
gwm382	F: GTC AGA TAA CGC CGT CCA AT R: CTA CGT GCA CCA CCA TTT TG	60°C	
wmc420	F: ATC GTC AAC AAA ATC TGA AGT G R: TTA CTT TTG CTG AGA AAA CCC T	51°C	
cf79	F: TCT GGT TCT TGG GAG GAA GA R: CAT CCA ACA ATT TGC CCA T	60°C	3A ^m
gwm391	F: ATA GCG AAG TCT CCC TAC TCC A R: ATG TGC ATG TCG GAC GC	55°C	
wmc11	F: TTG TGA TCC TGG TTG TGT TGT GA R: CAC CCA GCC GTT ATA TAT GTT GA	61°C	
gwm6	F: CGT ATC ACC TCC TAG CTA AAC TAG R: AGC CTT ATC ATG ACC CTA CCT T	55°C	5A ^m
gwm443	F: GGG TCT TCA TCC GGA ACT CT R: CCA TGA TTT ATA AAT TCC ACC	55°C	
wmc371	F: GGA AAC CAA GGC AGC AGT CA R: CCA GGG CTA CTT CAG CCA GG	61°C	
wmc417	F: GTT CTT TTA GTT GCG ACT GAG G R: CGA TGT ATG CCG TAT GAA TGT T	51°C	6A ^m

5.2 Analýza QTL

Na mapovací populaci *Triticum monococcum* L. bylo hodnoceno celkem jedenáct znaků, a to obsah proteinů v zrnech, váha zrn, počet klásků na klas, počet obilek na klásek, délka klasu, rozpadavost klasu, počet odnoží, rozkladitost trsu (tvar rostliny), výška rostliny, ochlupení listů a doba metání. Hodnoty sledovaných kvantitativních znaků byly podrobeny QTL analýze pomocí programu *R/Qtl* (Broman *et al.*, 2003). Výstupem byly grafy zobrazující LOD skóre píků umístěných na chromozómech a tabulka markerů s nejsilnější asociací k danému fenotypu. U píků, se statisticky významným LOD skóre, byla porovnána jejich poloha na chromozómech mezi sezónami 2009, 2010, 2011 a 2012. Do mapy byly následně zaneseny QTL, které během analýzy dosáhly LOD skóre 3 a více. Celkem bylo na sedmi chromozómech lokalizováno 35 lokusů pro devět kvantitativních znaků. Nepodařilo se zamapovat QTL pro odnožování a počet obilek na klásek.

Obsah proteinů v zrnech (QGpc) byl hodnocen ve třech sezónách (2009, 2010, 2011). Signifikantní data z tohoto období potvrdila výskyt QGpc ve dvou lokusech na chromozómu 5A^m v oblasti markerů tPt-9852 s LOD 4,7 (P = 0,05; sezóna 2009, 2010, 2011a) a wPt-860872 s LOD 4,1 (P = 0,05; sezóna 2011b). Další lokusy pro GPC byly identifikovány na chromozómu 6A^m v oblasti markeru tPt-6278 s LOD 4,2 (P = 0,10) a dva lokusy na chromozómu 7A^m s nejsilnější vazbou na markery wPt-3393 (LOD 2,8; P = 0,63) a wPt-376185 (LOD 3,3; P = 0,63; Obr. 12, Obr. 23). QTL s vazbou na marker wPt-3393 na chromozómu 7A^m nebyl pro nízkou hodnotu LOD skóre zanesen do mapy.

Další kvantitativní znak, **váha zrn** (QTgw), byl s nejvyšší statistickou významností zamapován na chromozómu 2A^m a 5A^m. Přestože byla v případě chromozómu 2A^m ve všech sezónách P = 0,05, nepodařilo se QTgw přesně lokalizovat. Byla stanovena orientační oblast ohraničená markery wPt-5498 (LOD 7,3) a wPt-861777 (LOD 7,6). Na chromozómu 5A^m byl lokus pro tento kvantitativní znak umístěn mezi markery wPt-9859 (LOD 4,3; P = 0,05) a wPt-861004 (LOD 3,1; P = 0,63). Na chromozómu 4A^m byly detekovány dva QTgw. Jeden z nich je ve vazbě s markerem wPt-470207 (LOD 2,4; P = 0,63), druhý nebyl přesně lokalizován (markery gwm494 až wPt-469181; LOD 3,5; P = 0,05). QTgw s vazbou na marker wPt-470207 nebyl, pro nízkou hodnotu LOD skóre, na chromozómu 4A^m zamapován. Stejně tak na chromozómu 1A^m byly identifikovány dva QTgw (marker wPt-861961, LOD 3,8; P = 0,10; marker wPt-860819, LOD 3,4; P = 0,63). Výsledky QTL analýzy neprokázaly rozdílné umístění QTgw v závislosti na tom, zda byl brán v potaz počet

vyvíjejících se obilek v klásku nebo nebyl (během sezóny 2012 byly zvláště hodnoceny obilky vyskytující se v klásku po jednom a po dvou; Obr. 13, Obr. 23).

Na základě dat ze sezóny 2010 byl s $P = 0,05$ lokalizován na konci chromozómu $1A^m$ (marker SMP; LOD 4,8) lokus kódující **počet klásků vyvíjejících se na klase** (QSpn). QSpn byly detekovány i na chromozómu $2A^m$, $6A^m$ a $7A^m$. Pozice těchto QTL nebyly přesně stanoveny, nedošlo tak k zamapování (Obr. 14, Obr. 23).

QTL analýzou dat ze sezóny 2009 až 2012 byl detekován na chromozómu $1A^m$, $3A^m$ a $5A^m$ lokus ovlivňující **počet obilek na klásek** (QGn). Pozice píku, zobrazujícího polohu QGn na chromozómu $1A^m$, se mezi sezónama lišila. Lokus nebylo možno zamapovat. V případě QGn na chromozómu $3A^m$ a $5A^m$ nebyla přesně stanovena jejich pozice (Obr. 15, Obr. 23).

Lokus, kontrolující **délku klasu** (QE1), byl zamapován na třech chromozómech: $2A^m$, $4A^m$ a $6A^m$. Na chromozómu $2A^m$ byl QE1 lokalizován na základě signifikantních dat z let 2009 až 2011, a to v okolí markeru wPt-376273 (LOD 4,2; $P = 0,05$). Na chromozómu $4A^m$ byly nalezeny dva lokusy pro tento znak. Po analýze dat (2009 až 2012) byl QE1 zamapován do oblasti markeru wPt-862216 (LOD 7,4; $P = 0,05$). Data ze sezóny 2012b potvrdila výskyt QE1 i v okolí markeru wPt-861787 (LOD 3,5; $P = 0,05$). Na chromozómu $6A^m$ se QE1 vyskytuje ve vazbě s markerem gwm617 (LOD 2,4; $P = 0,63$) a KsuG34_310bp (LOD 4,1; $P = 0,05$). Umístění lokusu pro délku klasu se na chromozómu $3A^m$ mezi sezónami lišilo (Obr. 16, Obr. 23).

Dalším hodnoceným kvantitativním znakem je **rozpadavost klasu** (QSh). Díky fenotypovým údajům z let 2009 až 2012 byl zamapován ve dvou lokusech chromozómu $1A^m$, marker wPt-861599 (LOD 4,1; $P = 0,05$) a marker wPt-469941 (LOD 3,6; $P = 0,10$). Pozice QSh na chromozómu $3A^m$ byla, po analýze údajů ze sezóny 2009, 2010 a 2011, stanovena mezi markery wPt-862035 až wPt-377130 (LOD 6; $P = 0,05$). Na chromozómu $5A^m$ je lokus pro tento znak v nejsilnější vazbě s markerem gwm271 (LOD 3,3; $P = 0,63$; sezóna 2011, 2012b). Na chromozómu $7A^m$ patří QSh pozice v oblasti markeru wPt-860857 (LOD 3; $P = 0,63$; Obr. 17, Obr. 23).

Počet odnoží (QTn), pro výnos významný znak, byl hodnocen od roku 2010. Ani v jednom období se na základě získaných dat nepodařilo lokus pro tento znak přesně lokalizovat, a to na žádném z chromozómů (Obr. 18, Obr. 23).

Lokus pro **rozkladitost trsu (tvar rostliny; QTs)** byl na základě analýzy dat získaných během let 2009 až 2012 úspěšně zamapován na chromozómu 1A^m v oblasti markeru Mwg503_180bp s LOD 3,9 (P = 0,05) a na dvou místech chromozómu 2A^m (marker wPt-375843, LOD 3,4, P = 0,63; marker wPt-376273, LOD 5,6, P = 0,05). Po zpracování fenotypových údajů ze sezóny 2012 byl lokus pro tento znak umístěn i na chromozómu 5A^m (marker wPt-2490; LOD 4,1; P = 0,05) a 7A^m (marker wPt-469418; LOD 3,1; P = 0,63). Na chromozómu 4A^m je lokus ovlivňující tvar rostliny ve vazbě s markerem wPt-470550 (LOD 3,6; P = 0,10; sezóna 2011b; Obr. 19, Obr. 23).

QTL pro **výšku rostliny (QHt)** byl zamapován na třech chromozómech: 2A^m, 3A^m a 7A^m. Na chromozómu 2A^m byla, po analýze dat ze sezón 2009 až 2012, stanovena jeho pozice mezi markery wPt-470029 (LOD 6,1; P = 0,05) a wPt-376273 (LOD 8,9; P = 0,05). Na chromozómu 3A^m je QHt umístěn v oblasti markeru wPt-9560 (LOD 3,6; P = 0,10). Umístění lokusu pro výšku rostliny na dvou místech chromozómu 7A^m (markery wPt-861230, LOD 4,1, P = 0,10; marker wPt-861877, LOD 2,8, P = 0,63) bylo potvrzeno na základě QTL analýzy dat z let 2009 až 2012 (Obr. 20, Obr. 23).

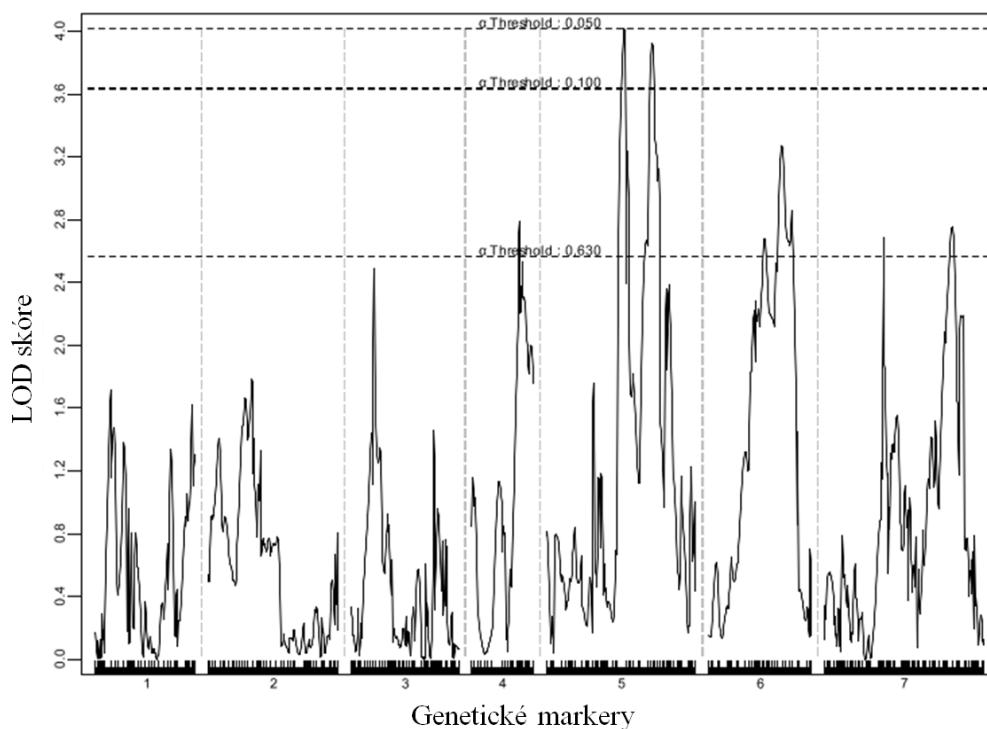
Dalším sledovaným kvantitativním znakem byla **chlupatost listů (QHI)**. QHI byl zamapován na třech chromozómech, 3A^m, 5A^m a 7A^m. Při hladině pravděpodobnosti 0,05 byla potvrzena pozice lokusu pro chlupatost listů na chromozómu 3A^m mezi markery rPt-7002 (LOD 15) až wPt-860851 (LOD 10,6). Na chromozómu 5A^m byly detekovány dva lokusy QHI (marker gwm271, LOD 3,5, P = 0,05; marker wPt-860900 LOD 3,4, P = 0,10). Na základě dat ze sezóny 2012 byl lokus pro tento znak lokalizován na chromozómu 7A^m v okolí markeru wPt-7281 (LOD 3,1; P = 0,10). Na Obr. 13 lze od sezóny 2011 pozorovat výrazné zvýšení hodnoty LOD skóre (chromozóm 3A^m 2010: LOD 4,5; 2011: LOD 15), které bylo výsledkem zavedení nové metodiky počítání chlupů (Obr. 21, Obr. 23).

Posledním detekovaným lokusem je QEet pro **dobu metání**. Tento znak byl sledován během tří sezón (2010 až 2012), kdy byl zamapován na dvou místech chromozómu 1A^m (marker wPt-861599, LOD 3,3, P = 0,63; marker SMP, LOD 9,5, P = 0,05). V případě chromozómu 5A^m byla, pro zamapování QEet do oblasti markeru wPt-377328 (P = 0,63), nízká hodnota LOD skóre (2,8). Na chromozómu 7A^m byl QEet detekován v okolí markeru wPt-469488 (LOD 2,6; P = 0,63) a markeru wPt-470566, (LOD 4,3; P = 0,05), kde byl zamapován. Na chromozómu 4A^m nebyla určena přesná poloha QTL (Obr. 22, Obr. 23).

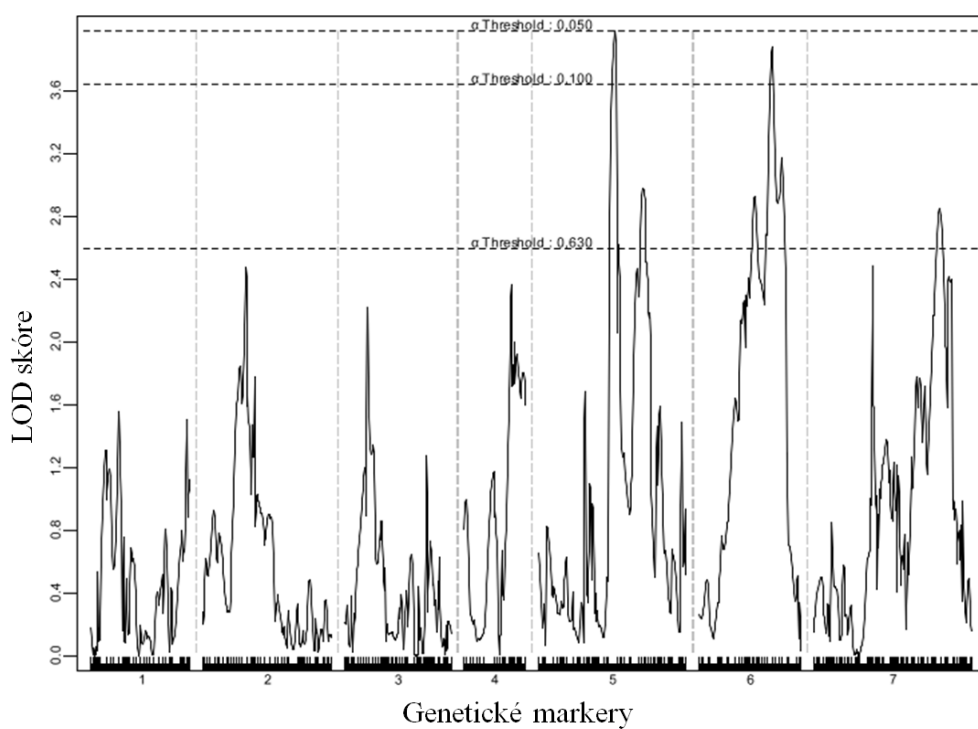
Obr. 12: QTL mapování znaku „obsah proteinů v zrnech (QGpc)“ v sezóně 2009, 2010 a 2011

Ve všech sezónách se na chromozómu 5A^m objevují dva píky, vždy ve stejné pozici. Každý z nich alespoň jednou překročil při $P = 0,05$ LOD 3. LOD 3 přesáhl i pík na chromozómu 6A^m. Píky na ostatních chromozómech mají $LOD < 3$ a jsou považovány za minoritní QTL.

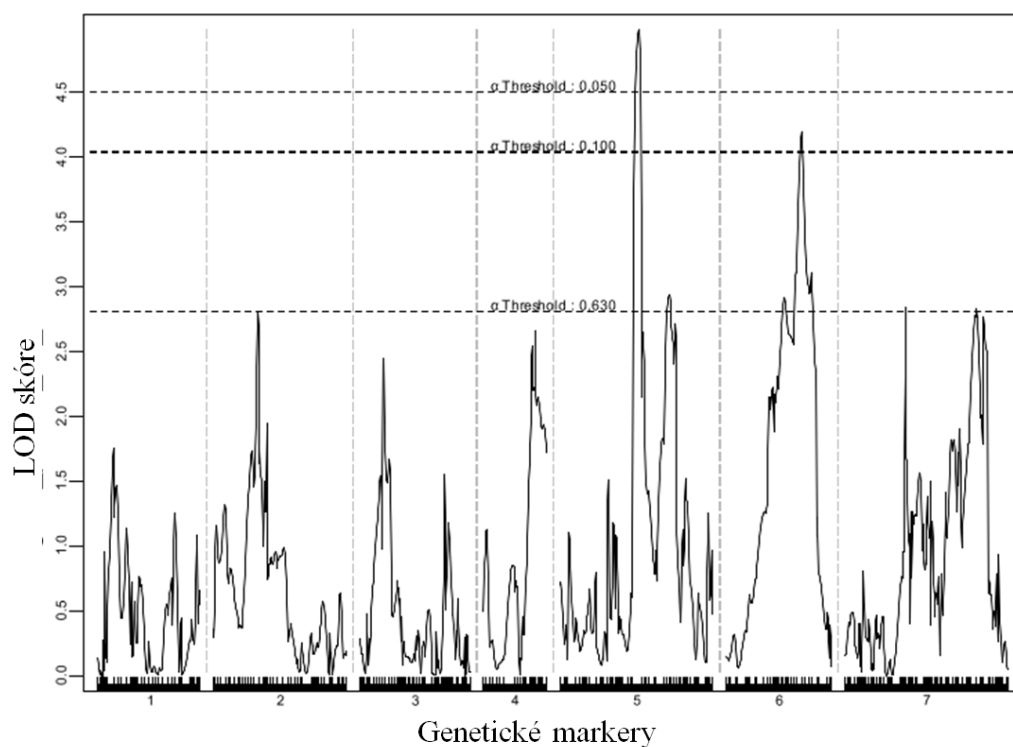
A) Obsah proteinů v zrnech – sezóna 2009



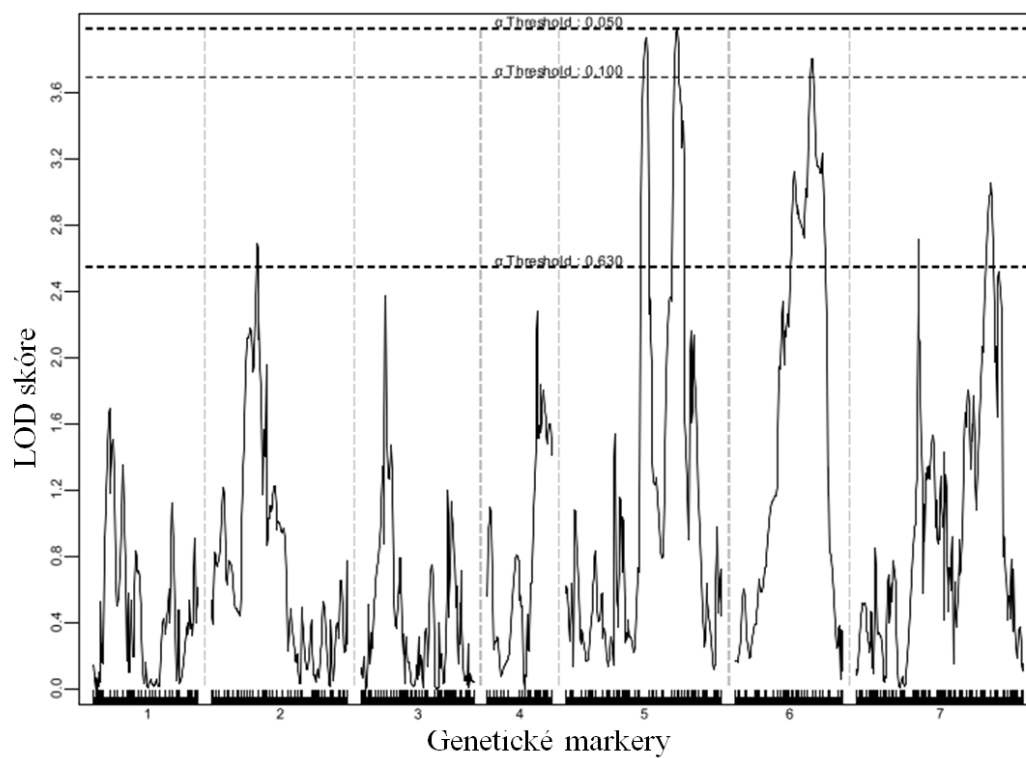
B) Obsah proteinů v zrnech – sezóna 2010



C) Obsah proteinů v zrnech – sezóna 2011a



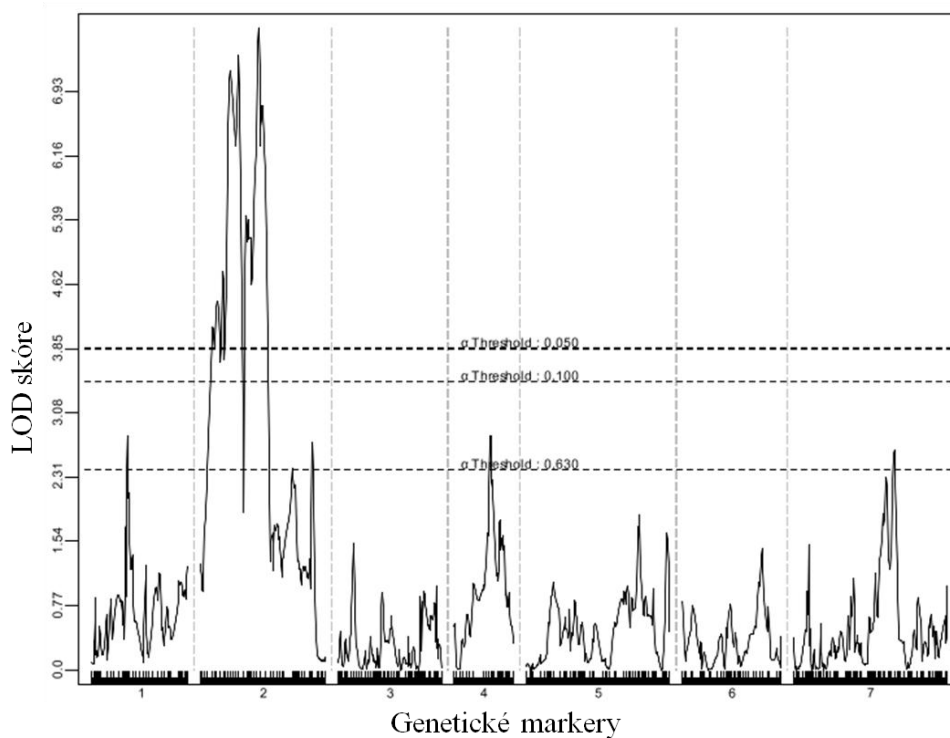
D) Obsah proteinů v zrnech – sezóna 2011b



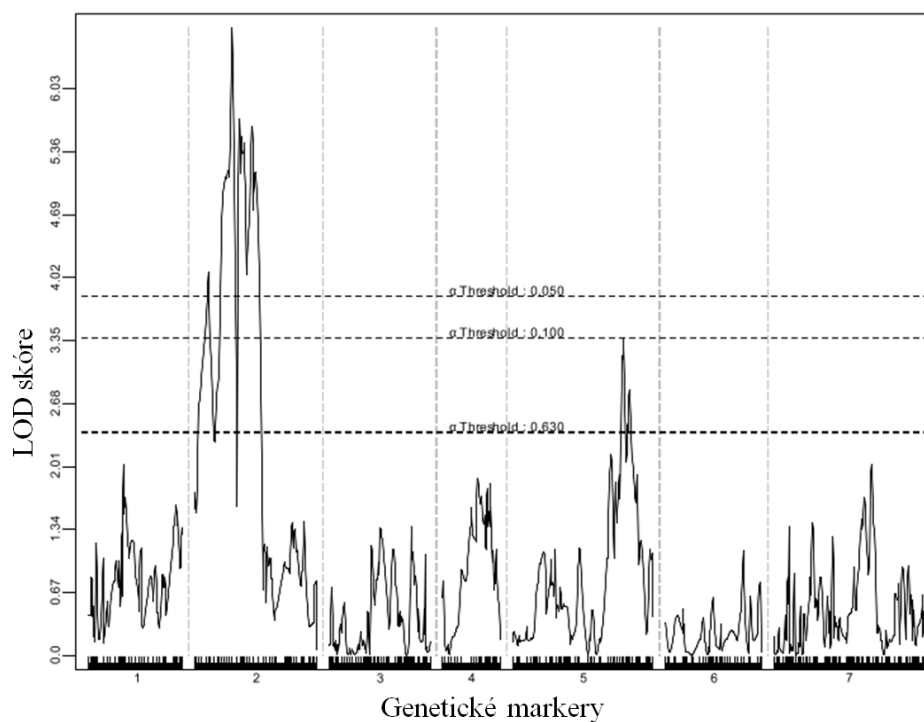
Obr. 13: QTL mapování znaku „váha zrn (QTgw)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Ze všech grafů je zřejmá lokalizace lokusu pro váhu zrn na chromozómu 2A^m. Představované rozmezí pro QTL je ale příliš široké. V sezóně 2011 dosáhl pík na chromozómu 1A^m LOD > 3. Stejně tomu bylo u chromozómu 5A^m v sezónách 2010, 2011b a 2012a. Píky na ostatních chromozómech jsou minoritní (LOD < 3).

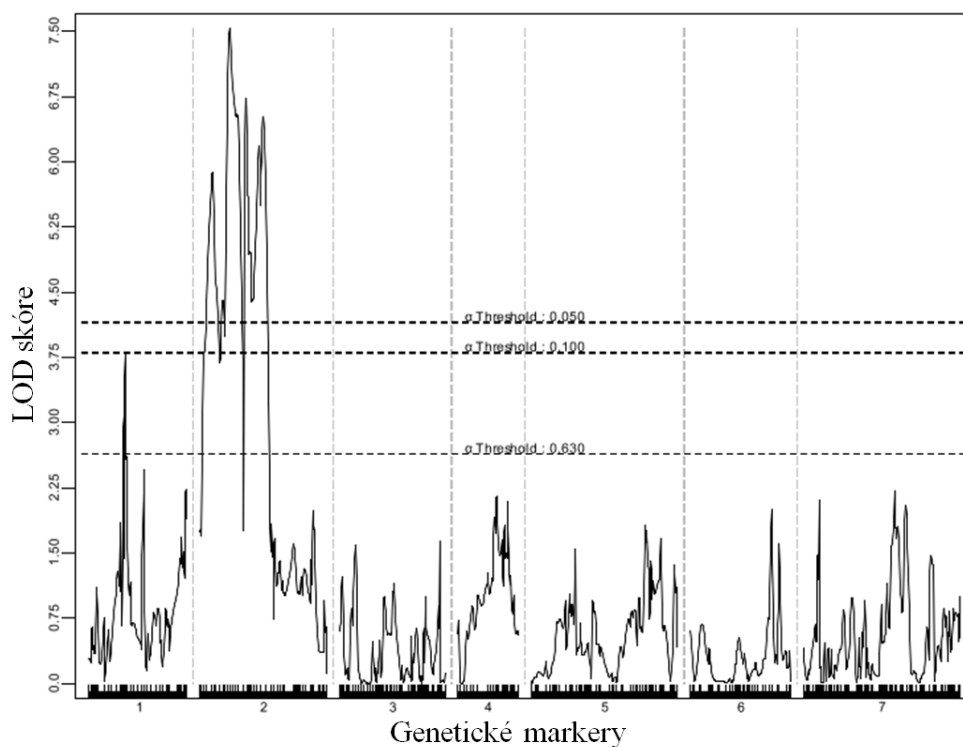
A) Váha zrn – sezóna 2009



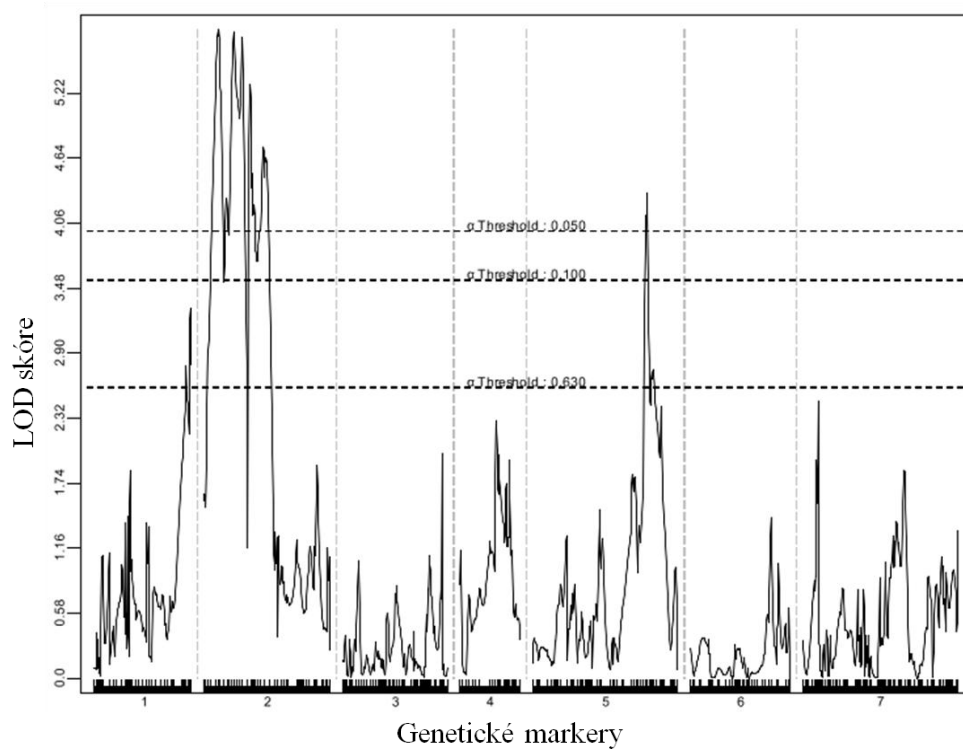
B) Váha zrn – sezóna 2010



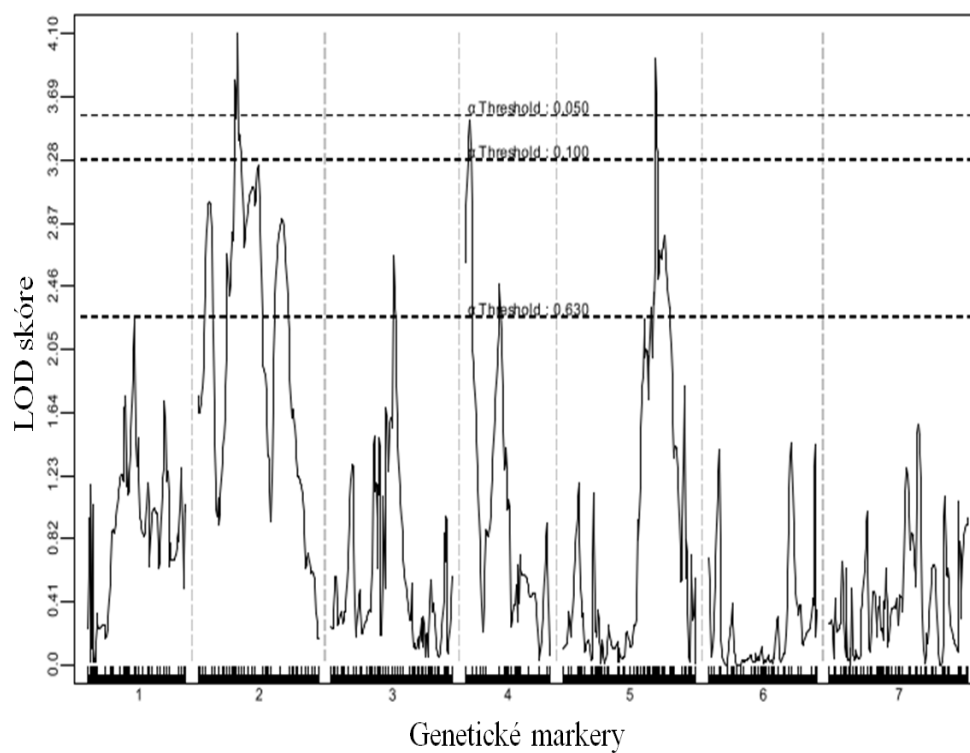
C) Váha zrn – sezóna 2011a



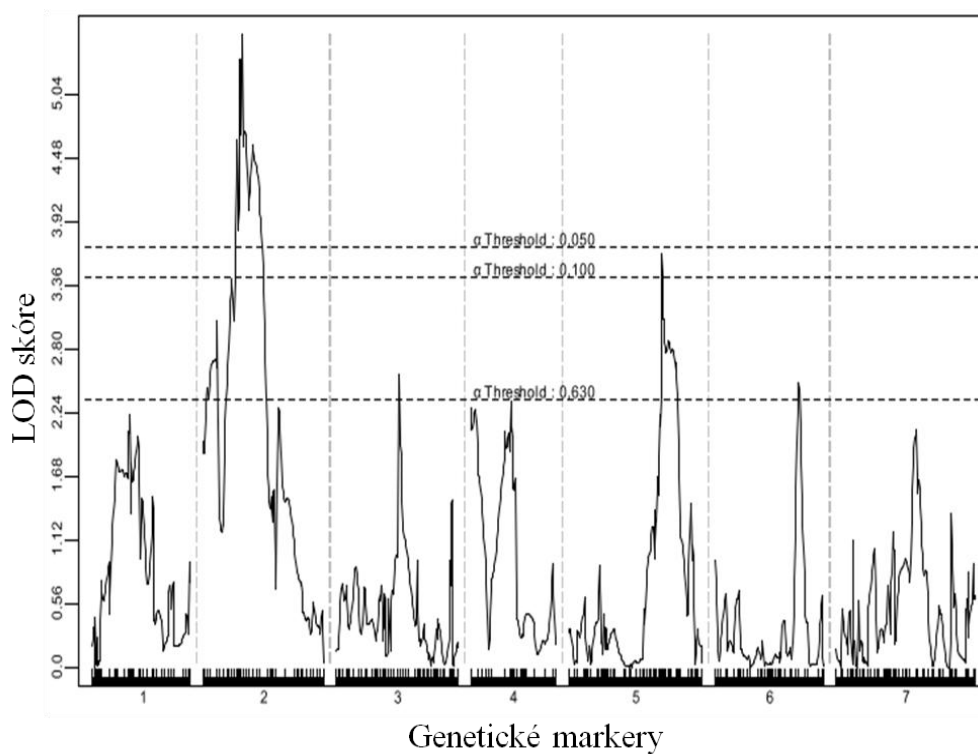
D) Váha zrn – sezóna 2011b



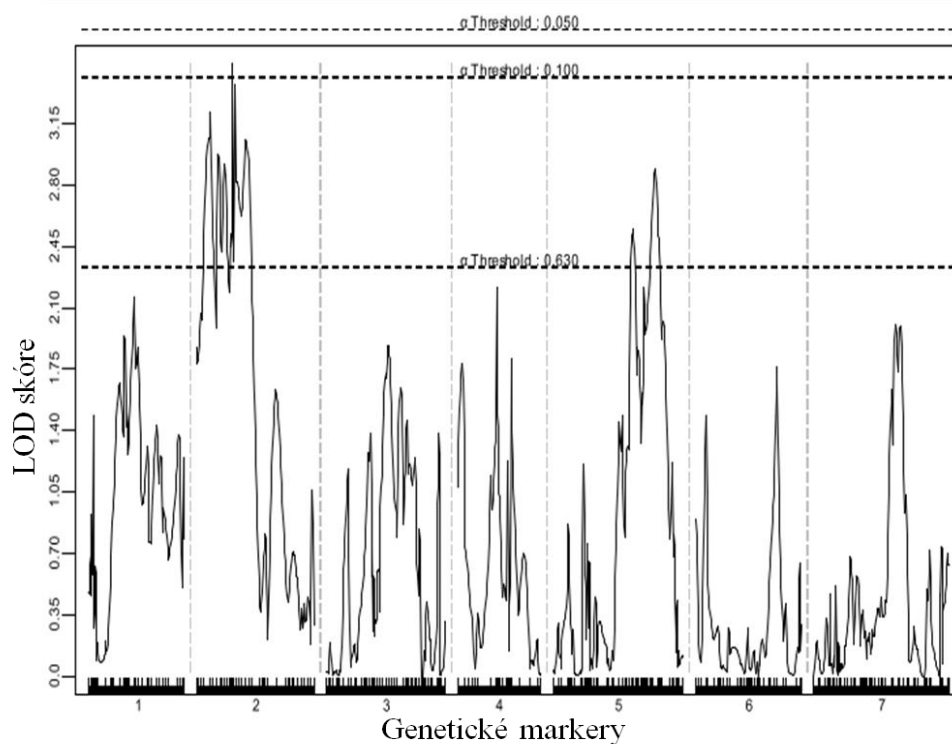
E) Váha zrn – sezóna 2012a (1 obilka v klásku)



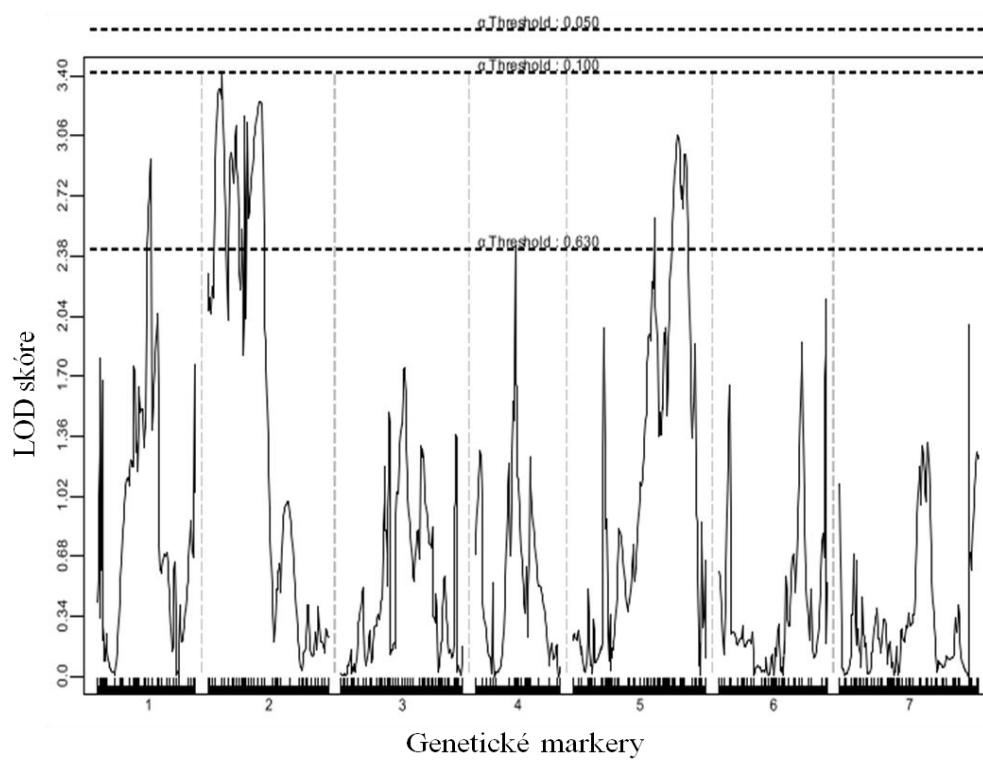
F) Váha zrn – sezóna 2012a (2 obilky v klásku)



G) Váha zrn – sezóna 2012b (1 obilka v klásku)



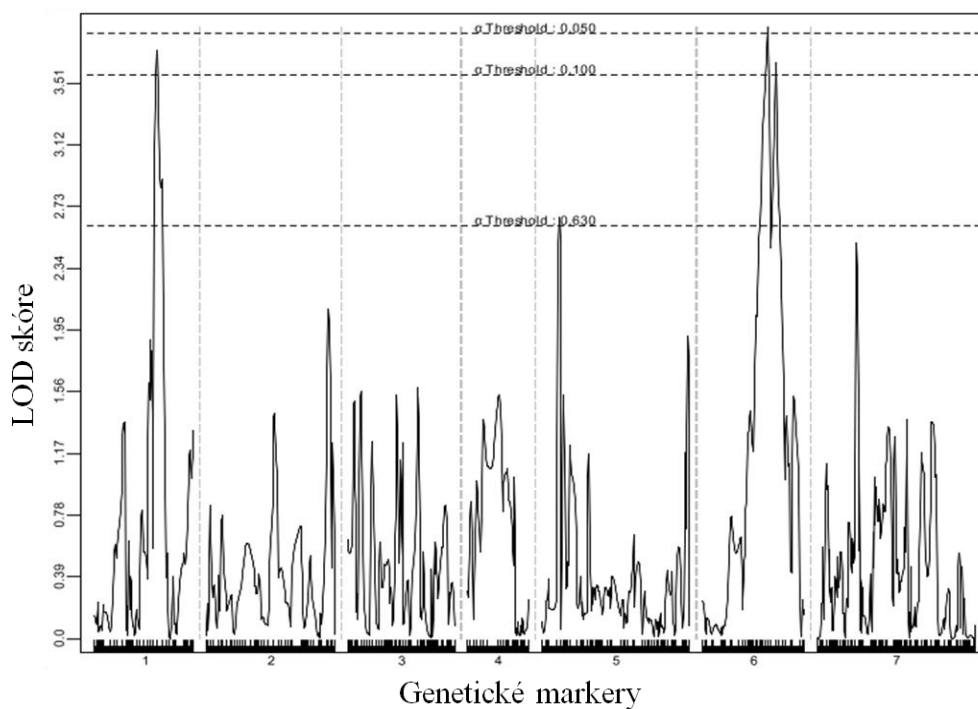
H) Váha zrn – sezóna 2012b (2 obilky v klásku)



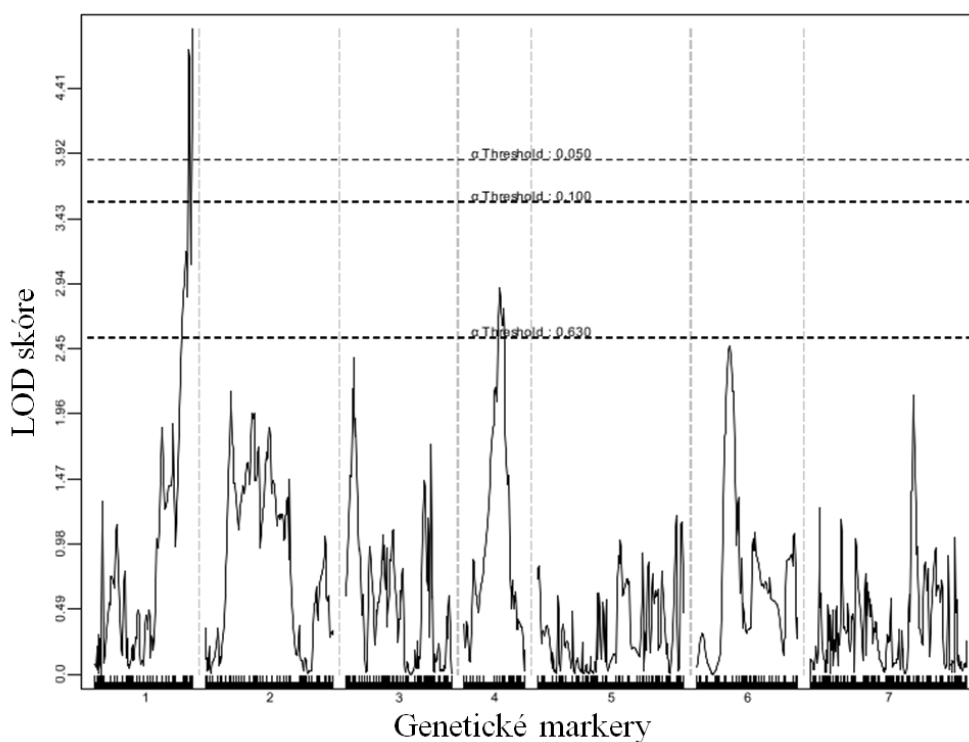
Obr. 14: QTL mapování znaku „počet klásků na klas (QSpn)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Na chromozómu 6A^m je zřetelný pík překračující v sezóně 2009 LOD 3. V dalších sezónách se pík vyskytuje v jiných oblastech chromozómu. V sezóně 2010 byla potvrzena pozice QTL pro tento znak na chromozómu 1A^m. Další lokalizace QTL nejsou statisticky významné.

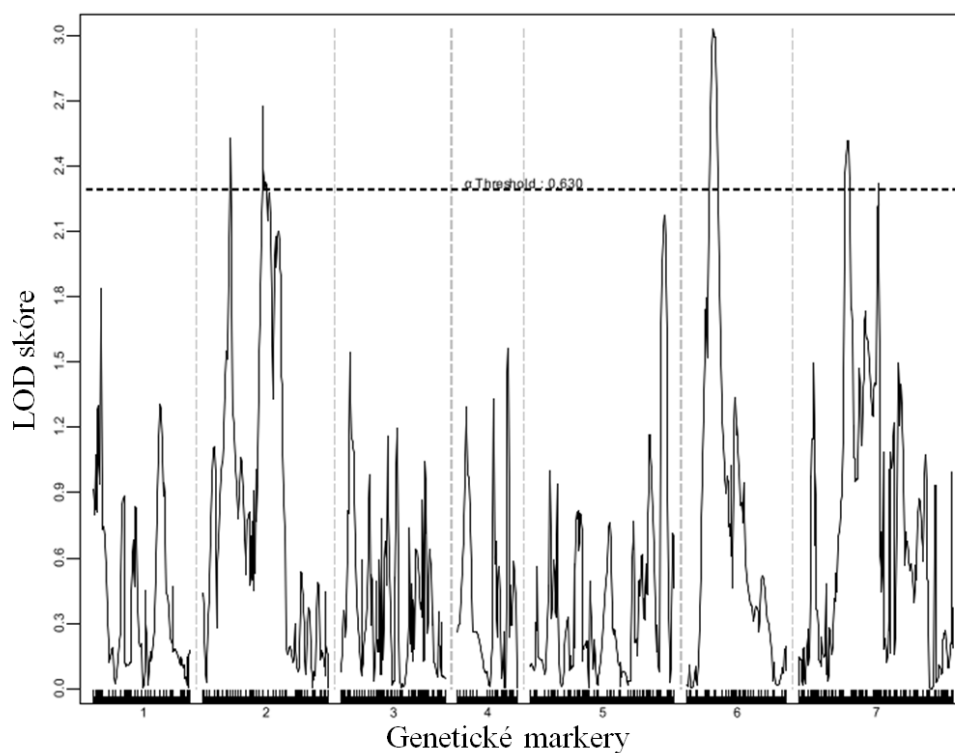
A) Počet klásků na klas – sezóna 2009



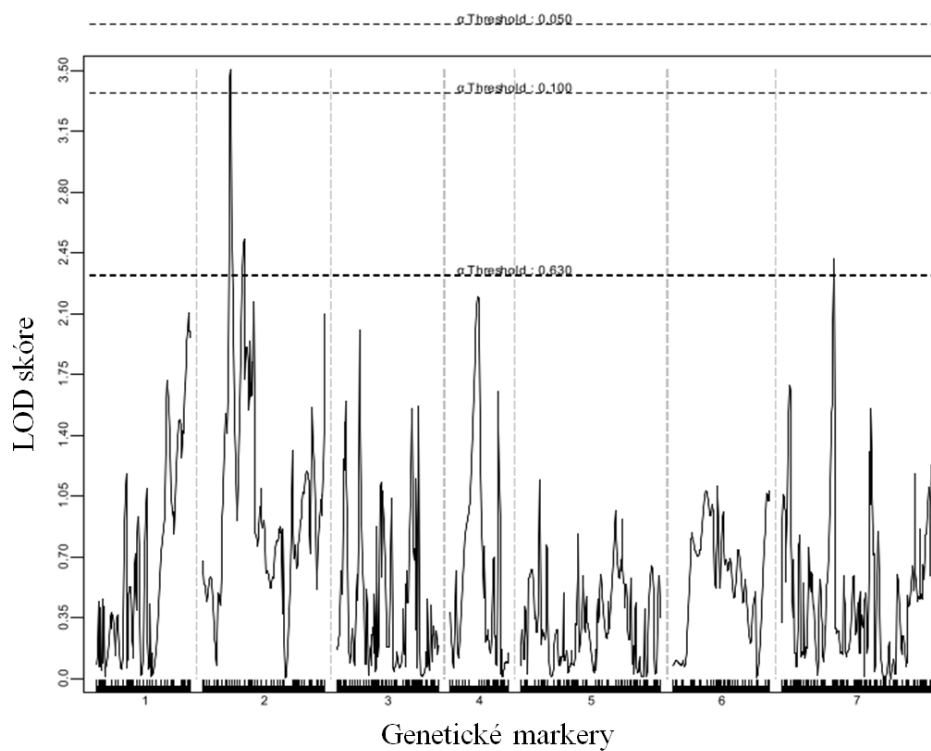
B) Počet klásků na klas – sezóna 2010



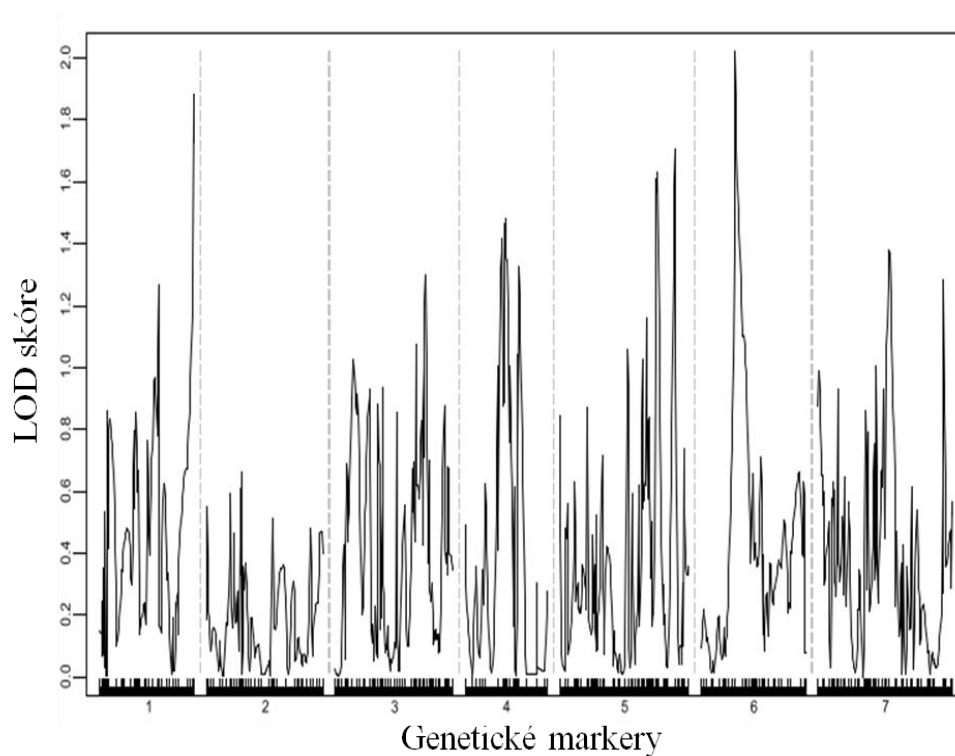
C) Počet klásků na klas – sezóna 2011a



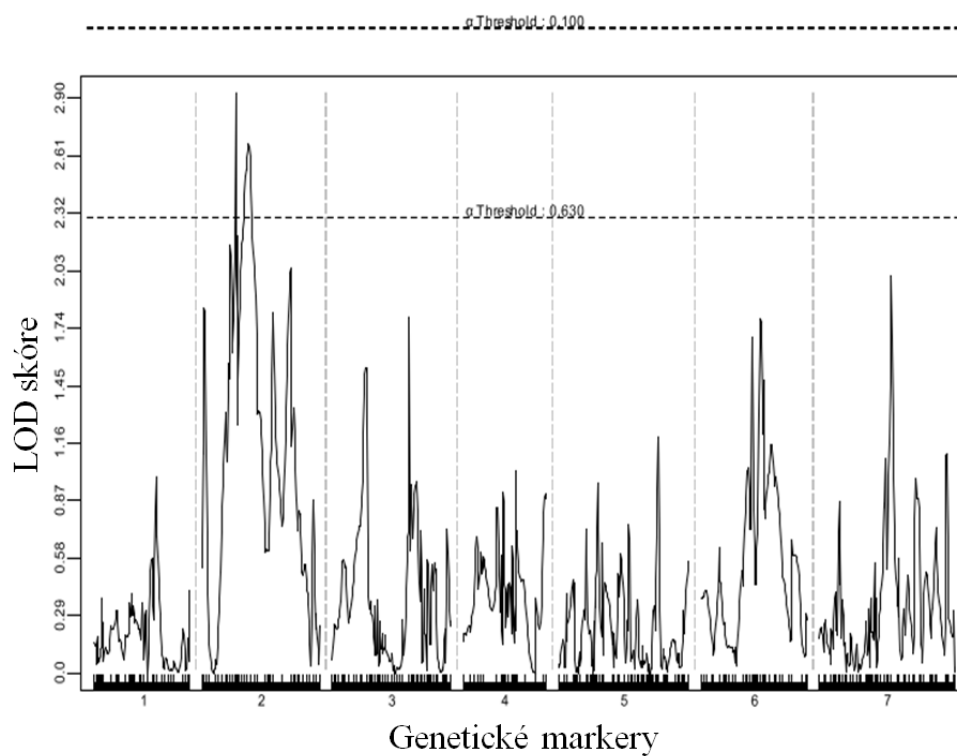
D) Počet klásků na klas – sezóna 2011b



E) Počet klásků na klas – sezóna 2012a



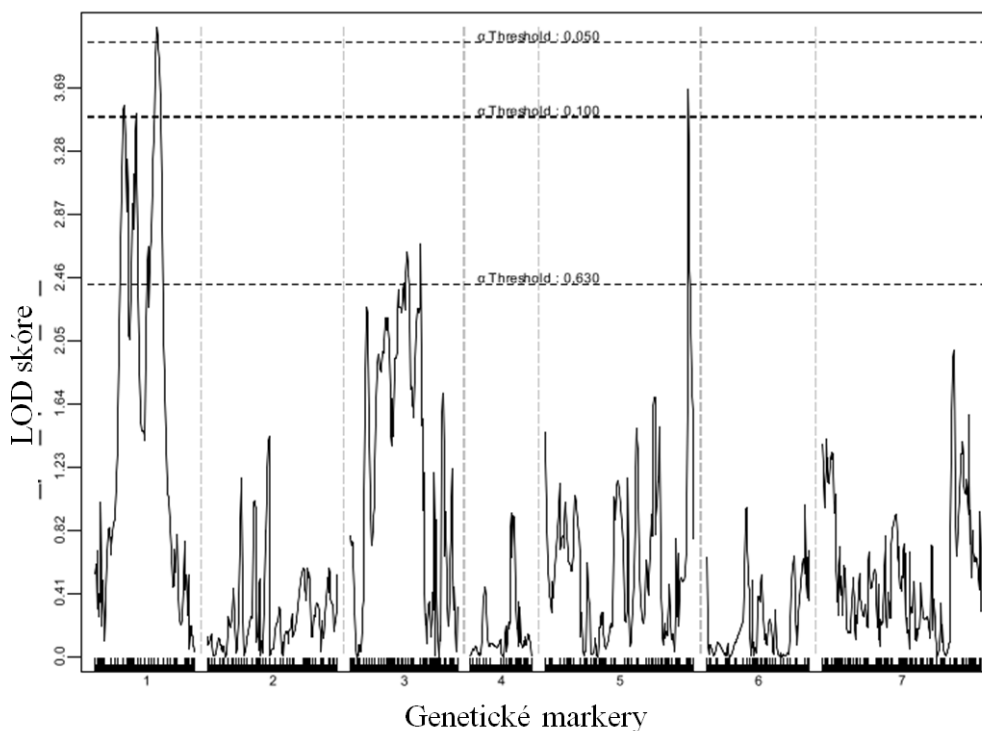
F) Počet klásků na klas – sezóna 2012b



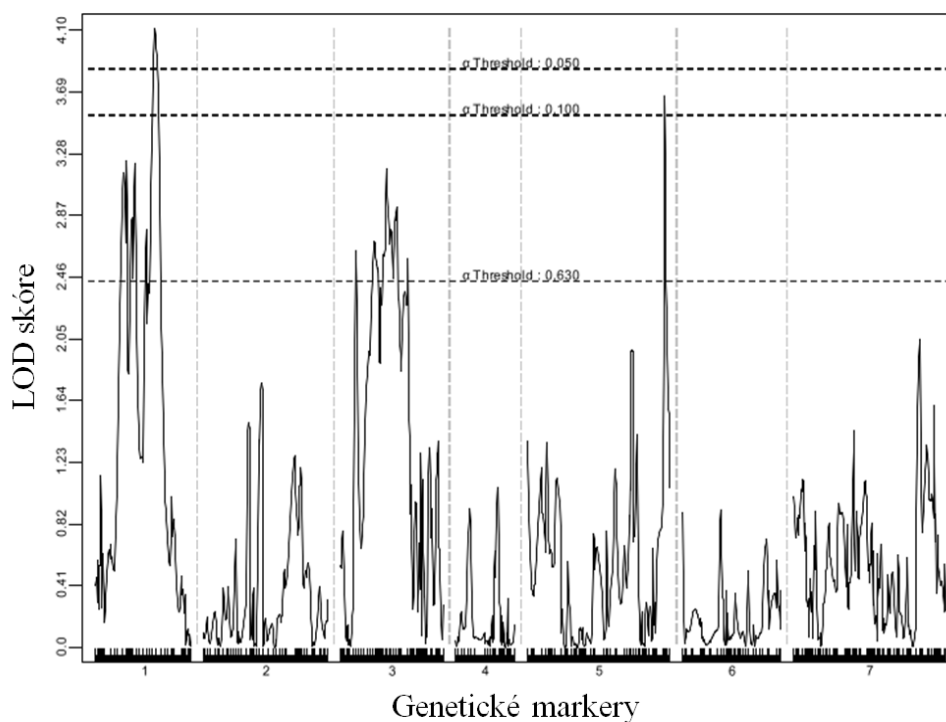
Obr. 15: QTL mapování znaku „počet obilek na klásek (QGn)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Na chromozómu 1A^m se objevuje několik píků, lokus pro daný znak nelze přesně lokalizovat. Stejně je tomu v případě chromozómu 3A^m. Pík na chromozómu 5A^m překročil LOD 3. Další data nejsou statisticky významná.

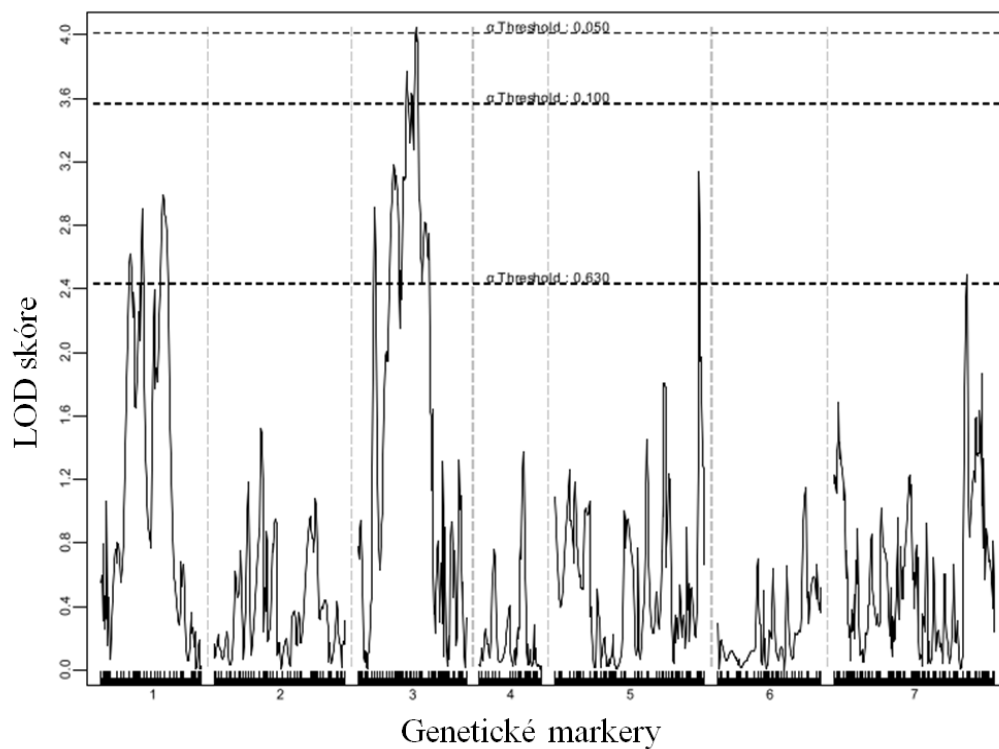
A) Počet obilek na klásek – sezóna 2009



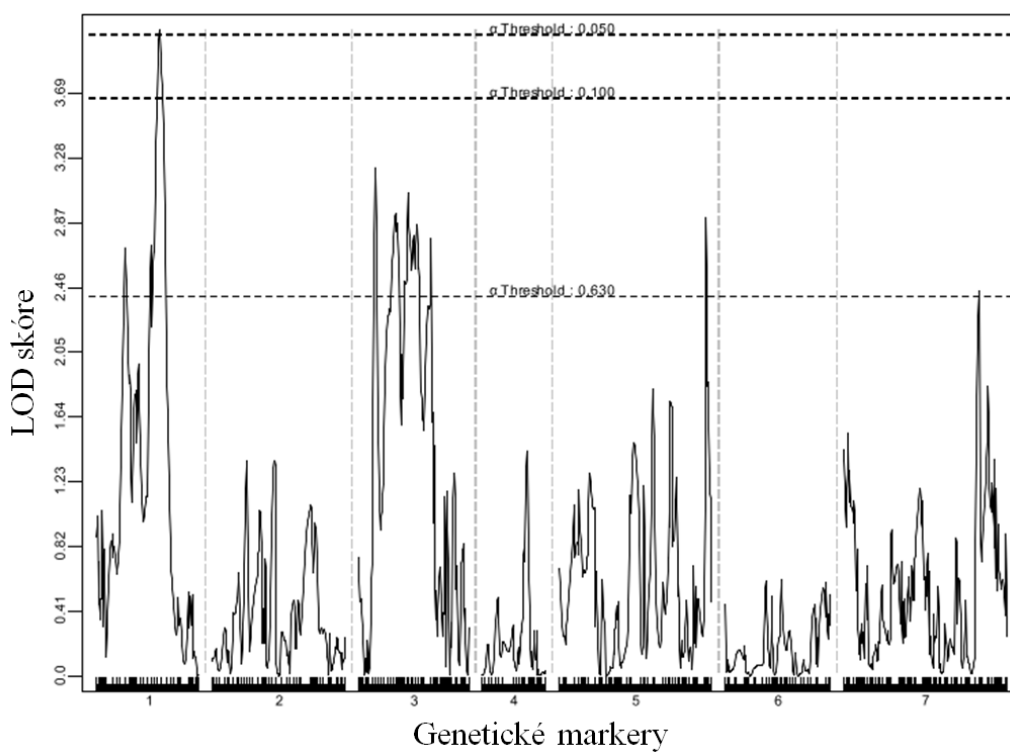
B) Počet obilek na klásek – sezóna 2010



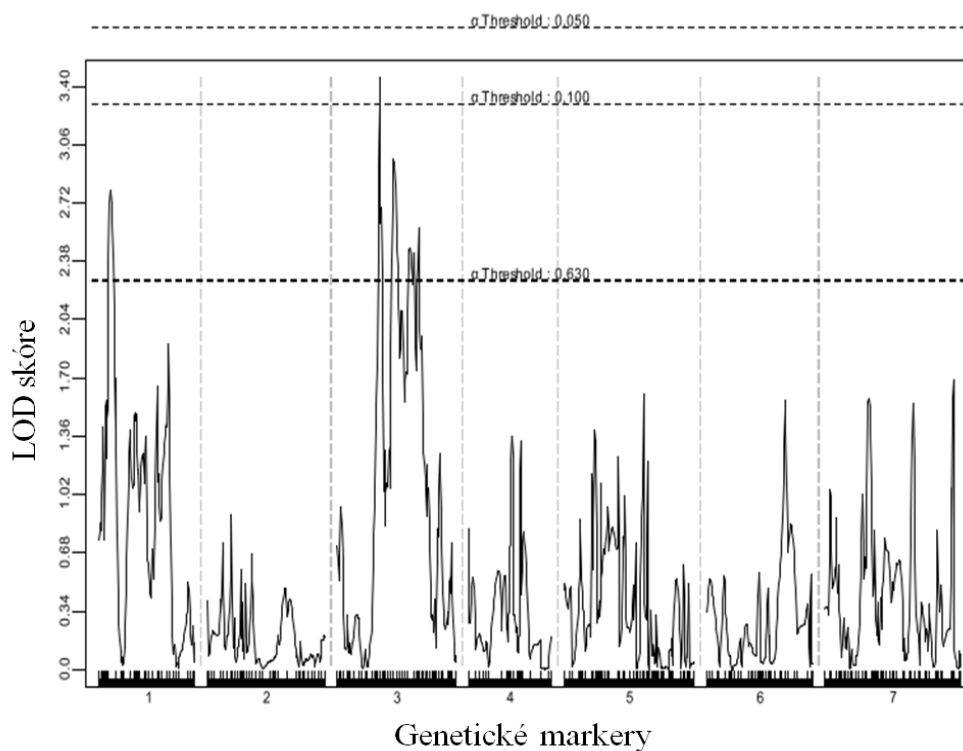
C) Počet obilek na klásek – sezóna 2011a



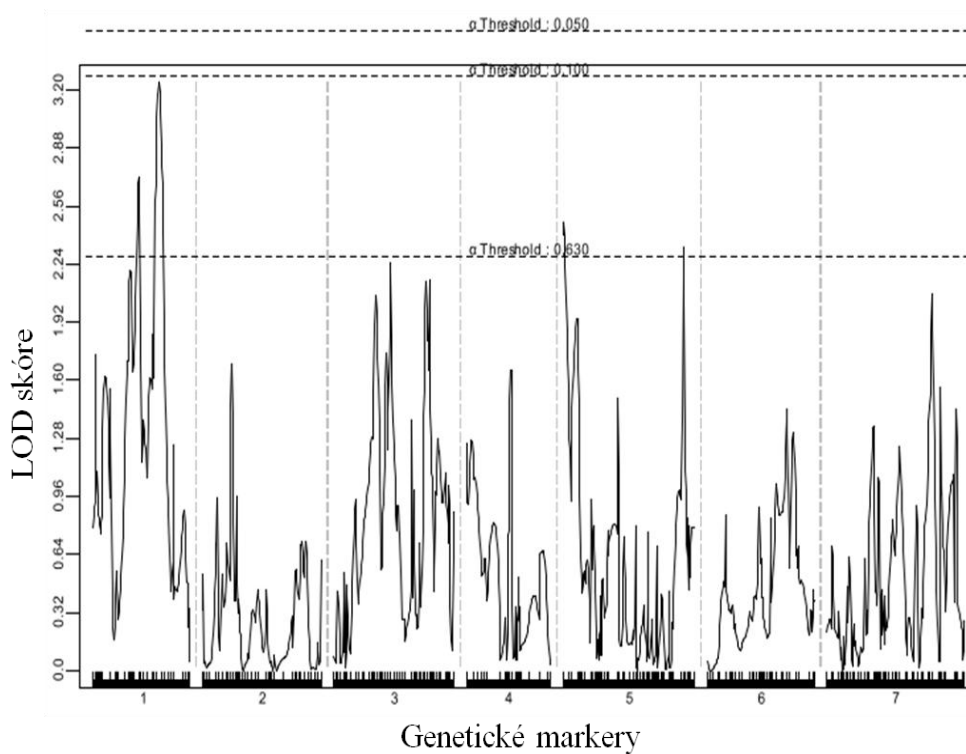
D) Počet obilek na klásek – sezóna 2011b



E) Počet obilek na klásek – sezóna 2012a



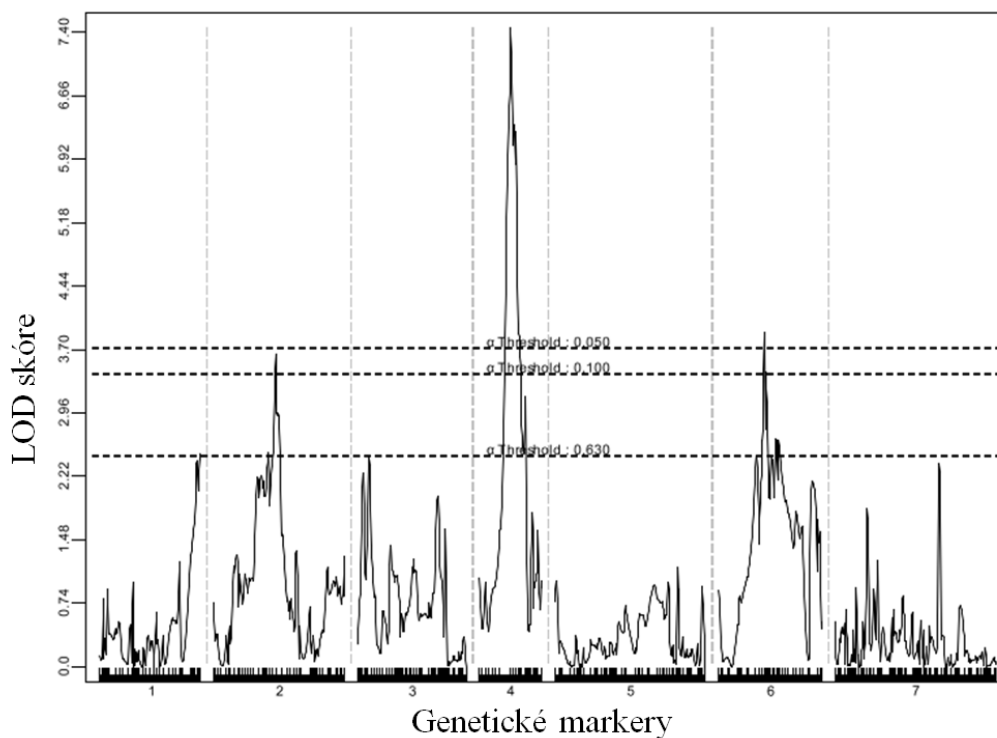
F) Počet obilek na klásek – sezóna 2012b



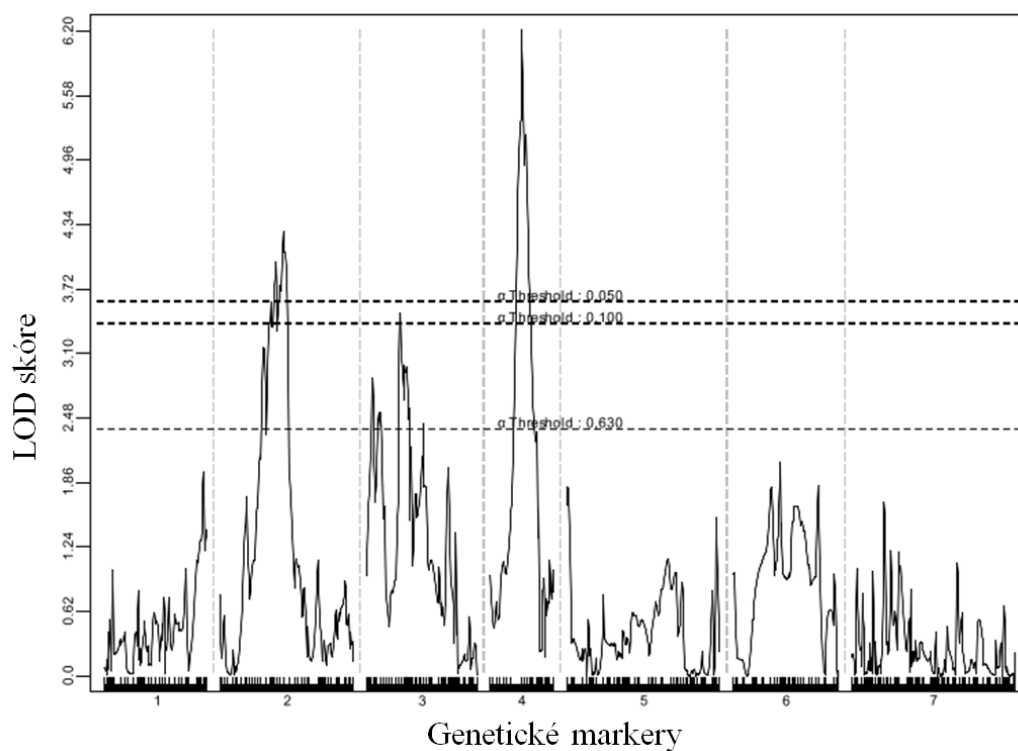
Obr. 16: QTL mapování znaku „délka klasu (QEI)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Lokus pro délku klasu je lokalizován na chromozómu 2A^m (2009, 2010, 2011). Na chromozómu 4A^m se píky objevují na dvou rozdílných pozicích. Stejně je tomu u chromozómu 6A^m, zde ale s nižší pravděpodobností. Ve třech sezónách se objevil signál i na chromozómu 3A^m, ale pokaždé v jiné oblasti.

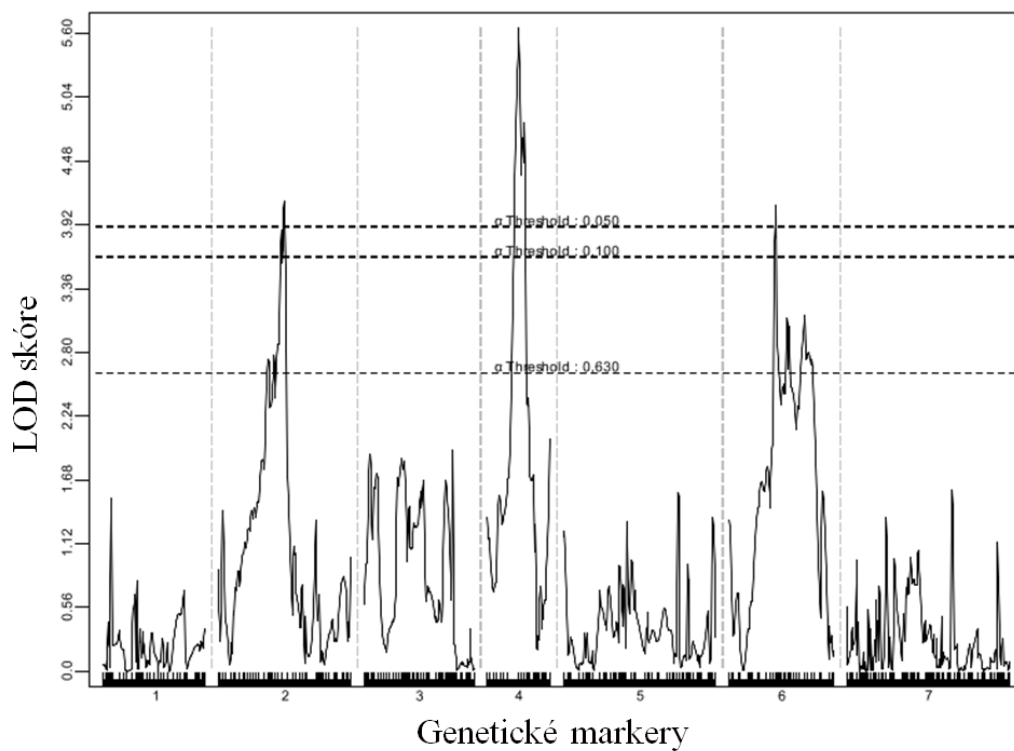
A) Délka klasu - sezóna 2009



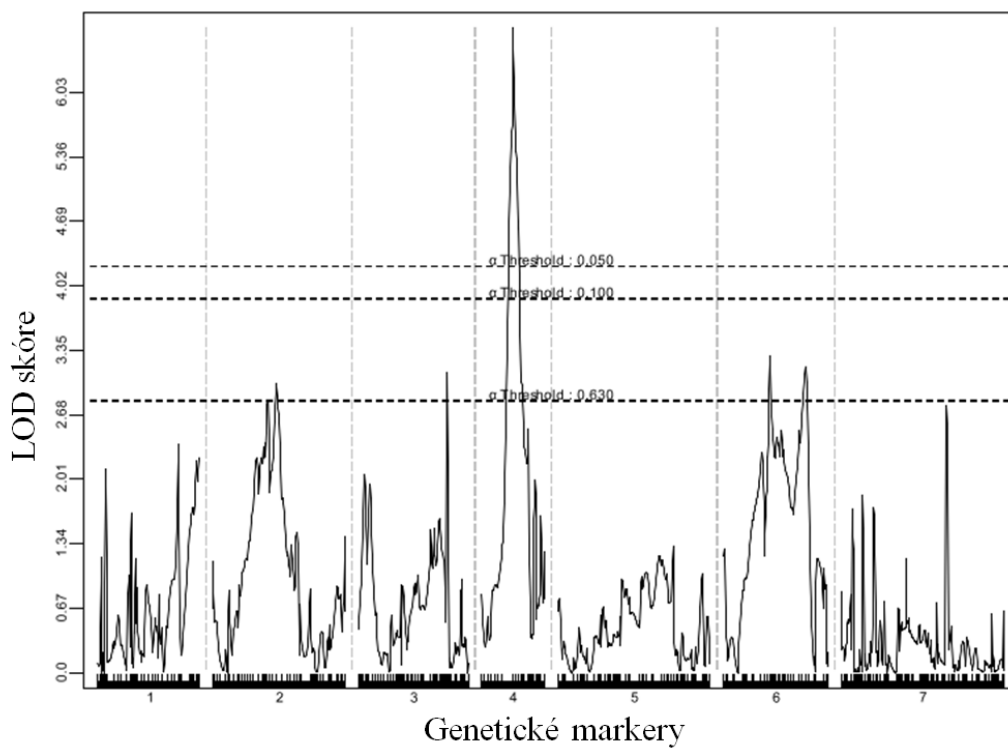
B) Délka klasu - sezóna 2010



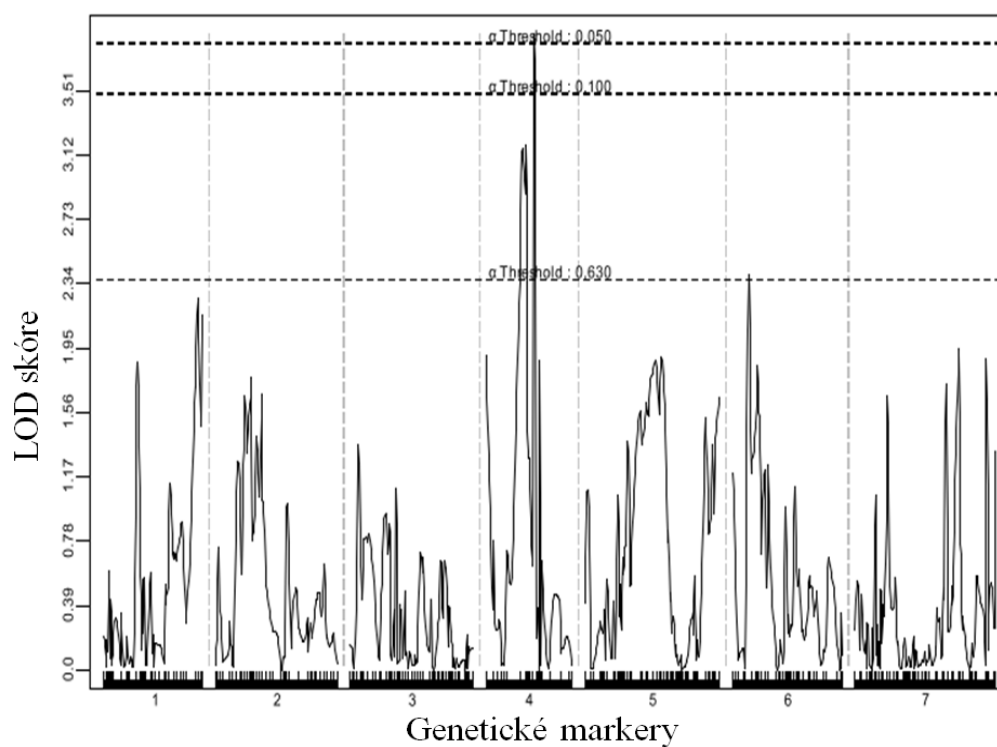
C) Délka klasu - sezóna 2011a



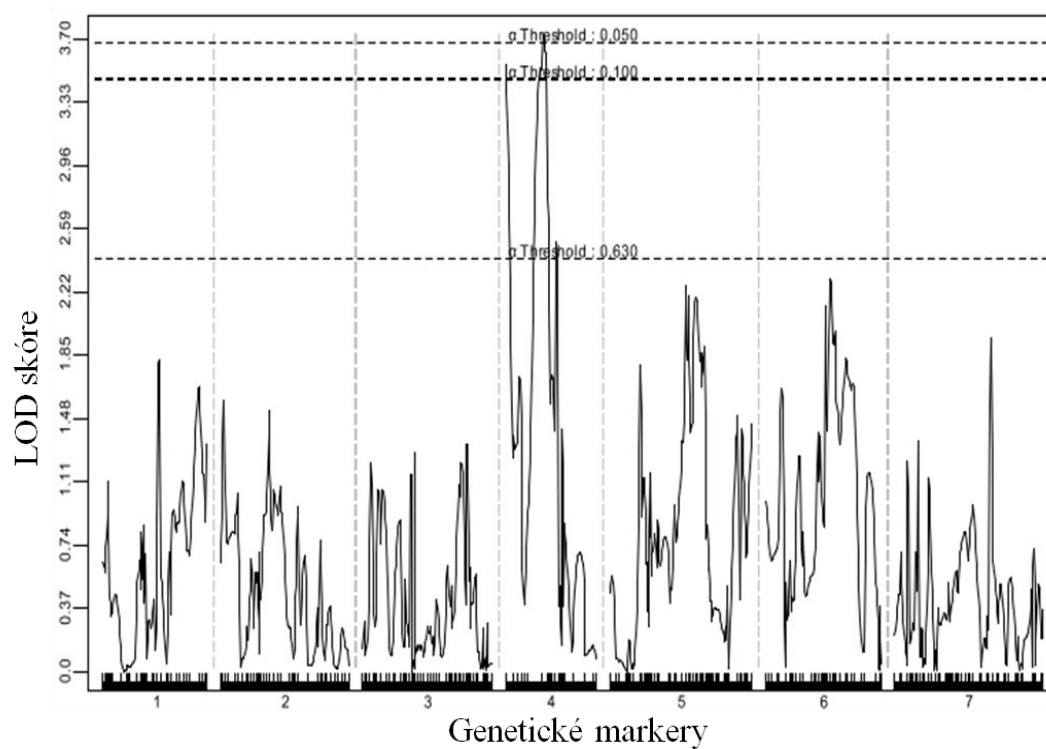
D) Délka klasu - sezóna 2011b



E) Délka klasu - sezóna 2012a



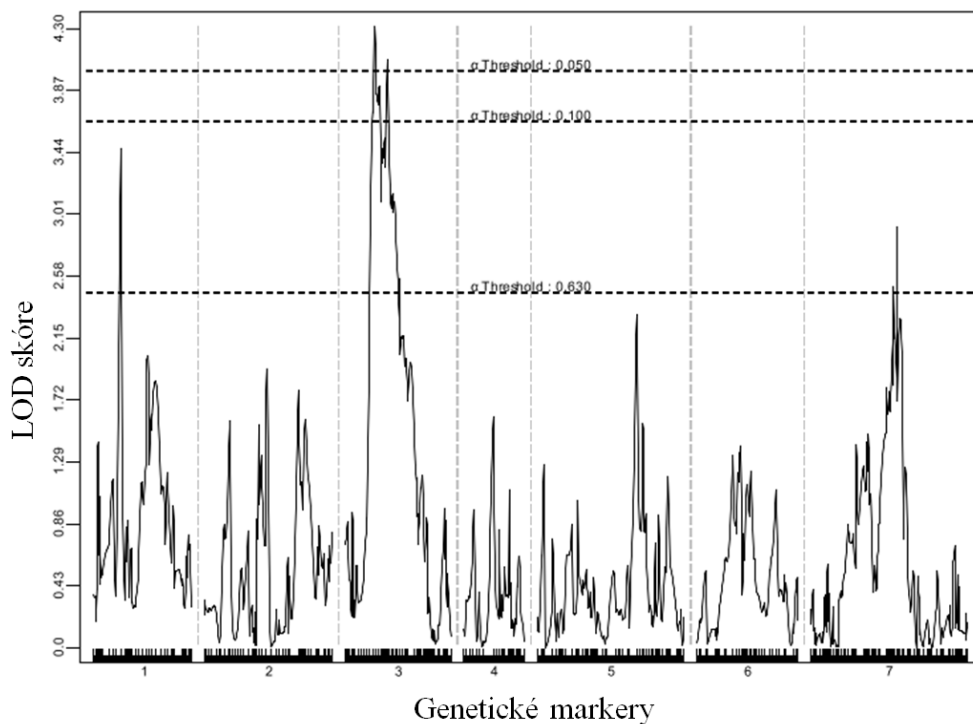
F) Délka klasu - sezóna 2012b



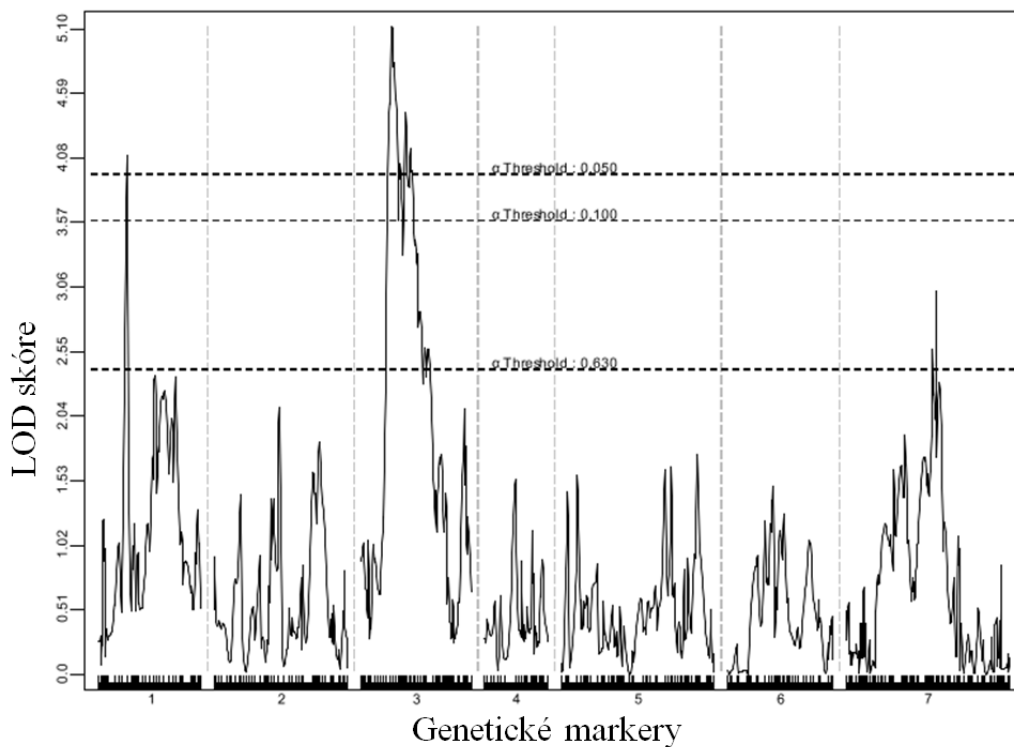
Obr. 17: QTL mapování znaku „rozpadavost klasu (QSh)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

S vysokou hladinou významnosti lze lokus pro rozpadavost klasu zamapovat na dvě místa chromozómu 1A^m, na chromozóm 3A^m a dále na chromozóm 5A^m a 7A^m.

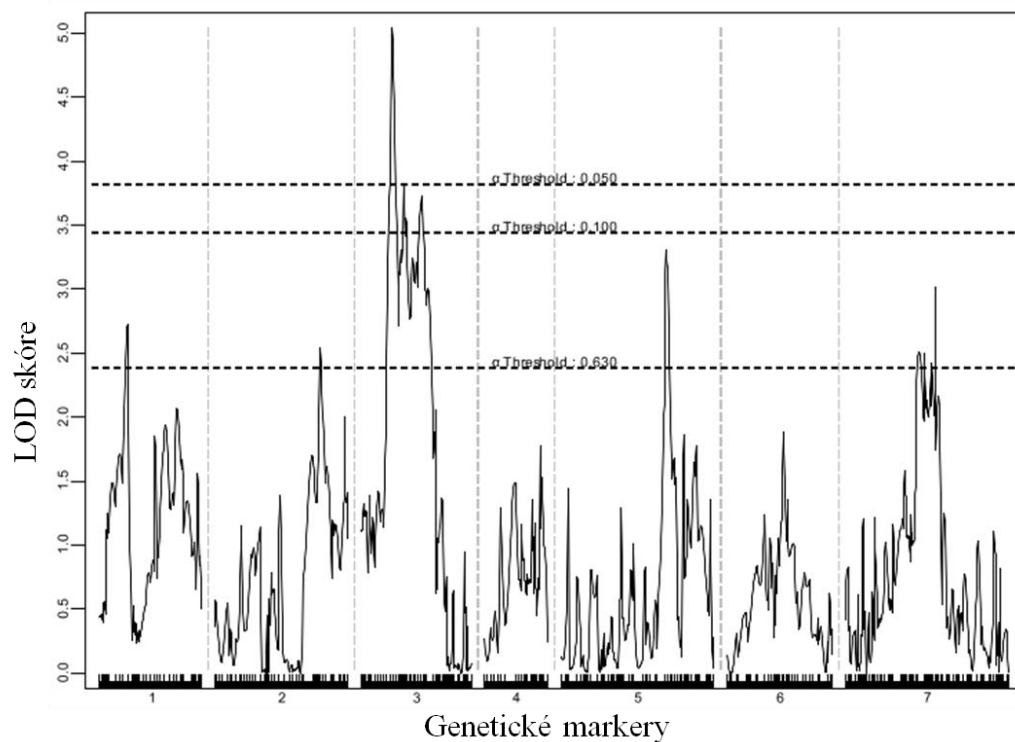
A) Rozpadavost klasu – sezóna 2009



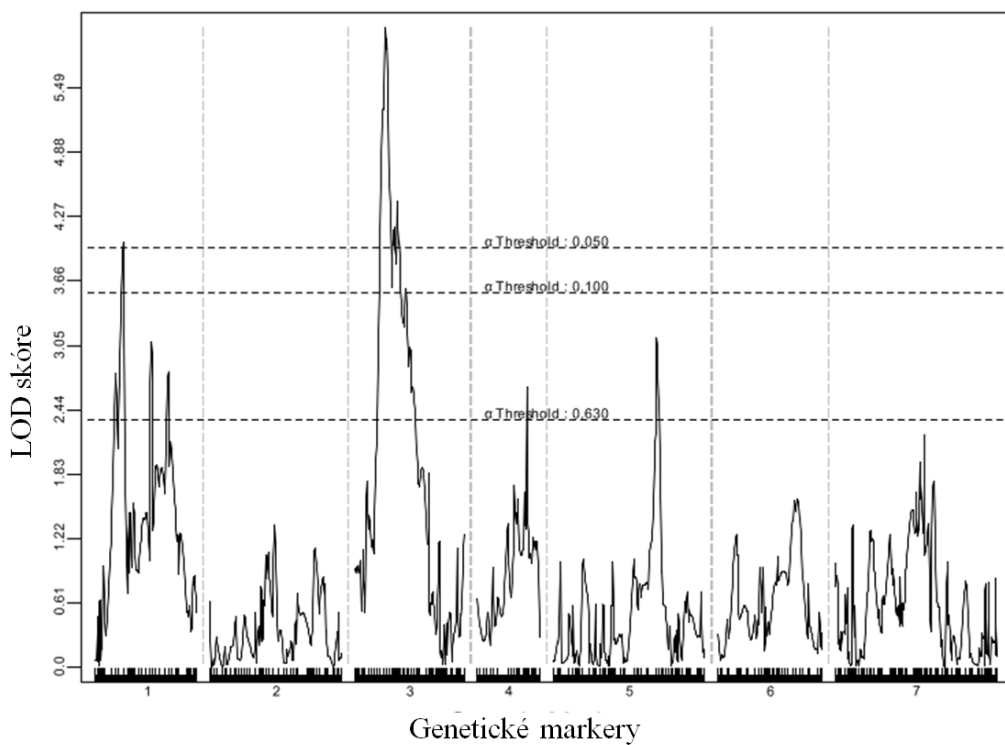
B) Rozpadavost klasu – sezóna 2010



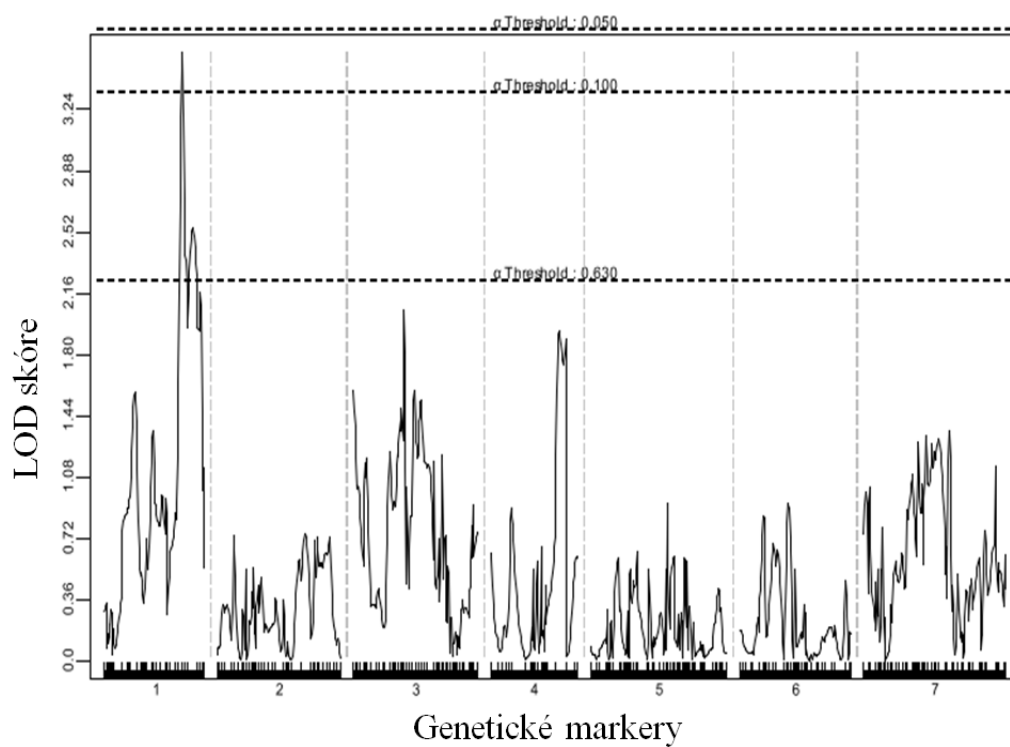
C) Rozpadavost klasu – sezóna 2011a



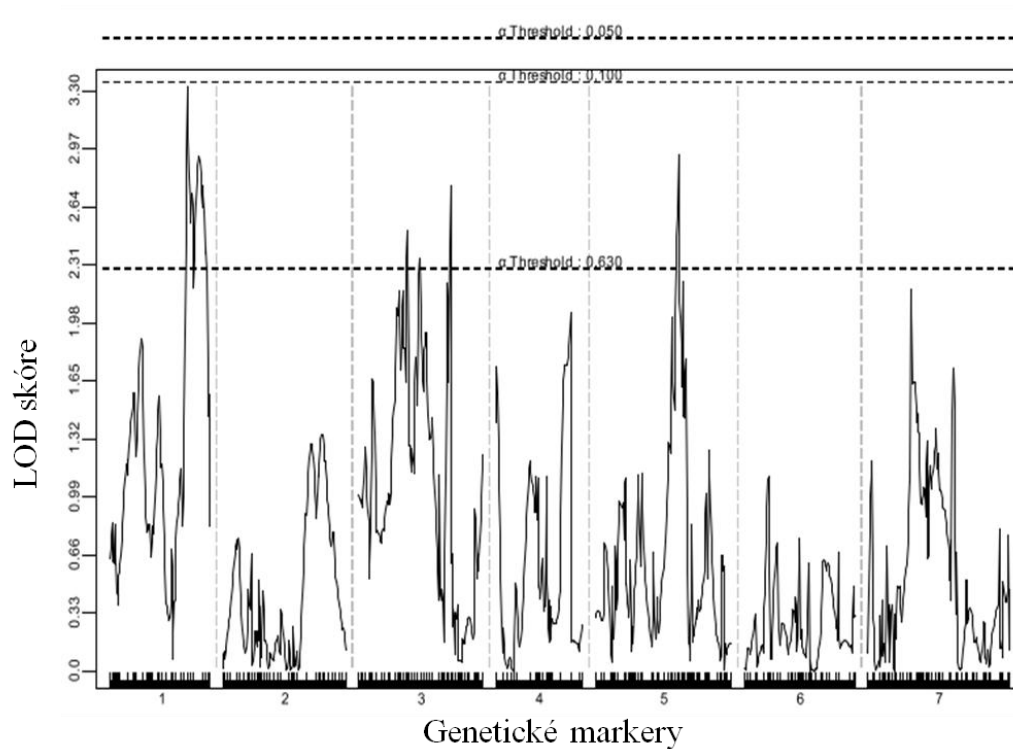
D) Rozpadavost klasu – sezóna 2011b



E) Rozpadavost klasu – sezóna 2012a



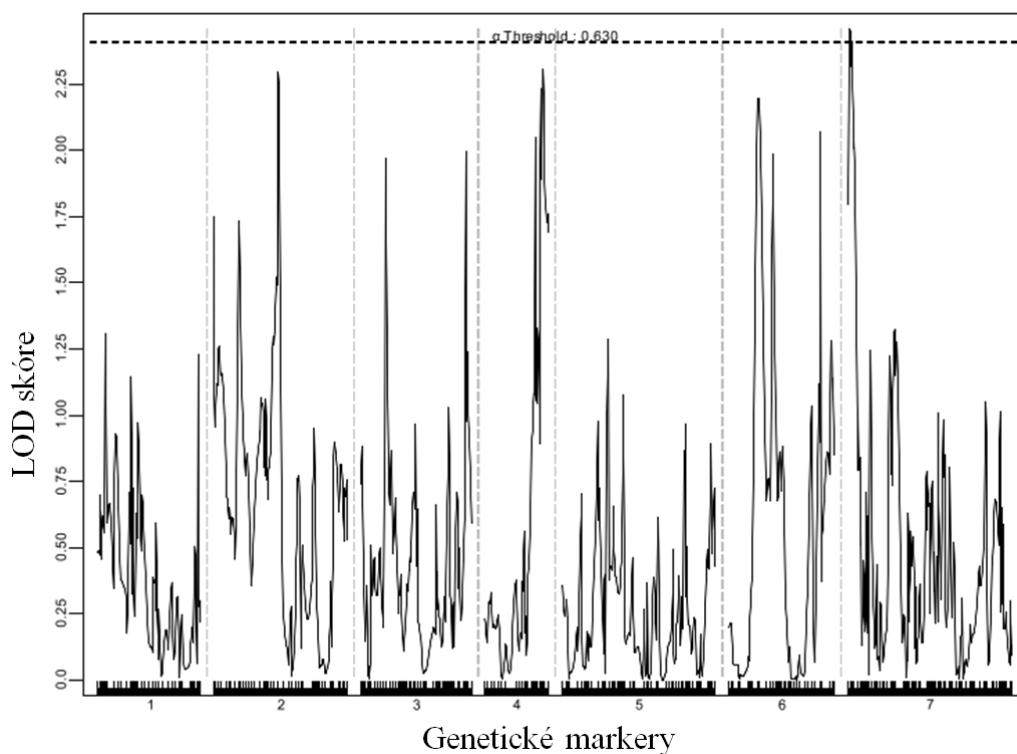
F) Rozpadavost klasu – sezóna 2012b



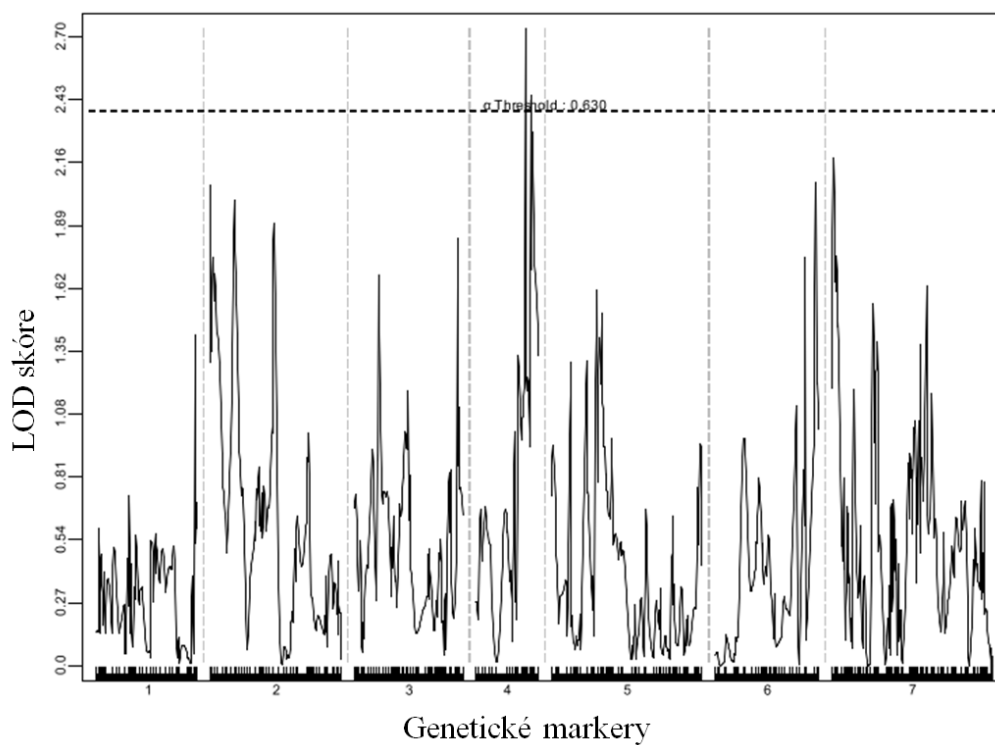
Obr. 18: QTL mapování znaku „počet odnoží (QTn)“ v sezóně 2010, 2011 a 2012

Data nebyla signifikantní, vyjma několika piků, které se však objevovaly pokaždé na jiné pozici.

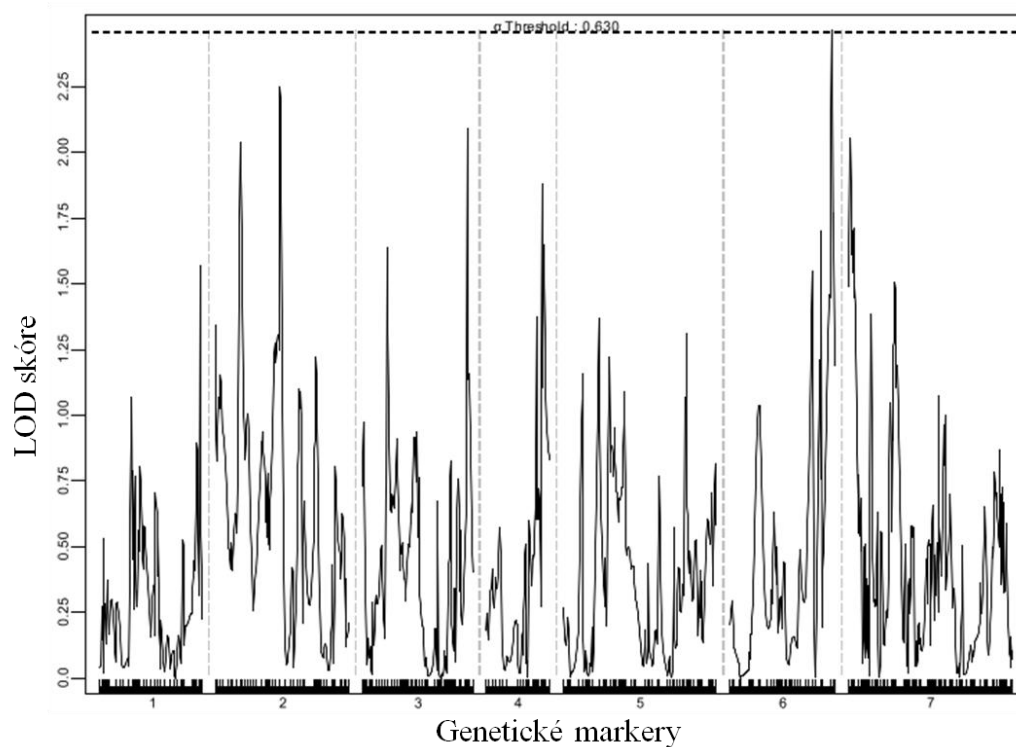
A) Počet odnoží – sezóna 2010



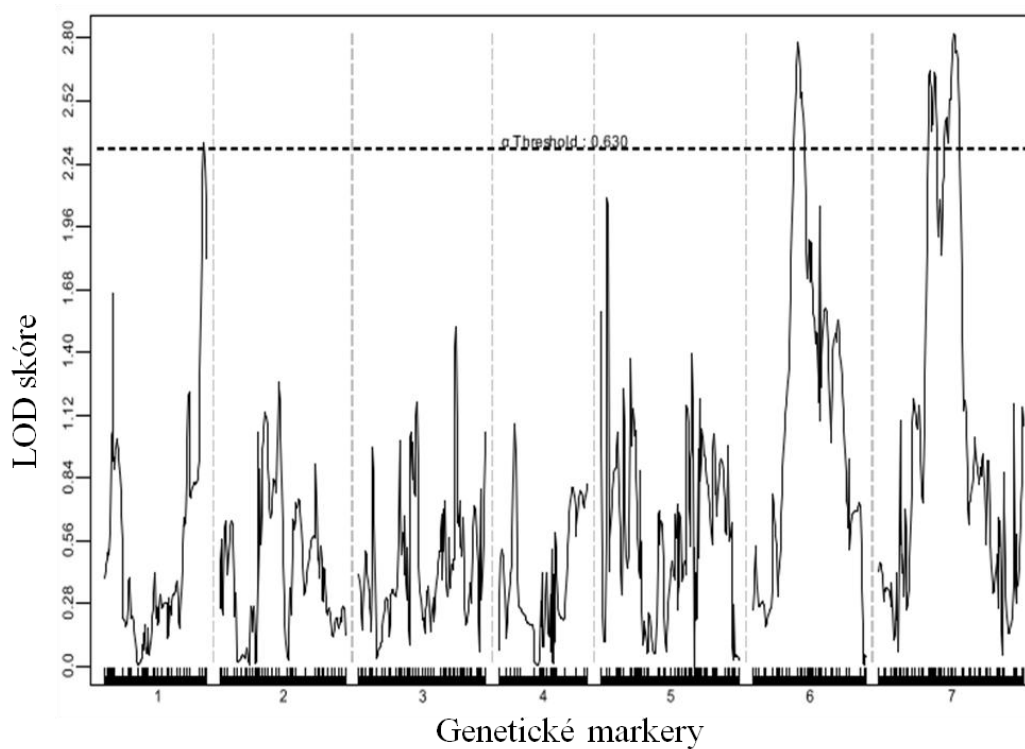
B) Počet odnoží – sezóna 2011a



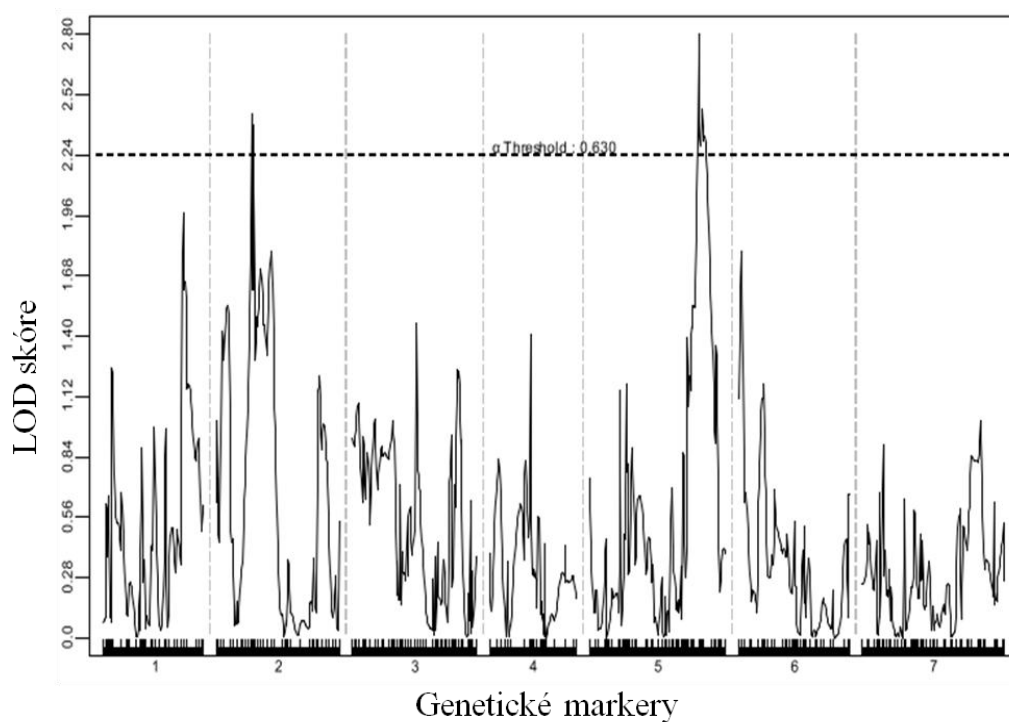
C) Počet odnoží – sezóna 2011b



D) Počet odnoží – sezóna 2012a



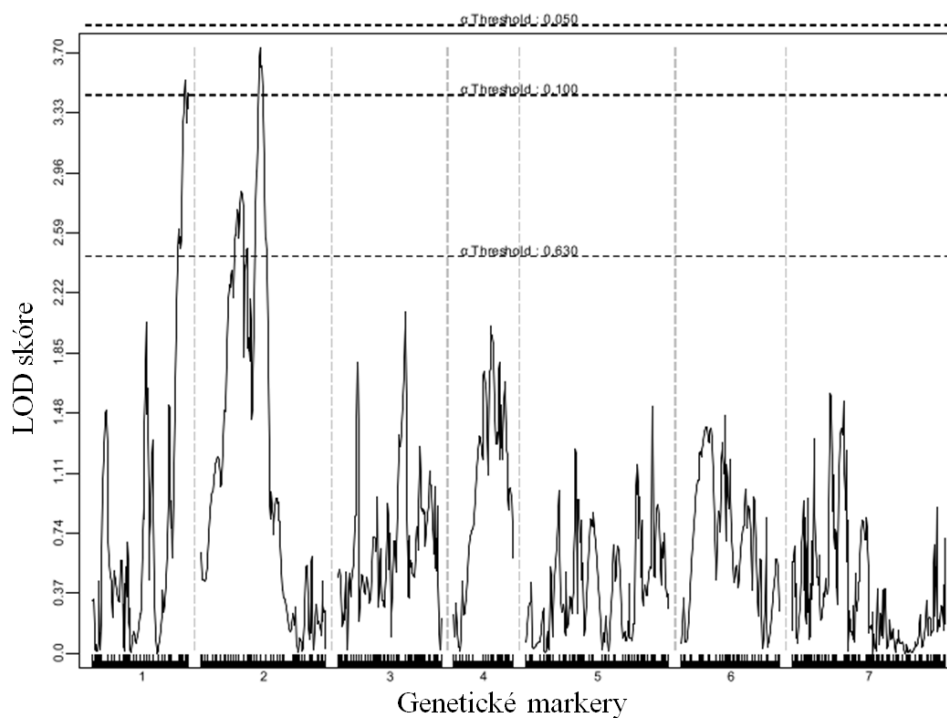
E) Počet odnoží – sezóna 2012b



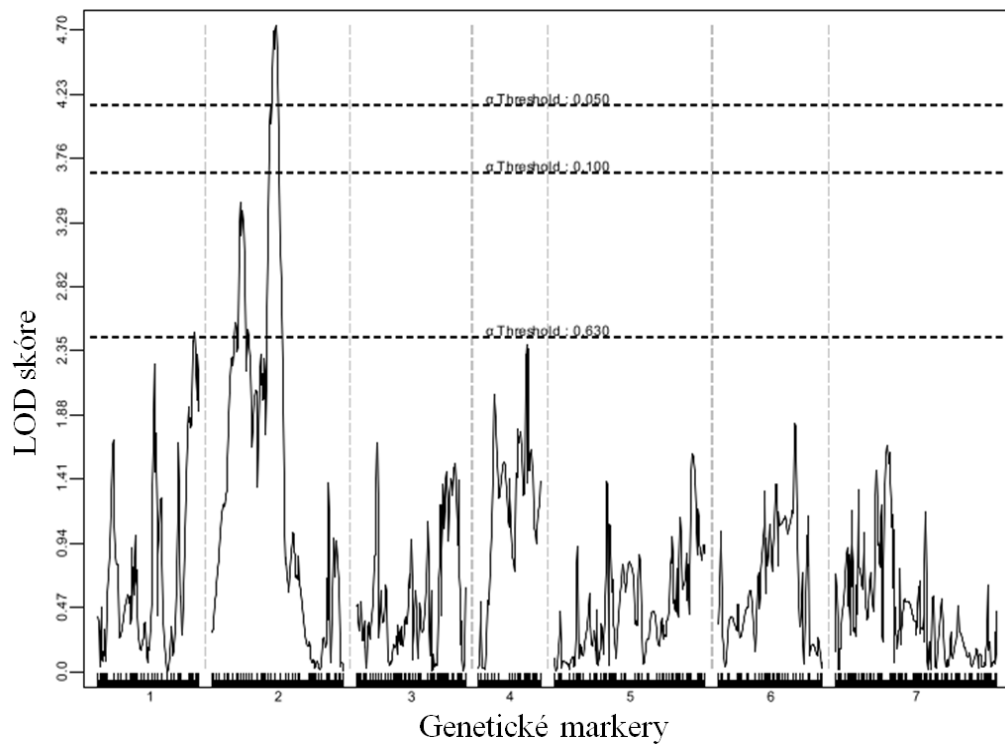
Obr. 19: QTL mapování znaku „rozkladitost trsu (QTs)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Lokus pro rozkladitost trsu byl na základě vysoké hladiny významnosti lokalizován na chromozómu 1A^m, 4A^m, 5A^m a dvakrát na chromozómu 2A^m, dále na chromozómu 7A^m.

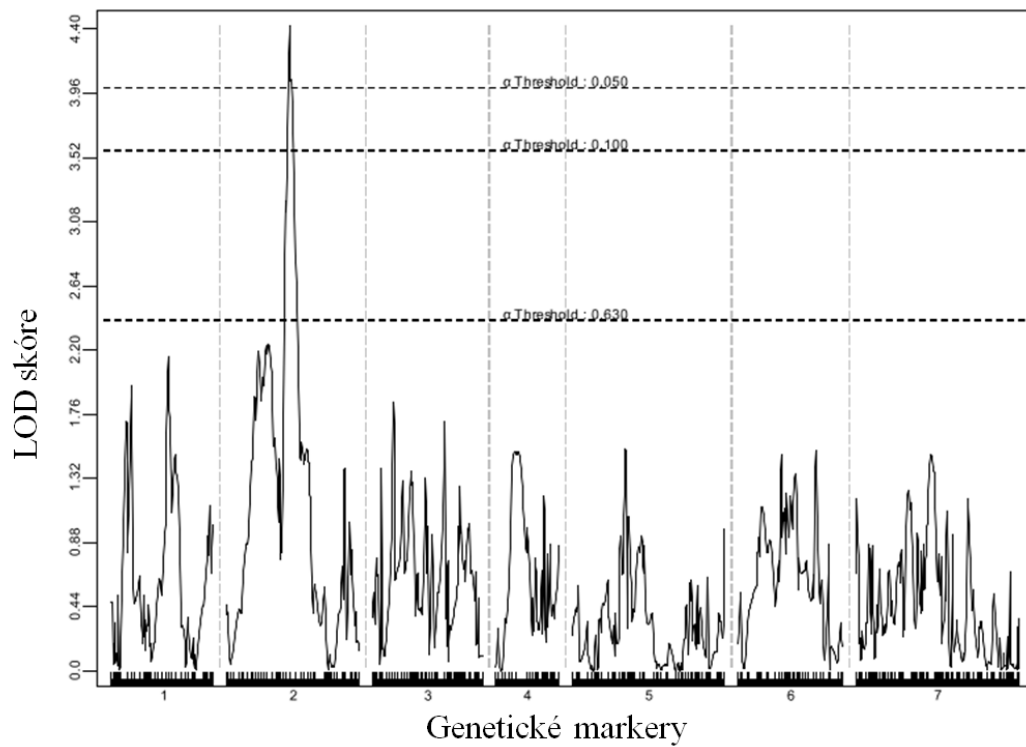
A) Rozkladitost trsu – sezóna 2009



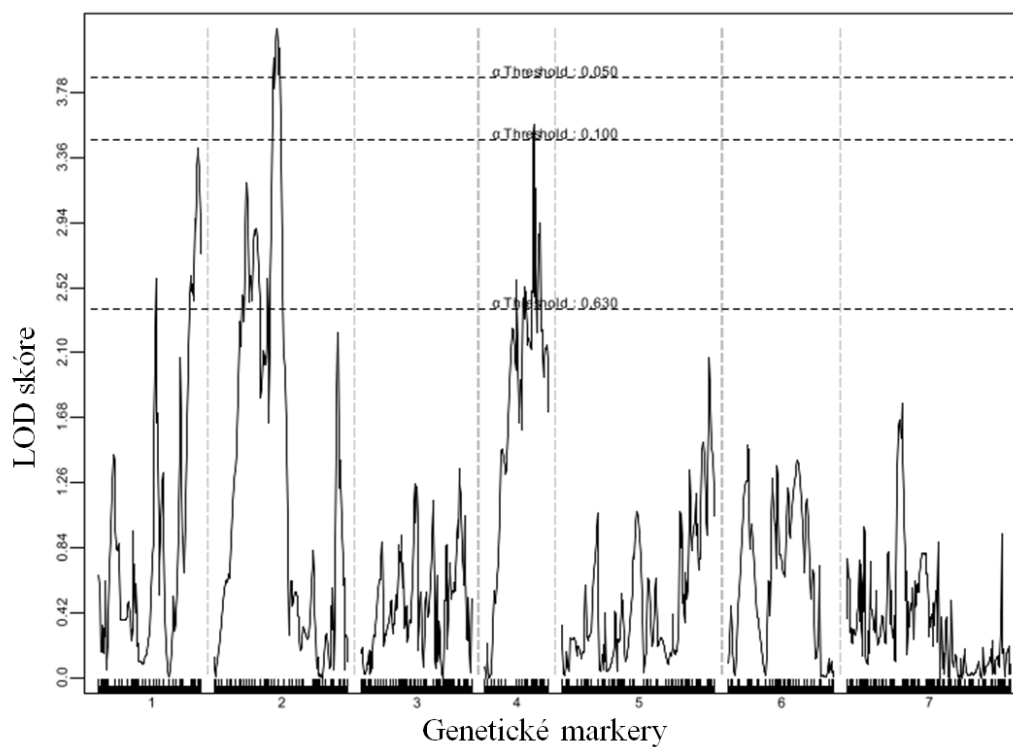
B) Rozkladitost trsu – sezóna 2010



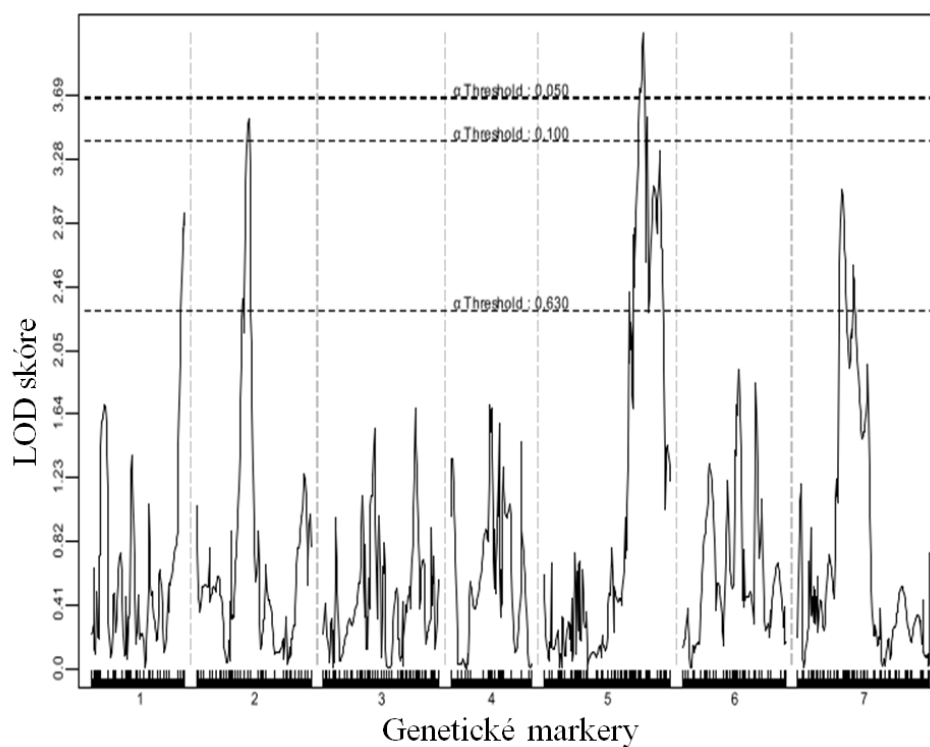
C) Rozkladitost trsu – sezóna 2011a



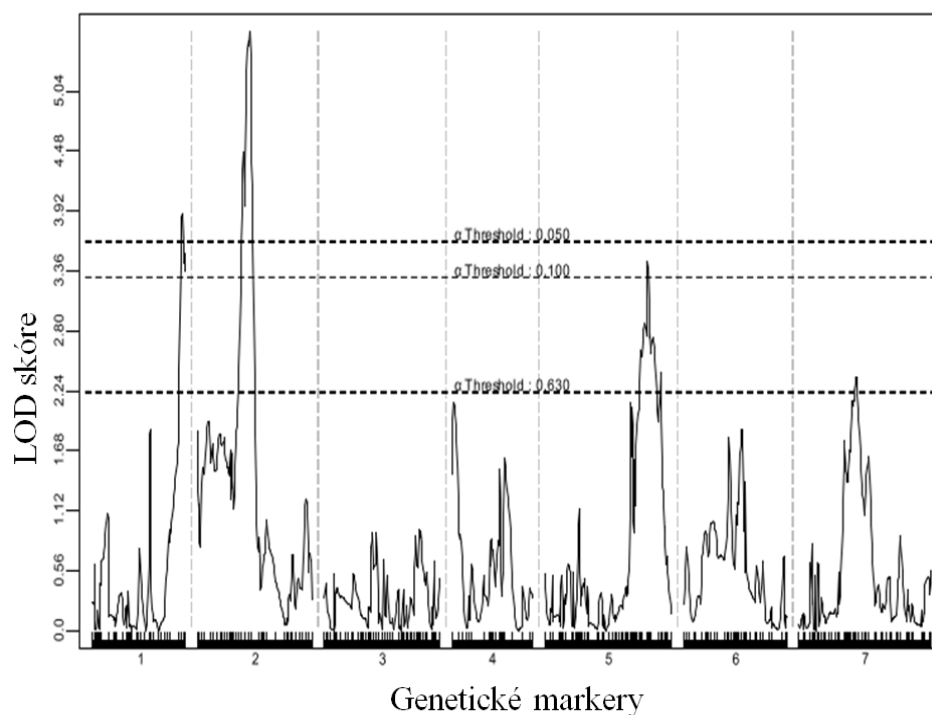
D) Rozkladitost trsu – sezóna 2011b



E) Rozkladitost trsu – sezóna 2012a



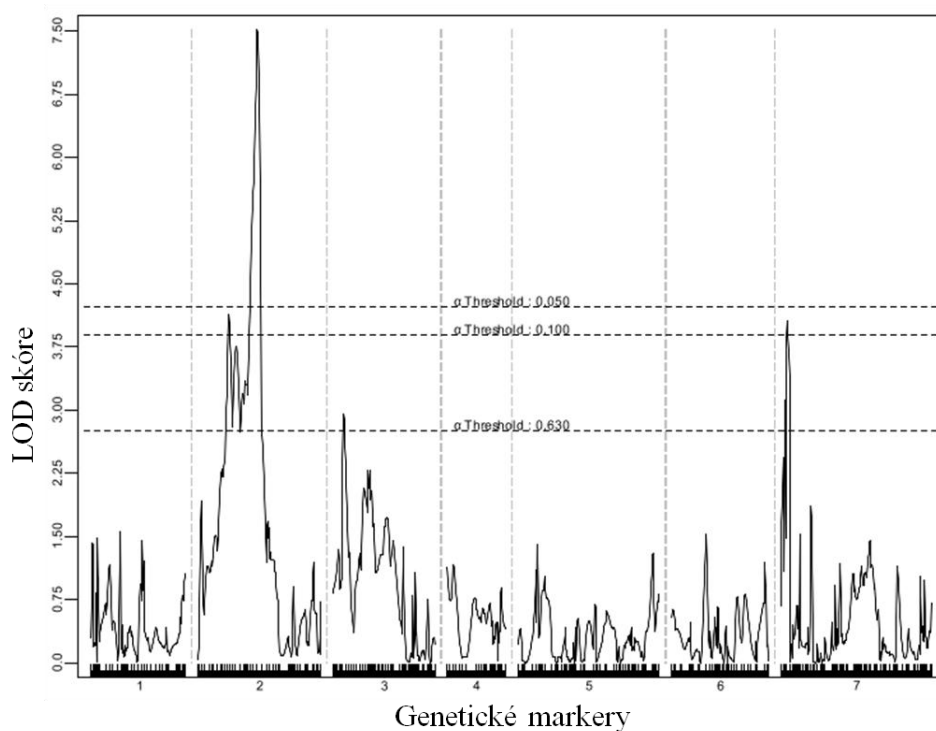
F) Rozkladitost trsu – sezóna 2012b



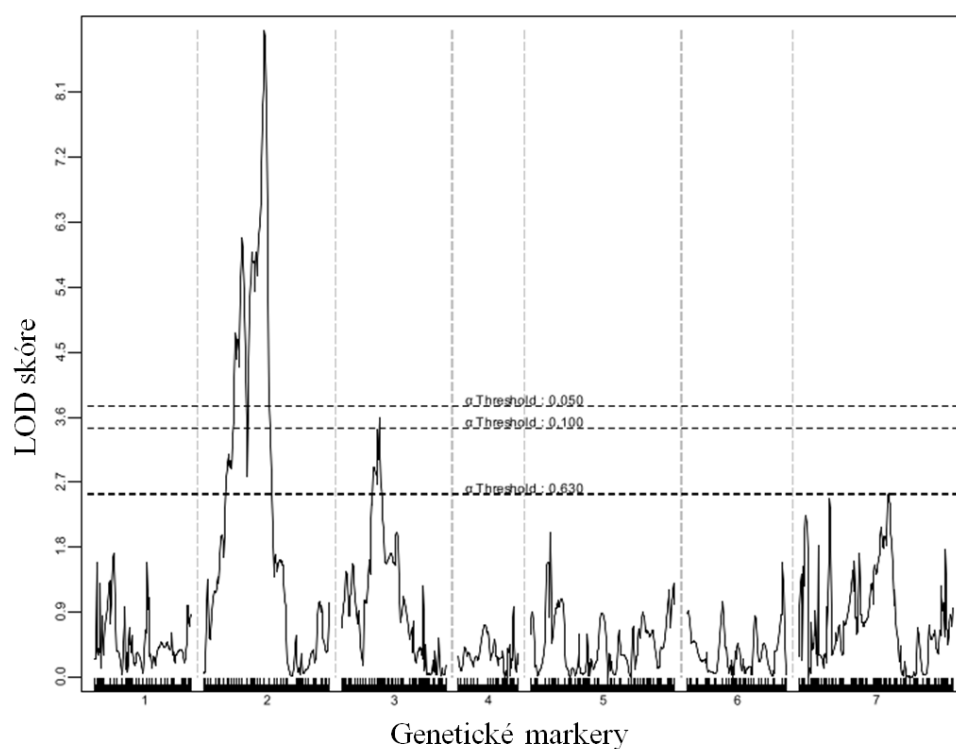
Obr. 20: QTL mapování znaku „výška rostliny (QHT)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Lokus pro výšku rostliny byl na základě vysoké hladiny významnosti lokalizován na dvou místech chromozómu 2A^m, s nižší hladinou významnosti na chromozómu 3A^m a 7A^m. Píky na chromozómu 7A^m se objevovaly na dvou pozicích. Data ze sezóny 2012a nebyla statisticky významná.

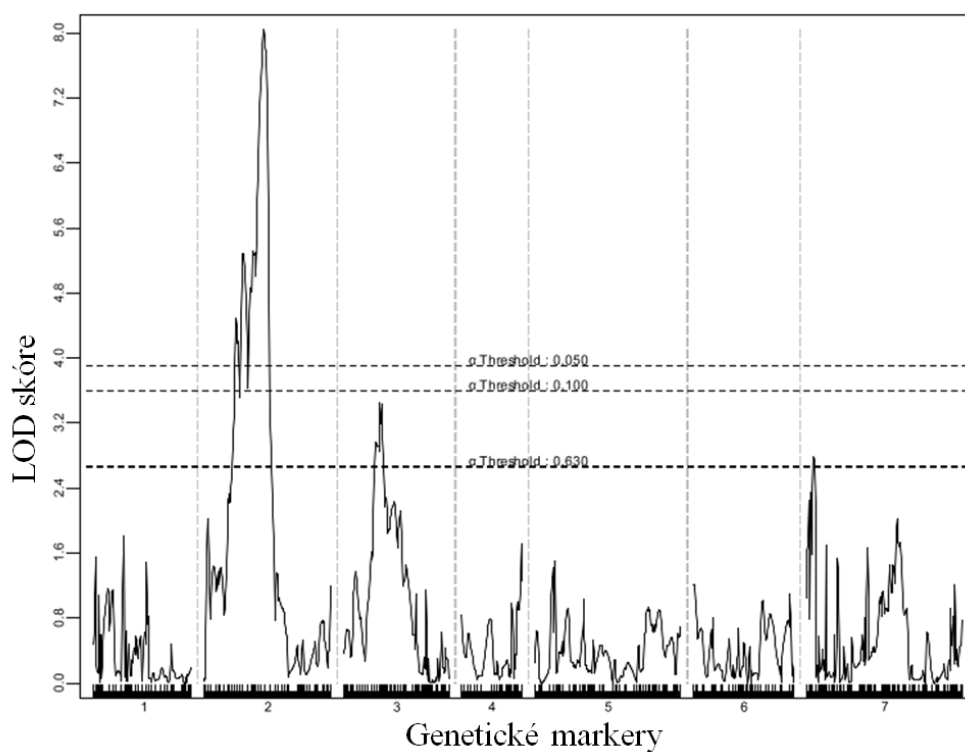
A) Výška rostliny – sezóna 2009



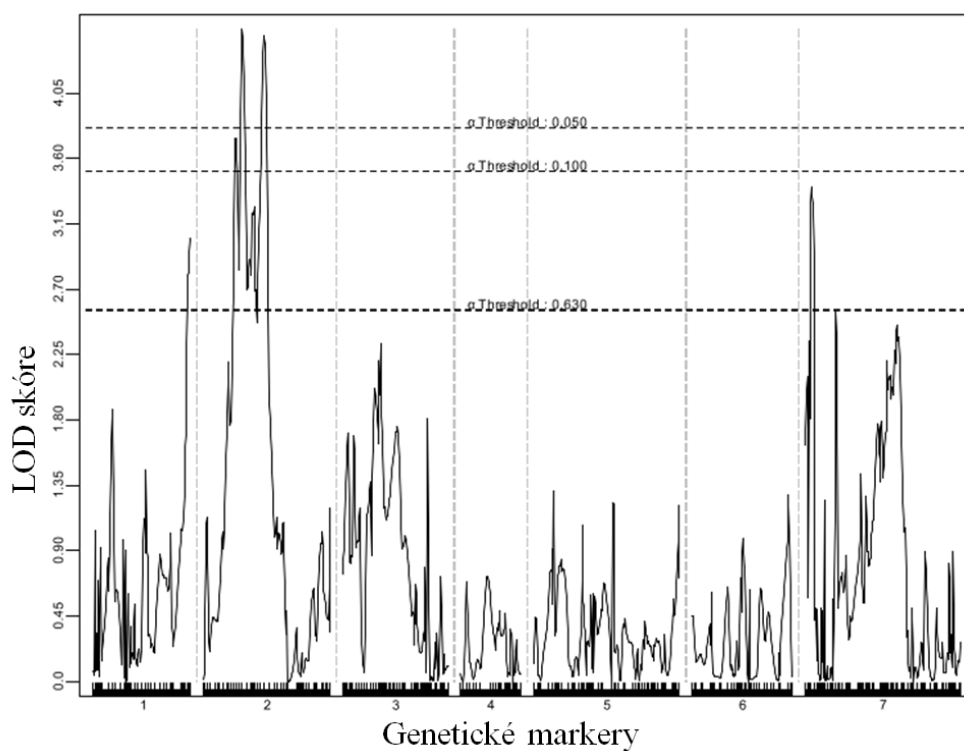
B) Výška rostliny – sezóna 2010



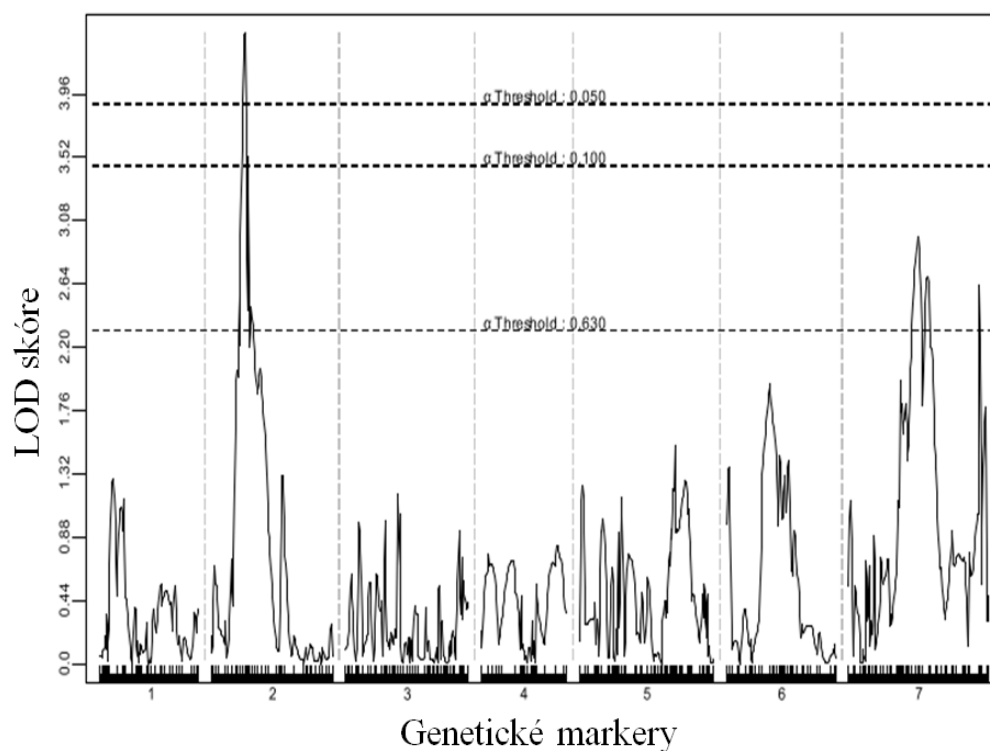
C) Výška rostliny – sezóna 2011a



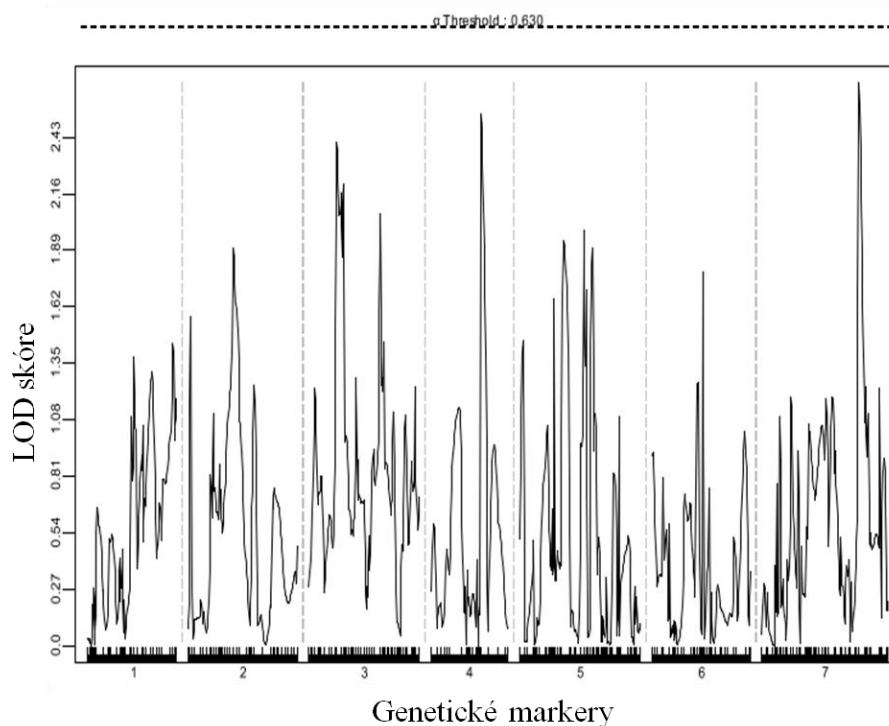
D) Výška rostliny – sezóna 2011b



E) Výška rostliny – sezóna 2012a



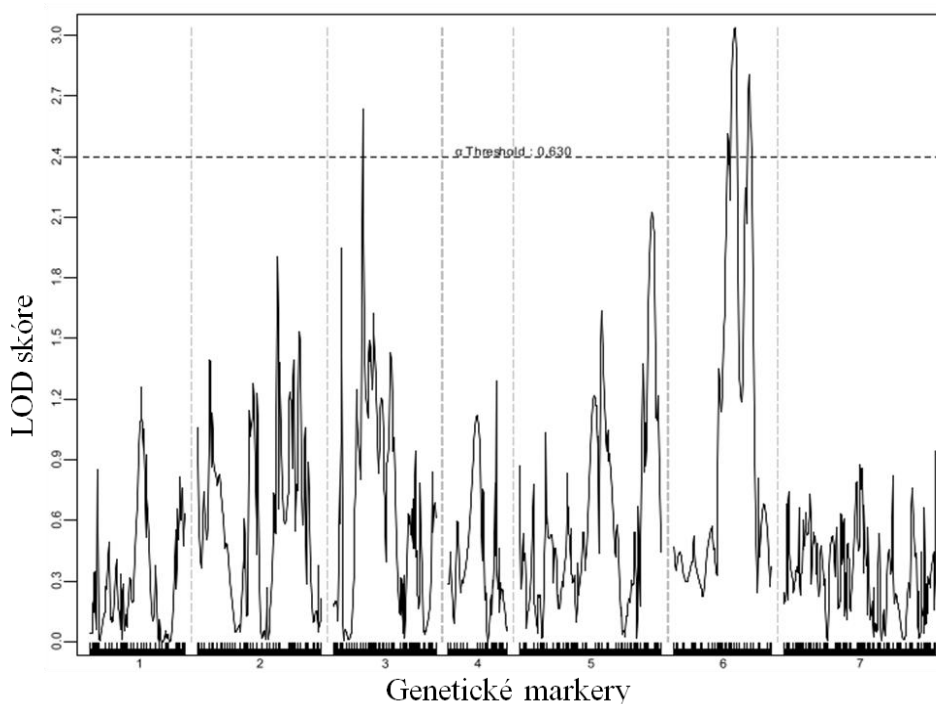
F) Výška rostliny – sezóna 2012b



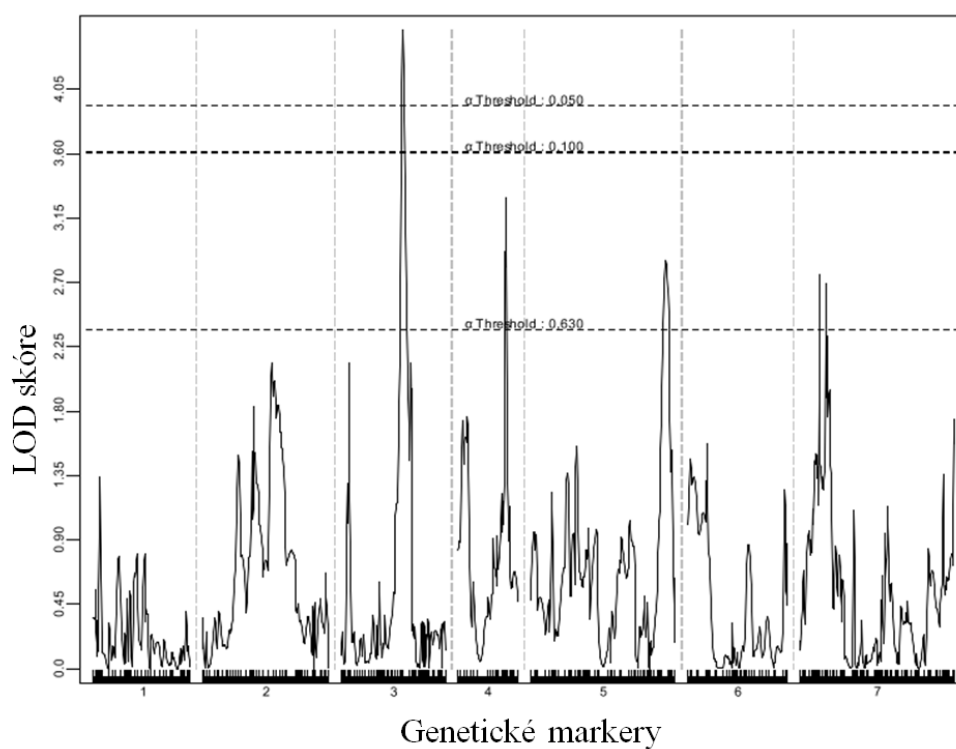
Obr. 21: QTL mapování znaku „chlupatost listů (QHI)“ v sezóně 2009, 2010, 2011 a 2012

Od sezóny 2011 je viditelné výrazné zvýšení důvěryhodnosti výsledků. Na chromozómu 3A^m dosahuje pík LOD 15. Na chromozómu 5A^m se objevují dva píky v odlišných pozicích. Lokus pro chlupatost listů lze na základě těchto dat zamapovat i na chromozóm 7A^m.

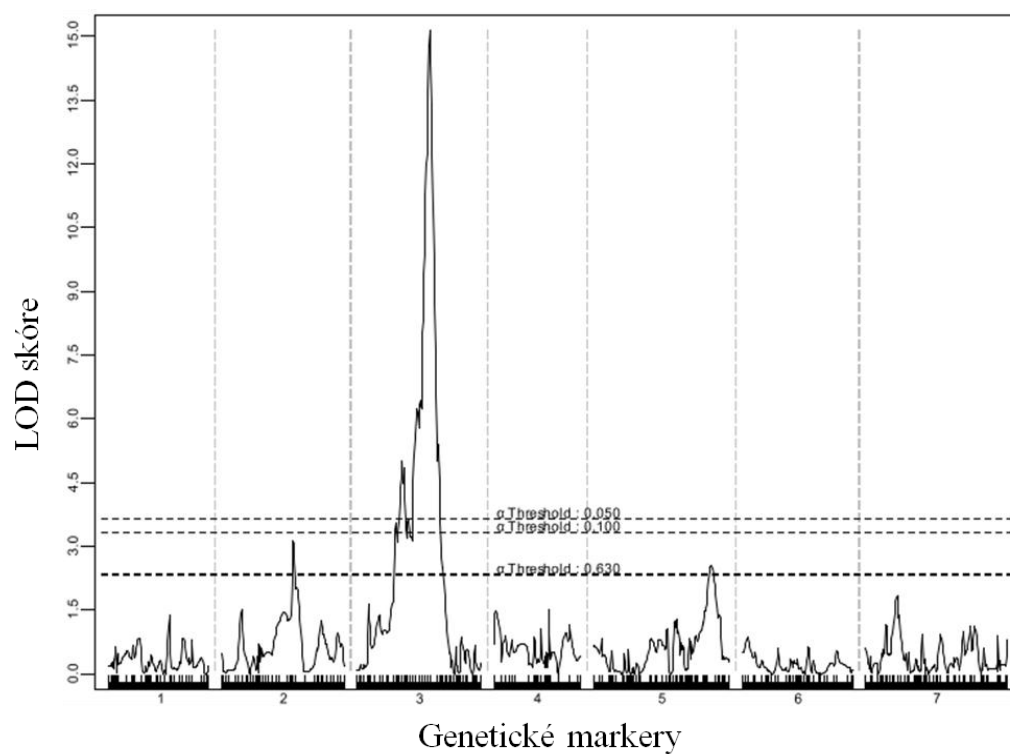
A) Chlupatost listů – sezóna 2009



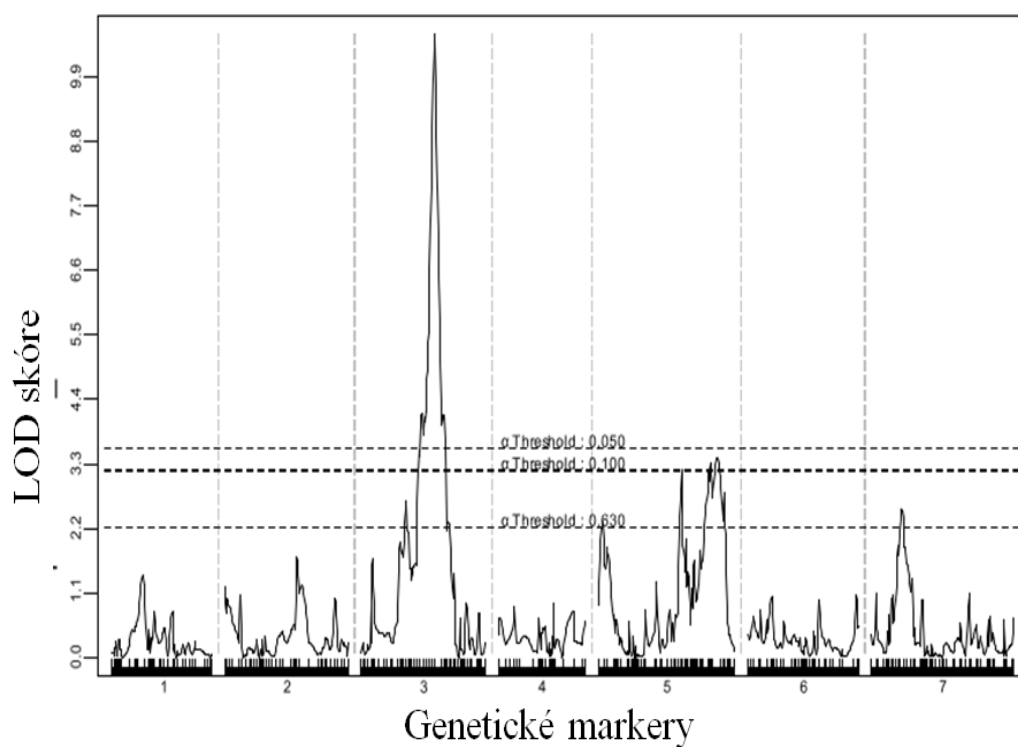
B) Chlupatost listů – sezóna 2010



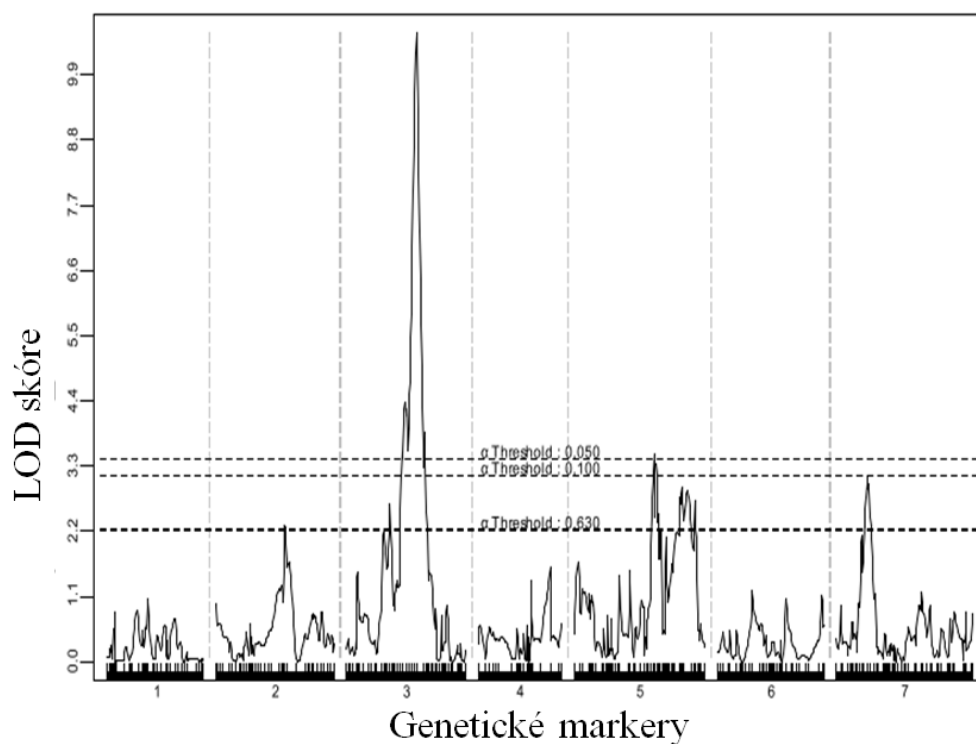
C) Chlupatost listů – sezóna 2011



D) Chlupatost listů – sezóna 2012a



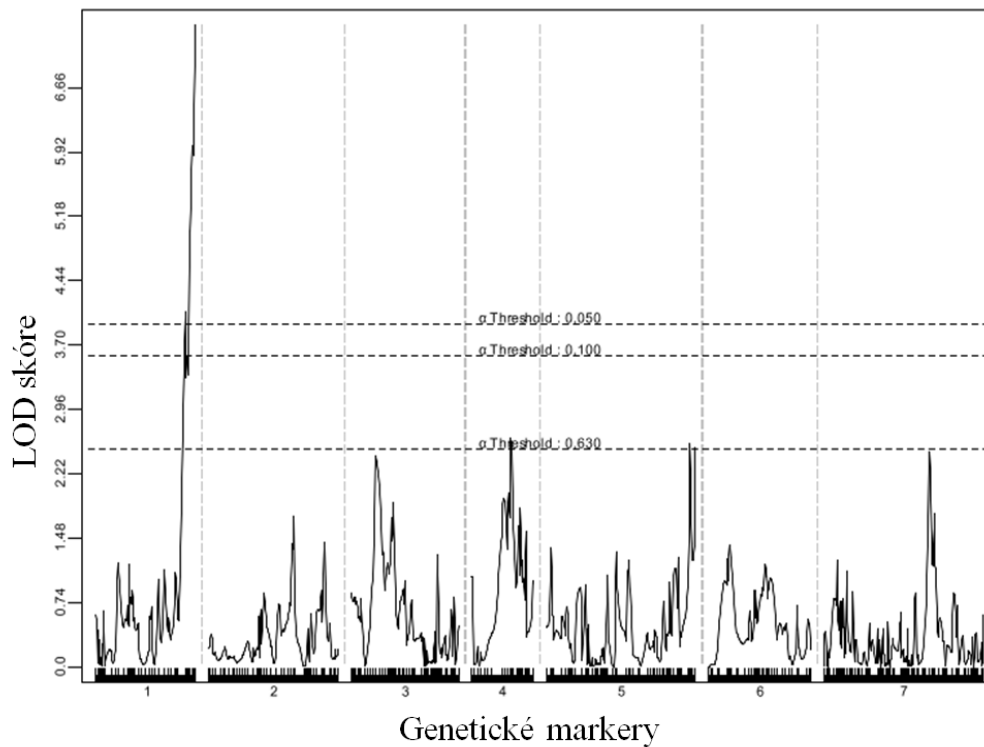
E) Chlupatost listů – sezóna 2012b



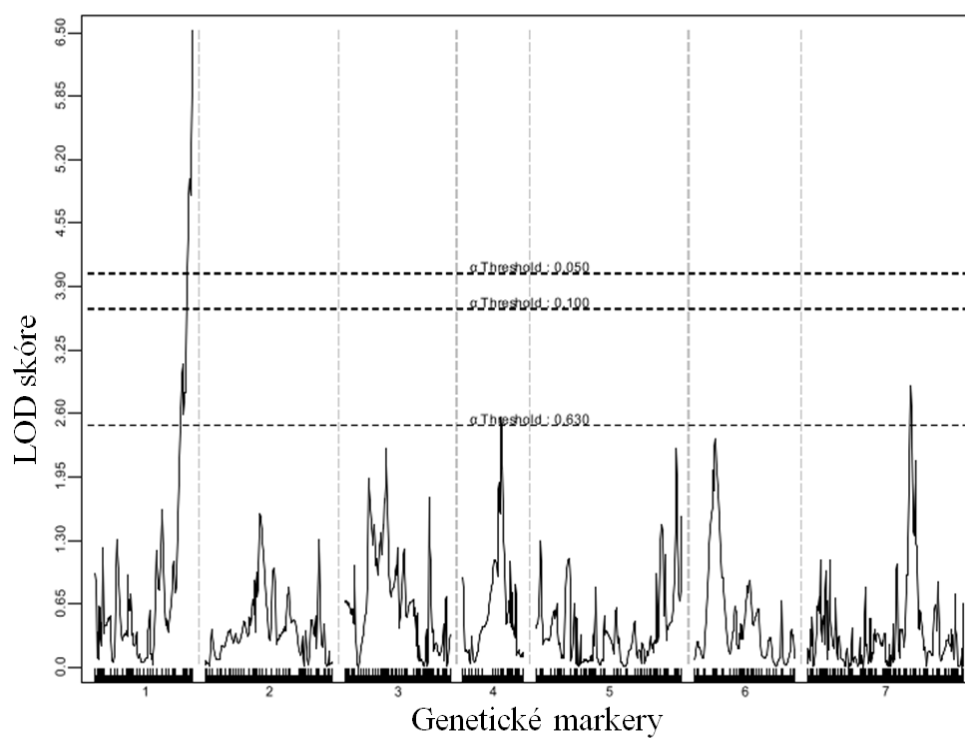
Obr. 22: QTL mapování znaku „doba metání (QEet)“ v sezóně 2010, 2011 a 2012

S nejvyšší hladinou významnosti se lokus pro dobu metání vyskytuje na chromozómu 1A^m. Konkrétně na dvou místech tohoto chromozómu. U zbylých chromozómů nepřekročily píky LOD 3, vyjma chromozómu 7A^m v sezóně 2012a.

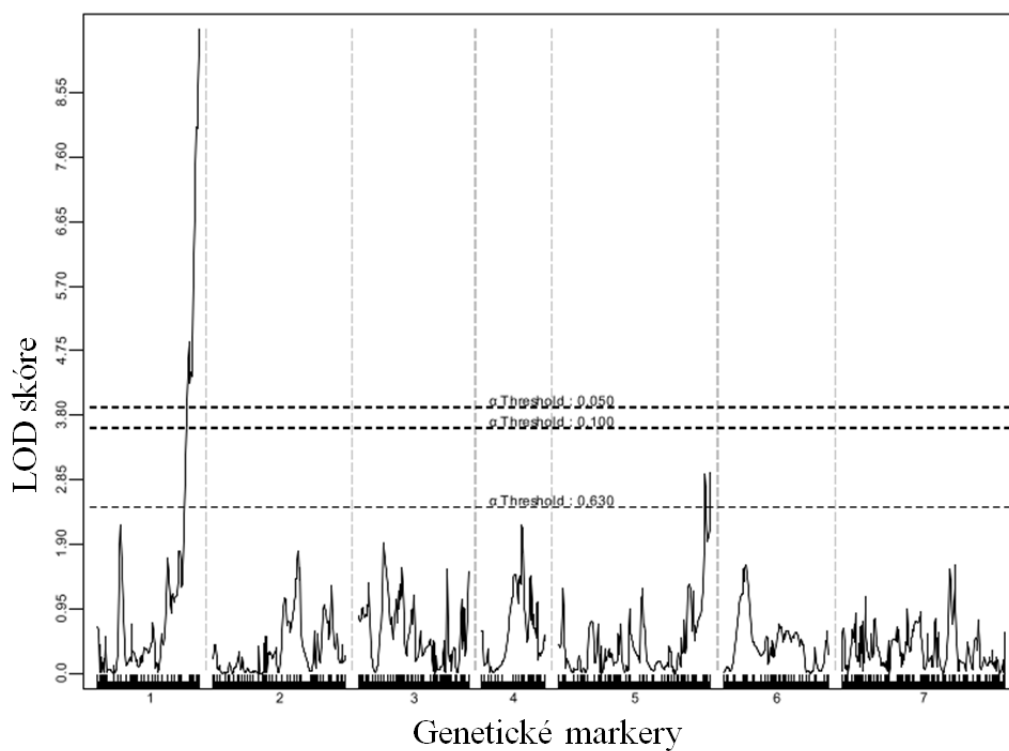
A) Doba metání – sezóna 2010



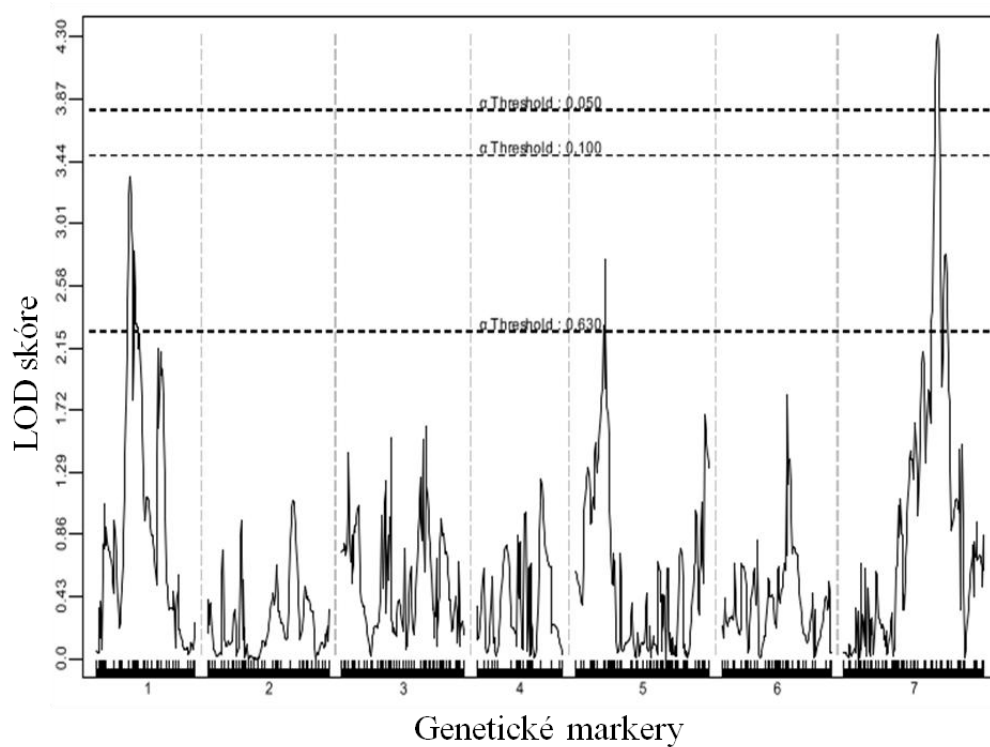
B) Doba metání – sezóna 2011a



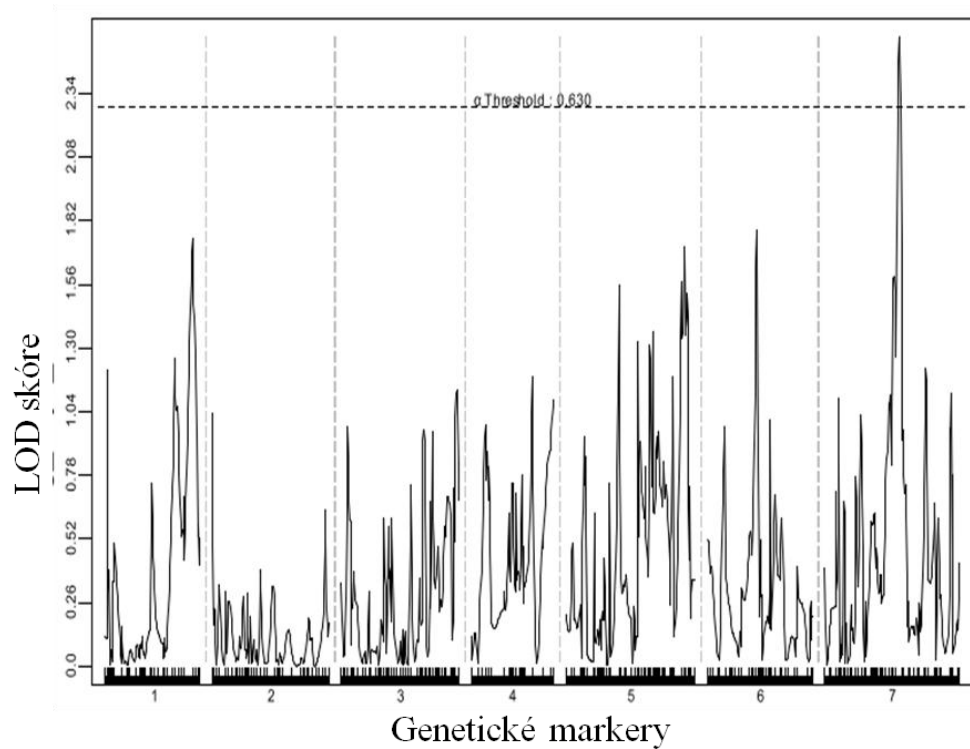
C) Doba metání – sezóna 2011b



D) Doba metání – sezóna 2012a



E) Doba metání – sezóna 2012b

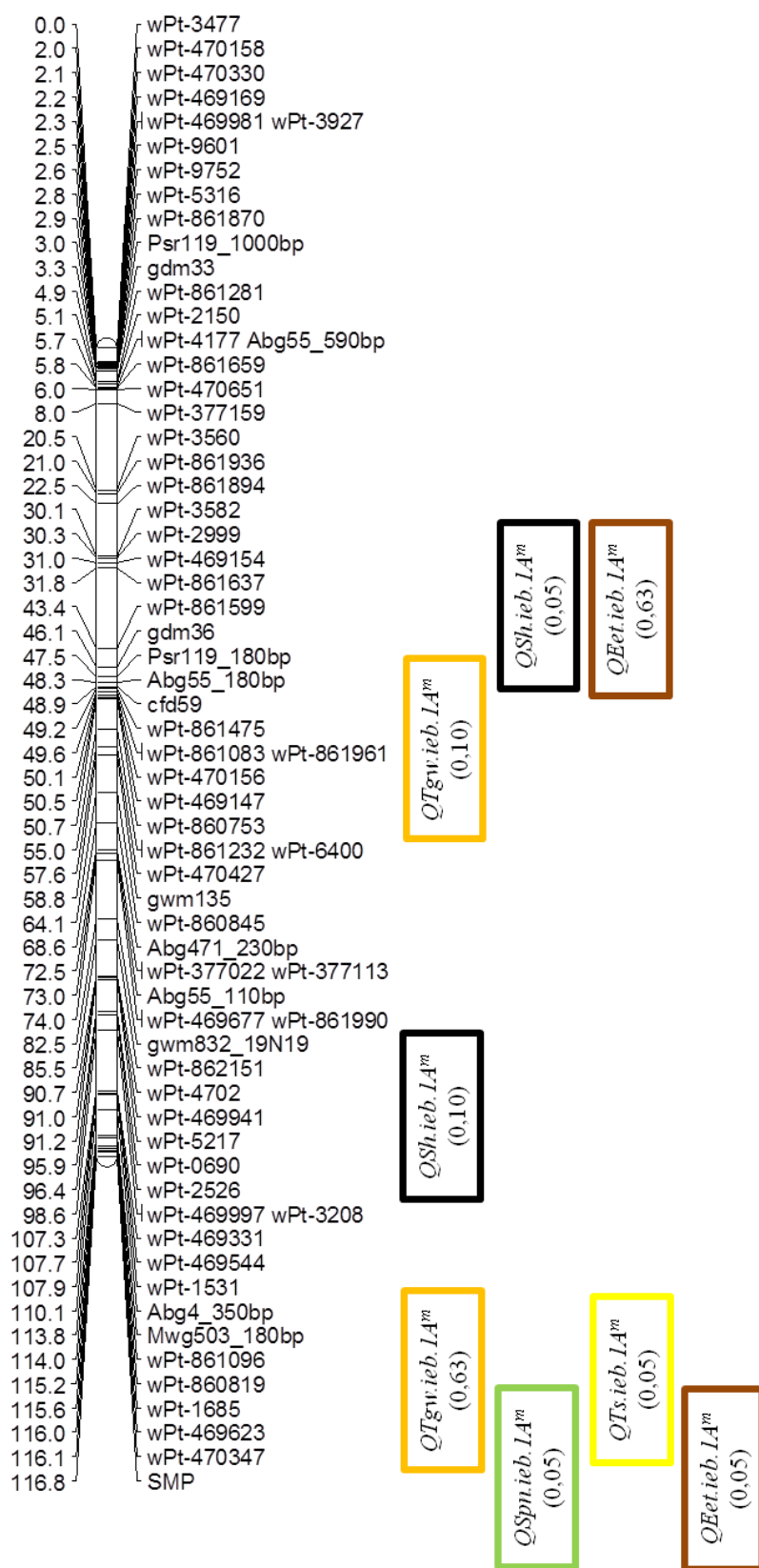


5.3 Vazebná mapa

Stávající vazebná mapa *Triticum monococcum* L., sestavená z markerů testovaných v rámci diplomové práce Klocové (2010) a Gallové (2011) a bakalářské práce Vanžurové (2011), byla rozšířena o 14 nových SSR markerů (Obr. 23). Na chromozóm 1A^m byly zamapovány čtyři SSR markery, na chromozóm 2A^m, 3A^m a 5A^m tři markery a na chromozóm 6A^m jeden marker (Tab. I). Celkem mapa obsahuje 480 markerů, z toho 363 DArT, 51 STS, 47 SSR, 3 IRAP, 13 markerů odvozených z BAC koncových sekvencí a 3 geny pšenice (*Vrn 1*, *Vrn 2*, *Vrn 3*). Celková délka mapy je 863 cM. Nejdelším chromozómem (165 cM), s největším počtem zamapovaných markerů (103), je chromozóm 7A^m. Nejméně markerů (33) je zamapováno na chromozómu 4A^m, který je s délkou 47 cM nejkratším chromozómem. Zatím ne všechny chromozómy jsou orientovány a mají určenou polohu centromery.

Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL

Chromozóm 1A^m

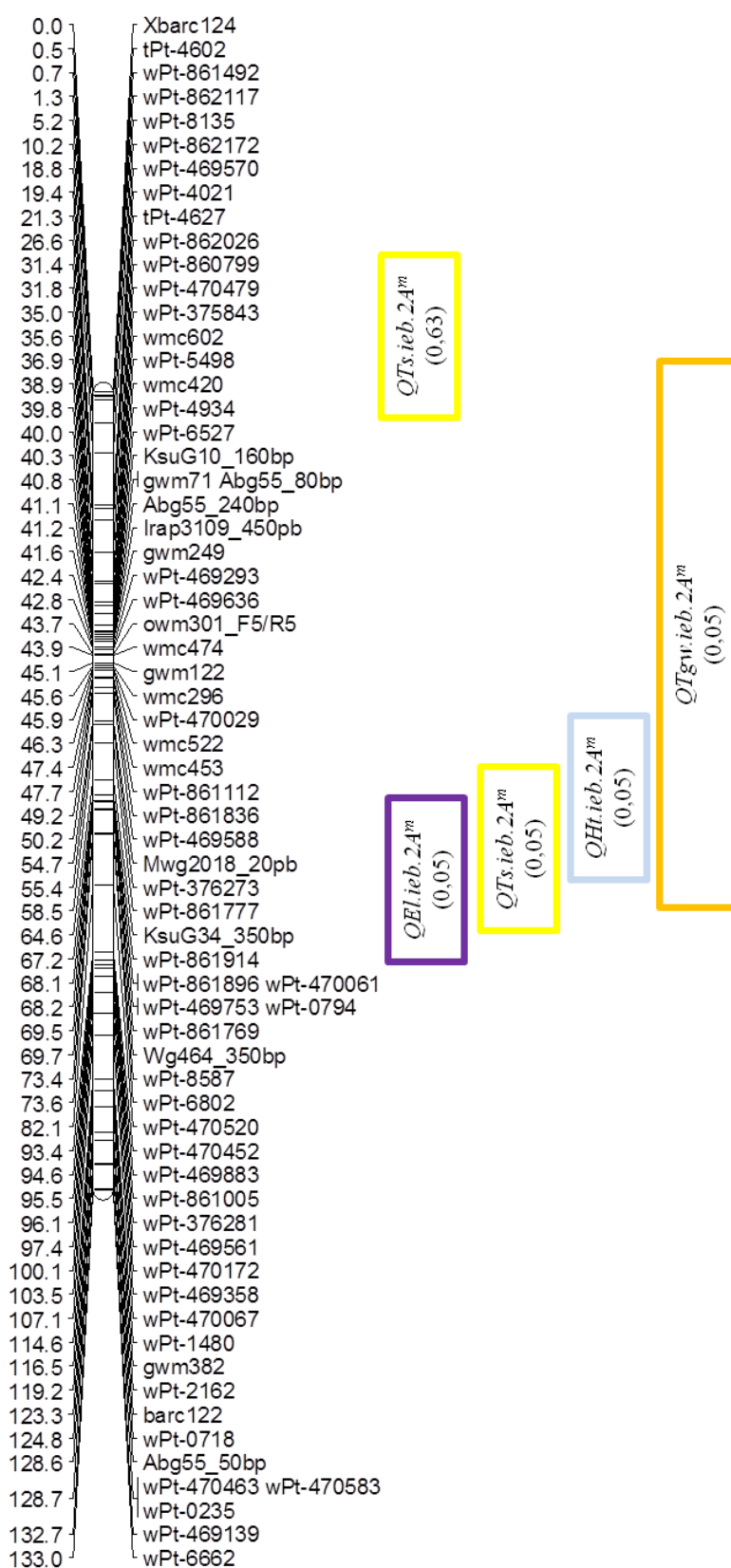


Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. je tvořena sedmi chromozómy, o celkové délce 863 cM, se 480 zamapovanými markery a 35 QTL. Na levé straně mapy jsou uvedeny vzdálenosti markerů v cM. Na pravé straně jsou jednotlivé markery: **DArT markery** = rPt, tPt, wPt; **IRAP markery** = Irap; **STS markery** = Abg, Idk, Ksu, Mwg, Owm, Psr, RPG, SMP; **SSR markery** = Bcd, cfa, cfd, gdm, gwm, wmc; **markery odvozené z BAC koncových sekvencí** = Barc; **geny pšenice** = Ap, Ft3, Ucw. Obdélníčky, po pravé straně chromozómů, představují lokusy pro následující kvantitativní znaky (číslo v závorce je P hodnota pro dané QTL):

- obsah proteinů v zrnech QGpc
- váha zrn QTgw
- počet klásků na klas QSpn
- délka klasu QEI
- rozpadavost klasu QSh
- rozkladitost trsu QTs
- výška rostliny QHt
- chlupatost listů QHI
- doba metání QEet

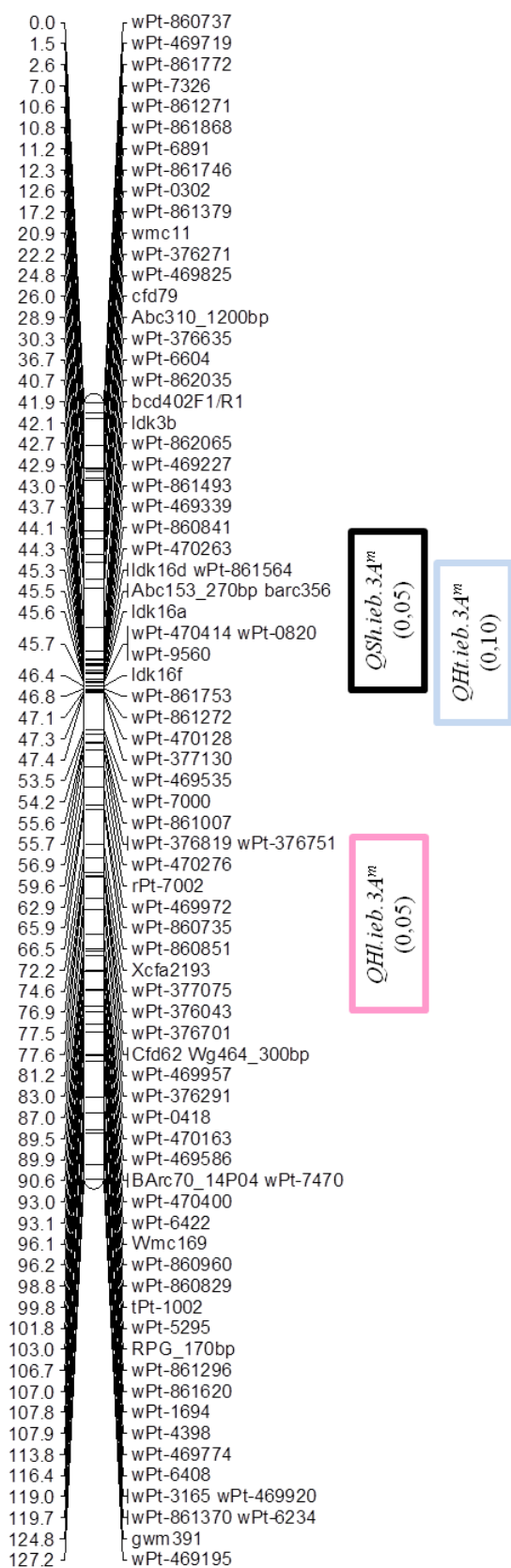
Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 2A^m



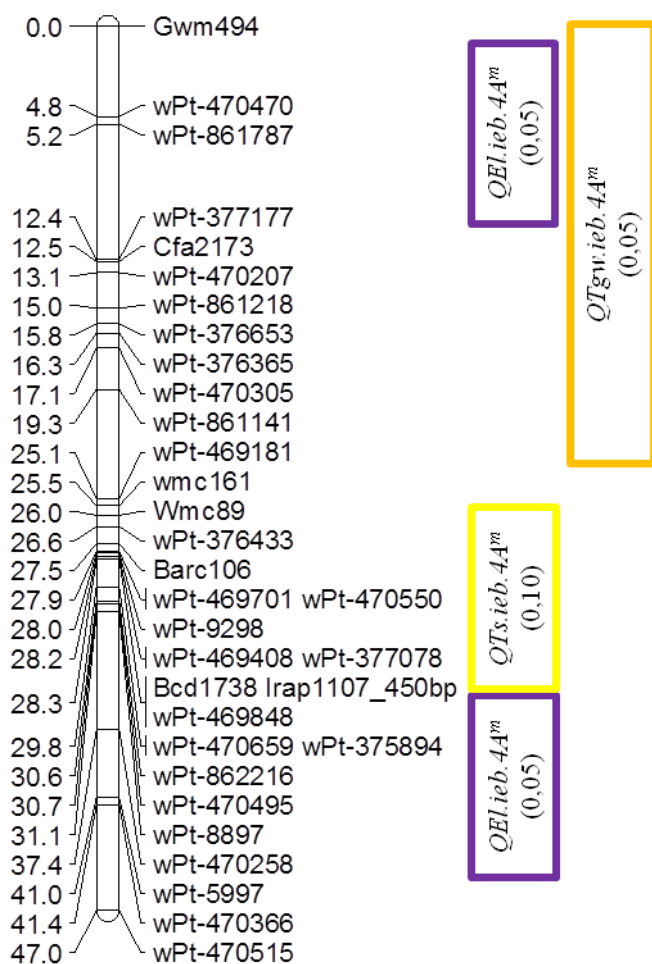
Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 3A^m



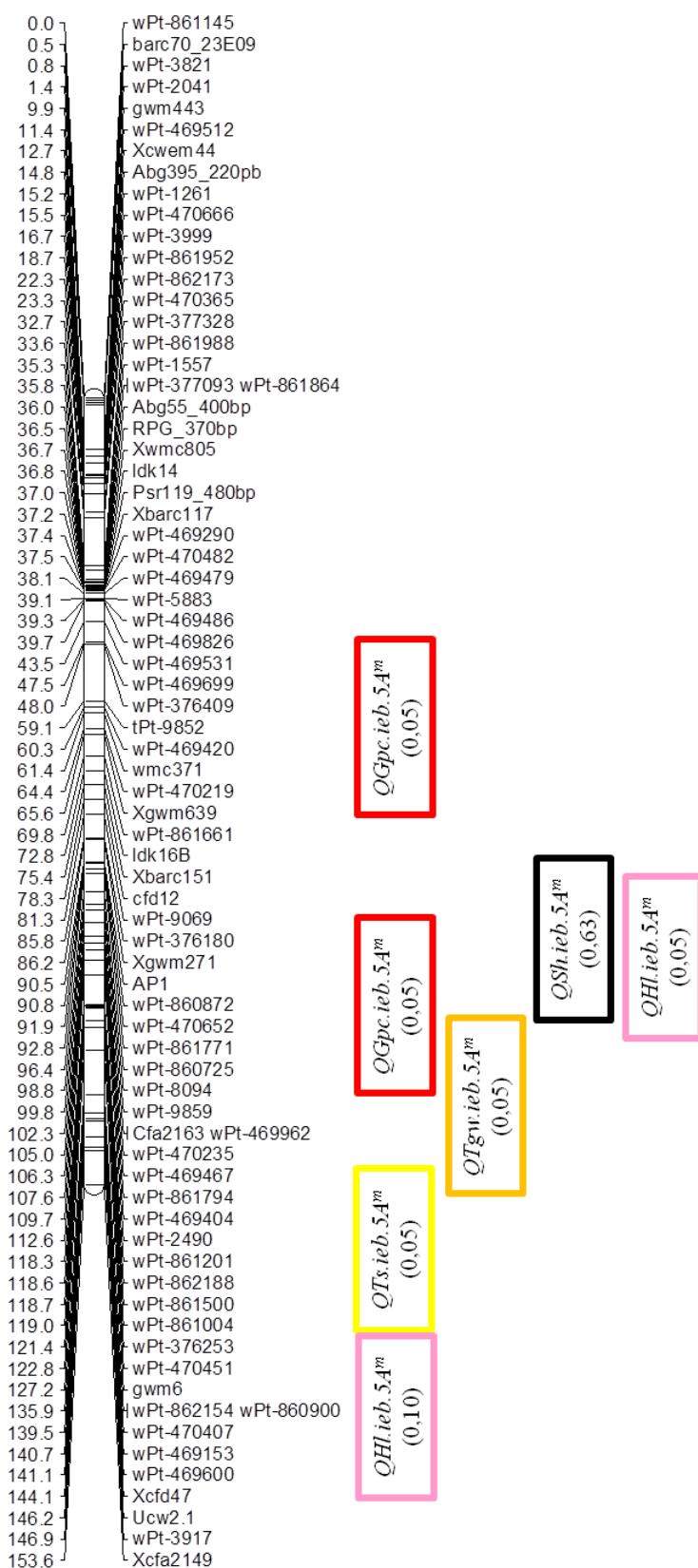
Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 4A^m



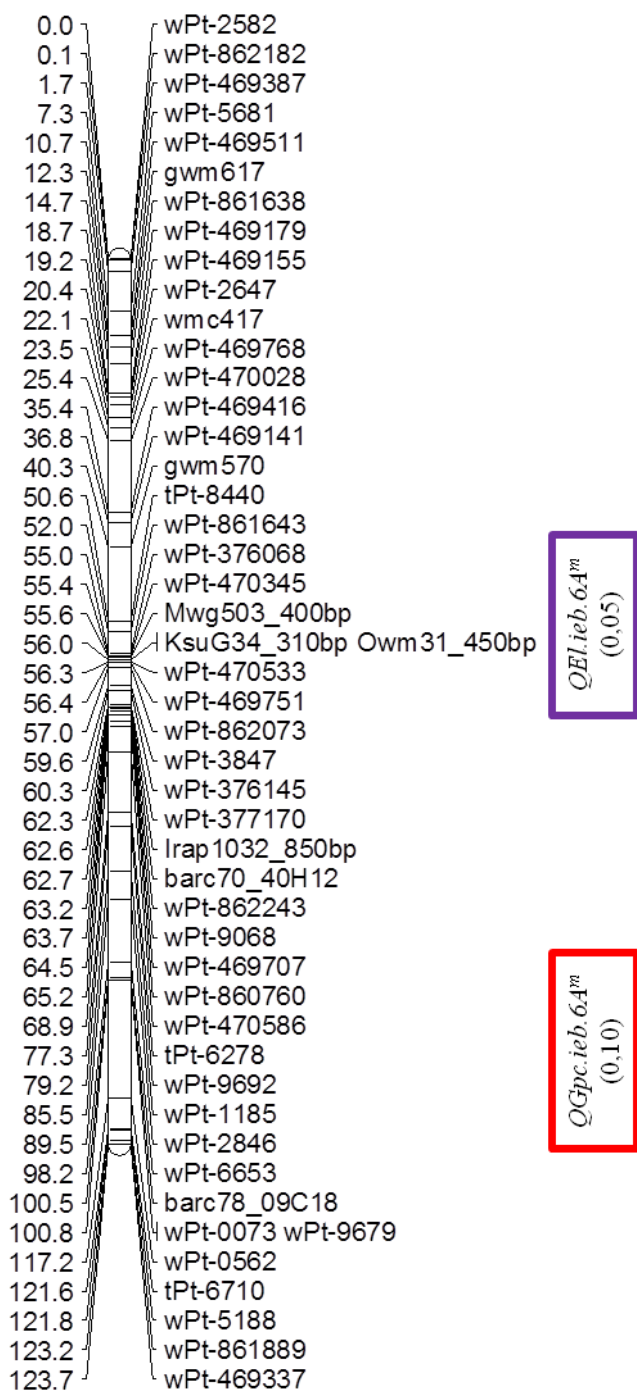
Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 5A^m



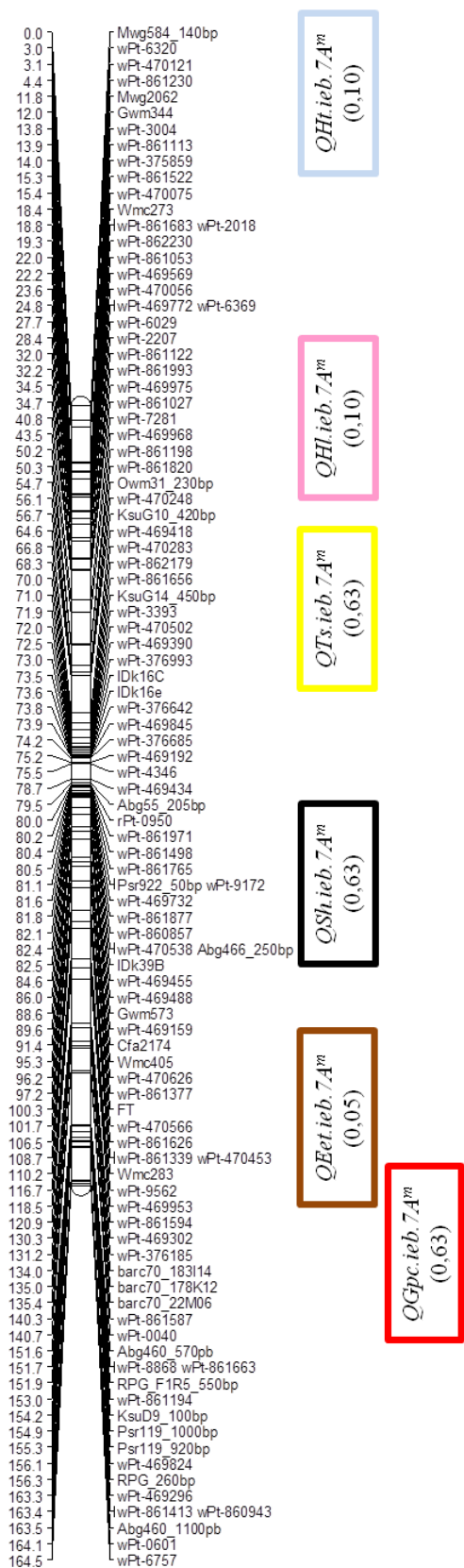
Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 6A^m



Obr. 23: Vazebná mapa *Triticum monococcum* L. s vyznačenými QTL (pokračování)

Chromozóm 7A^m



6 Diskuze

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je z hlediska výživy jednou z nejdůležitějších plodin světa. Kvůli její neustále rostoucí spotřebě a omezenému množství osevních ploch je nutné pěstovat vyšlechtěné kultivary, které jsou odolnější a mají vyšší výnos. Intenzivním šlechtěním došlo k omezení diverzity genového fondu pšenice (Feuillet a kol., 2007). Důležitým zdrojem genetické variability, využitelné pro obohacení genomu hexaploidní pšenice, je *Triticum monococcum* L. Předkládaná práce se zabývá studiem agronomicky významných kvantitativních znaků u *Triticum monococcum* L.

Na 86 liniích RIL mapovací populace, odvozené z křížení *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* DV92 s *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* G3116, bylo po dobu čtyř let (2009 až 2012) studováno jedenáct agronomicky významných znaků (obsah proteinů v zrnech, váha zrn, počet klásků na klas, počet obilek na klásek, délka klasu, rozpadavost klasu, počet odnoží, rozkladitost trsu (tvar rostliny), výška rostliny, ochlupení listů a doba metání). Ne všechny znaky byly každý rok skórovány. Celkem bylo na sedmi chromozómech *Triticum monococcum* L. lokalizováno 35 lokusů pro devět kvantitativních znaků. Nepodařilo se zamapovat lokus ovlivňující odnožování a počet obilek na klásek.

Komponenty výnosu a další agronomicky významné znaky byly mapovány v řadě studií. Mapy však nejsou pokaždé konstruovány za použití stejných markerů. Aby bylo možné porovnávat výsledky zamapování QTL v rámci různých studií, byly vzdálenosti lokusů uváděny v procentech od začátků chromozómů. V mapě, vytvořené v rámci této diplomové práce, nejsou všechny chromozómy dosud orientovány. Z toho důvodu jsou v některých případech uváděny alternativní vzdálenosti, které by platily v případě, že by byl chromozóm otočen o 180°.

Lokus ovlivňující **obsah proteinů v zrnech** (QGpc) byl zamapován v oblasti 38 % a 59 % na chromozómu 5A^m a v oblasti 62 % na chromozómu 6A^m. Pozice těchto tří lokusů byla ve všech letech stejná. Na chromozómu 7A^m byly detekovány dva lokusy pro GPC, a to v oblasti 43 % (LOD < 3, nebyl zamapován; 2009) a 79 % (2009 až 2011). V případě obrácení chromozómu by se jednalo o oblast 57 % a 21 %. V přibližně stejné oblasti (18 %) byl minoritní QGps zamapován na 7AS chromozómu hexaploidní pšenice v práci Börner a kol. (2002). Při mapování tetraploidní pšenice detekoval Blanco a kol. (2002) lokus pro

obsah proteinů v zrnech na chromozómu 5AL, 6AS a 7AS (nebyla uvedena přesná pozice) a Tsilo a kol. (2010) na chromozómu 5A, což souhlasí s výsledky této práce.

Důležitý komponent výnosu, **váha zrn** (QTgw), byl na základě údajů z let 2010 až 2012 shodně detekován v oblasti 71 % chromozómu 5A^m. Cuthbert a kol. (2008) při mapování genomu *Triticum aestivum* L. lokalizovali majoritní QTgw též na chromozómu 5A, ale v oblasti 98 %. Blíže našim výsledkům byl Börner a kol. (2002), který tento majoritní lokus zamapoval na 5A chromozómu hexaploidní pšenice v oblasti 81 %. Odchylna v umístění lokusu může být způsobena chybou v některé mapě nebo odlišnými přírodními podmínkami během růstu mapovací populace. S vysokou statistickou významností ($P = 0,05$), během všech sezón, byl nalezen QTgw na chromozómu 2A^m. Poloha lokusu byla stanovena pouze orientačně na rozmezí 28 % až 44 %. Hori a kol. (2007) též našli lokus pro tento znak na chromozómu 2A^m, konkrétně v oblasti 42 %. Tohoto poznatku lze využít při přesnější lokalizaci QTgw v naší mapě. Další QTL byly zamapovány na chromozómu 1A^m v oblasti 43 % a 98 %, a to na základě analýzy dat ze tří, respektive dvou sezón. Majoritní QTgw byl detekován na chromozómu 4A^m (sezóna 2012), v rozmezí 0 % až 53 % délky chromozómu. K obdobnému výsledku dospěl Cuthbert a kol. (2008) během mapování hexaploidní pšenice. V oblasti 56 % délky chromozómu 4B zamapovali majoritní QTgw. Při mapování pšenice seté byl lokus pro tento znak lokalizován na všech chromozómech subgenomu A kromě chromozómu 1A (2A – Huang a kol., 2004; 3A – Börner a kol., 2002; 4A – Peng a kol., 2003; 5A – Börner a kol., 2002; Cuthbert a kol., 2008; 6A - Börner a kol., 2002; 7A - Cuthbert a kol., 2008).

Kvantitativní lokus pro **počet klásků na klas** (QSpn) byl na základě údajů z roku 2010 zamapován na konci chromozómu 1A^m. Ze statisticky významných dat získaných během roku 2009 byla pozice lokusu jiná. Posun v umístění QSpn může být zapříčiněn odlišnými přírodními podmínkami působícími na mapovací populaci rostoucí během těchto dvou sezón, nebo chybou při fenotypování. Bullrich a kol. (2002) zamapovali na stejné mapovací populaci lokus pro počet klásků na klas na konci chromozómu 1A^m, což potvrzuje údaje z roku 2010. QSpn byl díky výsledkům z jedné, případně dvou sezón detekován na chromozómu 2A^m, 6A^m a 7A^m. Přesná pozice lokusů však nebyla stanovena. Hori a kol. (2007) mapovali QSpn na chromozómu 3A^m a 4A^m (57 %). Araki a kol. (1999) detekovali na mapovací populaci hexaploidní pšenice zmíněný lokus v oblasti centromery chromozómu 4AS.

Dalším zamapovaným lokusem na chromozómu 2A^m (41 %) je lokus pro **délku klasu** (QE1). Poloha tohoto QTL byla potvrzena daty získanými během tří sezón. Navíc Börner a kol. (2002) detekovali tento lokus na stejné pozici (42 %) chromozómu 2BL. Další dva QE1 byly nalezeny na chromozómu 4A^m, v oblasti 11 % (sezóna 2012) a 64 % (2009 až 2012). Hori a kol. (2007) zamapovali QE1 též na chromozómu 4A^m, v relativně totožné oblasti 55 %. U hexaploidní pšenice (Börner a kol., 2002) byla délka klasu rovněž zamapována na chromozómu 4AL, ale až v oblasti 44 % až 47 %. Nestejné umístění může být zapříčiněno chybou při fenotypizaci nebo silným vlivem prostředí. Börner a kol. (2002) detekoval na chromozómu 4A ještě další dva majoritní lokusy pro tento znak, a to v oblasti 6 % a 17 %. Jedná se přibližně o stejnou oblast (11 %), zamapovanou na základě dat ze sezóny 2012. Na základě výsledků QTL analýzy dat z let 2009 a 2011 byl QE1 zamapován na chromozómu 6A^m v oblasti 45 %. V přibližně stejné oblasti (48 %) byl QE1 lokalizován při mapování hexaploidní pšenice (Börner a kol., 2002). Během sezóny 2012 byl na chromozómu 6A^m detekován další lokus pro délku klasu, a to v oblasti 10 %. Jedná se o minoritní lokus, jehož pozice nebyla potvrzena ve zbylých sezónách. Z tohoto důvodu nebyl zanesen do mapy. Avšak Börner a kol. (2002) též našli v odpovídající oblasti (7 %) chromozómu 6DS minoritní lokus pro tento znak. Tyto výsledky naznačují, že by se mohlo jednat o homologní geny. Hori a kol. (2007) zamapovali QE1 i na konci chromozómu 3A^m. V případě sezón 2009, 2010, 2011 byla pozice tohoto QTL na chromozómu 3A^m pokaždé jiná.

Jeden z hlavních domestikčních znaků, **rozpadavost klasu** (QSh), byl zamapován v oblasti 37 % chromozómu 1A^m, což bylo potvrzeno daty z let 2009 až 2011, dále v oblasti 78 % téhož chromozómu (2012), v místě 35 % délky chromozómu 3A^m (2009 až 2011), v 54 % délky chromozómu 5A^m (2011, 2012) a přesně v polovině chromozómu 7A^m (2009 až 2011). U hexaploidní pšenice (Marza a kol., 2006) byl QSh zamapován na chromozómech 4B, 5A, 6A, 6B, 7A a 7DL. Pozice na chromozómu 5A (52 %) se shoduje s pozicí stanovenou v rámci této práce (54 %). Pozice QSh na chromozómu 7DL (47 % délky chromozómu) je téměř totožná s daty z let 2009, 2010 a 2011 (50 %). Li a Gill (2006) zamapovali na 3AS chromozómu *Triticum timopheevii* gen *Br1* (pro rozpadavost klasu), který by mohl být na stejném místě chromozómu 3AS jako QSh v oblasti 35 % chromozómu 3A^m. Tento znak nebyl dále testován (Börner a kol., 2002; Cuthbert a kol., 2008; Hori a kol., 2007; Sourdille a kol., 2000), proto nelze umístění QSh na chromozómu 1A^m porovnat s výsledky dalších studií.

Lokus pro **rozkladitost trsu** (QTs) byl díky QTL analýze údajů získaných v letech 2009 až 2012 zamapován na chromozómu 1A^m a v oblasti 39 % na chromozómu 2A^m. Lokalizace QTs v oblasti 27 % na chromozómu 2A^m byla potvrzena daty z let 2009 až 2011. Lokus pro rozkladitost trsu byl během sezóny 2012 detekován na chromozómu 5A^m a 7A^m, v sezóně 2011 na chromozómu 4A^m. Výsledky nelze srovnat s dalšími studiemi, protože nebyly nalezeny žádné, které by se zabývaly mapováním QTs.

QTL pro **výšku rostliny** (QHt) byl na základě signifikantních dat z let 2009 až 2012 zamapován na chromozómu 2A^m, a to v oblasti 35 % až 41 %. Na hexaploidní pšenici byly QHt nalezeny jen na chromozómu 2B (42 %), ve shodné oblasti jako na 2A^m, a na chromozómu 2D (27 %). Neměnná pozice QHt na chromozómu 3A^m (36 %) byla pozorována v letech 2009, 2010 a 2011. Huang a kol. (2004) na mapovací populaci *Triticum aestivum* L. zamapovali na začátku krátkého ramene chromozómu 3A lokus pro výšku rostliny, který by mohl odpovídat výše zmíněnému QTL na chromozómu 3A^m. Dále byl v této práci na konci chromozómu 7A detekován QHt, jehož poloha by odpovídala výsledkům QTL analýz z let 2009 až 2012 (2 %, po otočení chromozómu 98 %). Börner a kol. (2002) během mapování hexaploidní pšenice detekovali QHt i na dalších chromozómech: 1B, 3B, 3D, 4D, 5D, 6A a 6B. Zamapování lokusu na homeologních či ostatních chromozómech lze vysvětlit rozsáhlými duplikacemi a přestavbami, ke kterým během evoluce pšenice docházelo.

Na základě výsledků QTL analýz z let 2010 až 2012 byl lokus pro **chlupatost listů** (QHl) shodně lokalizována uprostřed chromozómu 3A^m (50 %). QHl byl na tomto chromozómu, oproti níže zmíněným, zamapován s nejvyšší statistickou významností (LOD skóre 15, P = 0,05). Hlavní podíl na tom mělo zavedení nové, rychlejší a přesnější metodiky pro hodnocení tohoto znaku. Avšak při další studii fenotypu na *Triticum monococcum* L. (Hori a kol., 2007) byl QHl zamapován jen na chromozómu 5A^m (95 %). V rámci této diplomové práce byl též na chromozómu 5A^m lokalizován lokus pro chlupatost listů, a to v oblasti 56 % a 88 %. Pozice ani jednoho z těchto dvou QTL se neshodovala s výsledky Hori a kol. (2007). Z dat sesbíraných během sezóny 2012 byl QHl zamapován v oblasti 25 % na chromozómu 7A^m. Při QTL analýze hexaploidní pšenice byl tento lokus zamapován na chromozómu 7B (Dobrovolskaya a kol., 2007; Taketa a kol., 2002). To by mohlo být výsledkem přestaveb uvnitř pšeničného genomu, ke kterým během evoluce docházelo. Lokus pro chlupatost listů se proto může nacházet jak na genomu A, tak i B a D. Dalším důvodem značných neshod při mapování tohoto znaku může být jeho obtížné vyhodnocování a odlišné metodiky jeho hodnocení.

Posledním zamapovaným znakem je **doba metání** (QEet). Dva lokusy byly detekovány na chromozómu 1A^m, v oblasti 37 % (2012) a 100 % (sezóna 2010, 2011). Na základě údajů z roku 2012 byl QEet lokalizován na chromozómu 5A^m (21 %), jako minoritní lokus, který nebyl zanesen do mapy a pak na chromozómu 7A^m v oblasti 61 % (po otočení chromozómu 39 %). Bennett a kol. (2012) zamapovali na populaci hexaploidní pšenice QEet s malým efektem na chromozómu 1A (4 %), 5A (61 %) a dva QEet na chromozómu 7A (39 % až 53 %), Kato a kol. (1999) též na chromozómu 5A (51 % až 64 %) a Griffiths a kol. (2009) na chromozómu 5A a 7A. Pouze v případě QEet na chromozómu 7A^m byla potvrzena jeho pozice výsledky ze studií na hexaploidní pšenici (Bennett a kol., 2012). Pro přesnou lokalizaci QTL ovlivňujících nástup metání je třeba provést další mapování tohoto lokusu.

Kvantitativní lokusy řídící **odnožování** rostliny a **počet obilek vyvíjejících se v klásku** se v rámci této diplomové práce nepodařilo zamapovat. V následujících sezónách bude třeba provést další fenotypizace.

QTL identifikované v této práci byly zaneseny do mapy *Triticum monococcum* L. vzniklé křížením *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* DV92 s *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* G3116. Celková délka mapy je 863 cM a skládá se ze 480 markerů (363 DArT, 51 STS, 47 SSR, 3 IRAP, 13 markerů odvozených z BAC koncových sekvencí a 3 geny pšenice: *Vrn 1*, *Vrn 2*, *Vrn 3*), kterými byla mapa postupně zahušťována, a to v rámci prací Klocové (2010), Gallové (2011) a Vanžurové (2011). V této diplomové práci bylo zamapováno dalších 14 SSR markerů. Oproti původní mapě Klocové (2010) je současná mapa o 34 cM delší, ale obsahuje o 148 markerů méně. Průměrná vzdálenost mezi sousedními markery tak vzrostla z 1,3 cM na 1,8 cM. Důvodem je vyřazení redundantních markerů a nastavení přísnějších podmínek pro konstrukci mapy (JoinMap 4, Van Ooijen, 2006).

Dubcovsky a kol. (1996) byla ze stejného křížení vytvořena vazebná mapa pro 72 linií F₂ mapovací populace. Mapa o délce 1 067 cM obsahuje 328 RFLP markerů. Průměrná vzdálenost mezi markery je 3,3 cM. Mapa odvozená z RIL mapovací populace vzniklé křížením *Triticum boeoticum* s *Triticum monococcum* je sestavená ze 179 markerů a dosahuje celkové délky 1 262 cM (Singh a kol., 2007). V tomto případě jsou od sebe sousední markery vzdáleny průměrně 7,1 cM. Mapa Hori a kol. (2007), vycházející ze stejného křížení (RIL), má délku 1 038 cM a vzdálenost mezi markery se průměrně pohybuje kolem 3,1 cM.

V porovnání s posledními třemi výše uvedenými mapami je současná mapa *Triticum monococcum* L., vytvořená v této práci, nejkratší a má nejmenší průměrné vzdálenosti mezi sousedními markery. Příčinou variabilní délky map může být odlišný typ mapovací populace (RIL, F₂ atd.) a rozdílná frekvence rekombinací. Zde použité DArT markery jsou dominantní, stejně tak většina přidaných STS markerů. Z tohoto důvodu může být čtvrtina až polovina možných rekombinací utajena. Po zohlednění této skutečnosti by tato mapa dosahovala délky 1 079 až 1 295 cM, což by korespondovalo s délkami výše zmíněných map (Dubcovsky a kol., 1996; Hori a kol., 2007; Singh a kol., 2007).

V této práci je nejdelším chromozómem chromozóm 7A^m (165 cM) se 103 zamapovanými markery. V práci Dubcovsky a kol. (1996) byl geneticky nejdelší chromozóm 5A^m, stejně tomu bylo v případě mapy Hori a kol. (2007). Naopak nejkratší byl chromozóm 4A^m, což se shodovalo i s prací Singh a kol. (2007) a zde publikovanou mapou (47 cM, 33 markerů). Malý počet zamapovaných markerů na chromozómu 4A^m by mohl být zapříčiněn nízkou sekvenční variabilitou chromozómu, nebo naopak nízkou frekvencí rekombinací. Pro stanovení přesné příčiny je třeba dalších studií. V případě hexaploidní pšenice patří chromozóm 4A k fyzicky i geneticky nejdelším chromozómům (Doležel a kol., 2009), a to díky dvěma velkým translokacím. K první translokaci došlo na úrovni diploidního předka vnesením dlouhého ramene chromozómu 5A. Druhá translokace proběhla během evoluce tetraploidního předka, kdy byla část chromozómu 7B začleněna do dlouhého ramene chromozómu 4A (Devos a kol., 1995).

7 Závěr

Hlavními cíly diplomové práce bylo dopěstování RIL mapovací populace F_{11} a F_{12} generace odvozené z křížení kulturní formy jednozrnky *Triticum monococcum* ssp. *monococcum* DV92 s planou formou jednozrnky *T. monococcum* ssp. *aegilopoides* G3116, QTL mapování agronomicky významných znaků na této populaci a zahuštění stávající vazebné mapy.

Stávající vazebná mapa *Triticum monococcum* L. byla obohacena o dalších 14 SSR markerů a celková délka mapy dosáhla 863 cM se 480 zamapovanými markery.

Výsledky QTL analýzy jedenácti agronomicky významných znaků (obsah proteinů v zrnech, váha zrn, počet klásků na klas, počet obilek na klásek, délka klasu, rozpadavost klasu, počet odnoží, rozkladitost trsu (tvar rostliny), výška rostliny, ochlupení listů a doba metání), sledovaných na F_{11} a F_{12} generaci RIL mapovací populace, byly porovnány s daty získanými v předchozích sezónách. Celkem bylo na sedmi chromozómech lokalizováno 35 lokusů pro devět kvantitativních znaků. To je o 21 více než v práci Klocové (2009) a o 20 více než v práci Gallové (2011). Důvodem je vyšší počet opakování a zvýšení přesnosti mapování QTL pro chlupatost listů díky optimalizaci metodiky pro hodnocení tohoto znaku.

8 Literatura

ACRECHE, M.M., SLAFER, G.A. (2006): Grain weight response to increases in number of grains in wheat in a Mediterranean area. *Field Crops Research* 98: 52 – 59.

AHMED, T.A., TSUJIMOTO, H., SASAKUMA, T. (2000): QTLs associated with plant height and related characters in hexaploid wheat. *Breeding Science* 50: 267 – 273.

ARAKI, E., MIURA, H., SAWADA, S. (1999): Identification of genetic loci affecting amylose content and agronomic traits on chromosome 4A of wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 977 - 984.

AYOUB, M., SYMONS, S.J., EDNEY, M.J., MATHER, D.E (2002): QTLs affecting kernel size and shape in a two-rowed by six-rowed barley cross. *Theor Appl Genet* 105: 237 – 247.

BAI, X., LUO, L., YAN, W., KOVI, M.R., ZHAN, W., XING, Y. (2010): Genetic dissection of rice grain shape using a recombinant inbred line population derived from two contrasting parents and fine mapping a pleiotropic quantitative trait locus *qGL7*. *BMC Genetics* 11: 16; doi:10.1186/1471-2148-11-12.

BAREŠ, I., SEHNALOVÁ, J., VLASÁK, M., VLACH, M., KRYŠTOF, Z., AMLER, P., MALÝ, J., BERÁNEK, V. (1985): Klasifikátor genus *Triticum* L. str. 11, VÚRV Praha – Ruzyně.

BEDNAREK, J., BOULAFLOUS, A., GIROUSSE, CH., RAVEL, C., TASSY, C., BARRET, P., BOUZIDI, M.F., MOUZEYAR, S. (2012): Down-regulation of the *TaGW2* gene by RNA interference results in decreased grain size and weight in wheat. *Journal of Experimental Botany* 63: 5945 – 5955.

BEHARAV, A., PINTHUS, M.J., CAHANER, A. (1994): Genotypic variation in the responsiveness to GA3 within tall (*rhtl*) and semidwarf (*Rhtl*) spring wheat. *Plant Growth Regulation* 15: 43 46.

BENNETT, D., IZANLOO, A., EDWARDS, J., KUCHEL, H., CHALMERS, K., TESTER, M., REYNOLDS, M., SCHNURBUSCH, T., LANGRIDGE, P. (2012): Identification of novel quantitative trait loci for days to ear emergence and flag leaf glaucousness in a bread wheat (*Triticum aestivum* L.) population adapted to southern Australian conditions. *Theor Appl Genet* 124: 697 – 711.

- BENNETT, M.D., SMITH, J.B. (1991): Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Proceedings of the Royal Society (Biological Sciences)* 334: 309 – 345.
- BIETZ, J.A., WALL, J.S. (1972): Wheat gluten subunits: Molecular weights determined by sodium sulfatepolyacrylamide gel electrophoresis. *Cereal Chem.* 49: 416 - 430.
- BLANCO, A., PASQUALONE, A., TROCCOLI, A., FONZO, N., SIMEONE, R. (2002): Detection of grain protein content QTLs across environments in tetraploid wheats. *Plant Molecular Biology* 48: 615 – 623.
- BLANCO, A., SIMEONE, R., GADALETA, A. (2006): Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theor Appl Genet* 112: 1195 – 1204.
- BÖRNER, A., SCHUMANN, E., FÜRSTE, A., CÖSTER, H., LEITHOLD, B., RÖDER, M.S., WEBER, W.E. (2002): Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 105: 921 - 936.
- BRESEGHELLO, F., SORRELLS, M.E. (2007): QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations. *Field Crops Research* 10: 172 – 179.
- BROMAN, K.W., WU, H., SEN, S., CHURCHILL, G.A. (2003): R/Qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19: 889 - 890.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 585 - 593.
- BUSHUK, W. (1998): Wheat breeding for end-product use. *Euphytica* 100: 137 - 145.
- CALDERINI, D.F., REYNOLDS, M.P. (2000): Changes in grain weight as a consequence of de-graining treatments at pre- and post-anthesis in synthetic hexaploid lines of wheat (*Triticum durum* × *T. tauschii*) *Aust. J. Plant Phys.* 27: 183 – 191.
- CUI, F., DING, A., LI, J., ZHAO, CH., LI, X., FENG, D., WANG, X., WANG, L., GAO, J., WANG, H. (2011): Wheat kernel dimensions: how do they contribute to kernel weight at an individual QTL level? *J. Genet.* 90: 409 – 425.

- CUTHBERT, J.L., SOMERS, D.J., BRULÉ-BABEL, A.L., BROWN, P.D., CROW, G.H. (2008): Molecular mapping of quantitative trait loci for yield and yield components in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 117: 595 - 608.
- DEVOS, K.M., DUBCOVSKY, J., DVOŘÁK, J., CHINOY, C.N., GALE, M.D. (1995): Structural evolution of wheat chromodomains 4A, 5A, and 7B and its impact on recombination. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 282 - 288.
- DEVOS, K.M., GALE, M.D. (1997): Comparative genetics in the grasses. *Plant Mol. Biol.* 35: 3 - 15.
- DHOLAKIA, B.B., AMMIRAJU, J.S.S., SINGH, H., LAGU, M.D., RÖDER, M.S., RAO, V.S., DHALIWAL, H.S., RANJEKAR, P.K., GUPTA, V.S. (2003): Molecular marker analysis of kernel size and shape in bread wheat. *Plant Breeding* 122: 392 - 395.
- DIVASHUK, M.G., VASILYEV, A.V., BESPALOVA, L.A., KARLOV, G.I. (2012): Identity of the *Rht-11* and *Rht-B1e* reduced plant height genes. *Russian Journal of Genetics* 48: 761 - 763.
- DOBROVOLSKAYA, O., PSHENICHNIKOVA, T.A., ARBUZOVA, V.S., LOHWASSER, U., RÖDER, M.S., BÖRNER, A. (2007): Molecular mapping of genes determining hairy leaf character in common wheat with respect to other species of the Triticeae. *Euphytica* 155: 285 - 293.
- DOLEŽEL, J., ŠIMKOVÁ, H., KUBALÁKOVÁ, M., ŠAFÁŘ, J., SUCHÁNKOVÁ, P., ČÍHALÍKOVÁ, J., BARTOŠ, J., VALÁRIK, M. (2009): Chromosome Genomics in the Triticeae. In: Feuillet, C., Muehlbauer, G. J. (eds.): *Genetics and Genomics of the Triticeae*, pp. 285 - 316, Springer, New York.
- DRAEGER, R., GOSMAN, A.N., STEED, A.A., CHANDLER, A.E., THOMSETT, A.M., SRINIVASACHARY, A., SCHONDELMAIER, A.J., BUERSTMAYR, A.H., LEMMENS, A.M., SCHMOLKE, A.M., MESTERHAZY, A.A., NICHOLSON, A.P. (2007): Identification of QTLs for resistance to Fusarium head blight, DON accumulation and associated traits in the winter wheat variety Arina. *Theor Appl Genet* 115: 617 - 625.
- DUBCOVSKY, J., LIJAVETZKY, D., APPENDINO, L., TRANQUILLI, G. (1998): Comparative RFLP mapping of *Triticum monococcum* genes controlling vernalization requirement. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 968 - 975.

- DUBCOVSKY, J., LUO, M., ZHONG, G., BRANSTEITTER, R., DESAI, A., KILIAN, A., KLEINHOF, A., DVOŘÁK, J. (1996): Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics* 143: 983 – 999.
- DVOŘÁK, J., MCGUIRE, P.E., CASSIDY, B. (1988): Apparent sources of the A genomes of wheats inferred from polymorphism in abundance and restriction fragment length of repeated nucleotide sequences. *Genome* 30: 680 – 689.
- DVOŘÁK, J., TERLIZZI, P., ZHANG, H.B., RESTA, P. (1993): The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. *Genome* 36: 21 – 31.
- DVOŘÁK, J., ZHANG, H.B. (1990): Variation in repeated nucleotide sequences sheds light on the phylogeny of the wheat B and G genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 9640 – 9644.
- FAN, CH., XING, Y., MAO, H., LU, T., HAN, B., XU, C., LI, X., ZHANG, Q. (2006): *GS3*, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet* 112: 1164 – 1171.
- FARIS, J.D., FELLERS, J.P., BROOKS, S.A., GILL, B.S. (2003): A bacterial artificial chromosome contig spanning the major domestication locus *Q* in wheat and identification of a candidate gene. *Genetics* 164: 311 – 321.
- FARIS, J.D., GILL, B.S. (2002): Genomic targeting and high-resolution mapping of the domestication gene *Q* in wheat. *Genome* 45: 706 – 718.
- FEUILLET, C., LANGRIDGE, P., WAUGH, R. (2007): Cereal breeding takes a walk on the wild side. *Trends in Genetics* 24: 24 – 31.
- GALE, M.D., MARSHALL, G.A. (1972): Insensitivity to gibberellin in dwarf wheats. *Ann. Bot.* 37: 729 – 35.
- GALLOVÁ, L. (2011): Mapovanie agronomicky dôležitých génov u pšenice. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc.
- GEGAS, V.C., NAZARI, A., GRIFFITHS, S., SIMMONDS, J., FISH, L., ORFORD, S., SAYERS, L., DOONAN, J.H., SNAPEA, J.W. (2010): A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *The Plant Cell* 22: 1046 – 1056.

- GONZÁLEZ, F.G., SLAFER, G.A., MIRALLES, D.J. (2005): Floret development and survival in wheat plants exposed to contrasting photoperiod and radiation environments during stem elongation. *Funct. Plant Biol.* 32: 189 – 197.
- GOSMAN, N., BAYLES, R., JENNINGS, P., KIRBY, J., NICHOLSON, P. (2007): Evaluation and characterization of resistance to fusarium head blight caused by *Fusarium culmorum* in UK winter wheat cultivars. *Plant Pathology* 56: 264 – 276.
- GRIFFITHS, S., SIMMONDS, J., LEVERINGTON, M., WANG, Y., FISH, L., SAYERS, L., ALIBERT, L., ORFORD, S., WINGEN, L., HERRY, L., FAURE, S., LAURIE, D., BILHAM, L., SNAPE, J. (2009): Meta-QTL analysis of the genetic control of ear emergence in elite European winter wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 119: 383 - 395.
- GROOS, C., ROBERT, N., BERVAS, E., CHARMET, G. (2003): Genetic analysis of grain protein-content, grain yield and thousand-kernel weight in bread wheat. *Theor Appl Genet* 106: 1032 - 1040.
- GRUPTA, P.K., RUSTGI, S., KUMAR, N. (2006): Genetic and molecular basis of grain size and grain number and its relevance to grain productivity in higher plants. *Genome* 49: 565 - 571.
- HAJJAR, R., HODGKIN, T. (2007): The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156: 1 – 13.
- HARBERD, N.P., FREELING, M. (1989): Genetics of dominant gibberellin-insensitive dwarfism in maize. *Genetics* 121: 827 – 838.
- HEDDEN, P. (2003): The genes of the Green Revolution. *Trends in Genetics* 19: 5 - 9.
- HEUN, M., SCHÄFER-PREGL, R., KLAWAN, D., CASTAGNA, R., ACCERBI, M., BORGHI, B., SLAMINI, F. (1997): Site of Einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. *Science* 278: 1312 – 1314.
- HORI, K., TAKEHARA, S., NANKAKU, N., SATO, K., SASAKUMA, T., TAKEDA, K. (2007): Barley EST markers enhance map saturation and QTL mapping in diploid wheat. *Breeding Science* 57: 39 – 45.

- HU, Z., HE, H., ZHANG, S., SUN, F., XIN, X., WANG, W., QIAN, X., YANG, J., LUO, X. (2012): A kelch motif-containing serine/threonine protein phosphatase determines the large grain QTL trait in rice. *Journal of Integrative Plant Biology* 54: 979 – 990.
- HUANG, X.Q., COSTER, H., GANAL, M.W., RÖDER, M.S. (2003): Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 106: 1379 – 1389.
- HUANG, X.Q., KEMPF, H., GANAL, M.W., RÖDER, M.S. (2004): Advanced backcross QTL analysis in progenies derived from a cross between a German elite winter wheat variety and a synthetic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109: 993 - 943.
- IWATA, H., EBANA, K., UGA, Y., HAYASHI, T., JANNINK, J.L. (2010): Genome-wide association study of grain shape variation among *Oryza sativa* L. germplasms based on elliptic Fourier analysis. *Mol Breeding* 25: 203 – 215.
- JANTASURIYARAT, C., VALES, M.I., WATSON, C.J.W., RIERA-LIZARAZU, O. (2004): Identification and mapping of genetic loci affecting the free-threshing habit and spike compactness in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 108: 261 – 273.
- JOHNSON, V.A., DREIER, A.F., GRABOUSKI, P.H. (1973): Yield and protein Responses to nitrogen fertilizer of two winter wheat varieties differing in inherent protein content of their grains, *Agron. J.* 65: 259 – 263.
- KATO, K., MIURA, H., SAWADA, S. (1999): QTL mapping of genes controlling ear emergence time and plant height on chromosome 5A of wheat. *Theor Appl Genet* 98: 472 – 477.
- KATO, K., MIURA, H., SAWADA, S. (2000): Mapping QTLs controlling grain yield and its components on chromosome 5A of wheat. *Theor Appl Genet* 101: 1114 – 1121.
- KELLER, B., FEUILLET, C. (2000): Colinearity and gene density in grass genomes. *Trends in Plant Science* 5: 246 – 251.
- KERBER, R.E., DYCK, P.L. (1969): Inheritance in hexaploid wheat of leaf rust resistance and other characters derived from *Aegilops squarrosa*. *Can J Genet Cytol* 11: 639 – 647.

KERBER, R.E., ROWLAND, G.G. (1974): Origin of the threshing character in hexaploid wheat. *Can J Genet Cytol* 16: 145 – 154.

KLOCOVÁ, B. (2010): Mapování genů kvantitativních znaků u diploidní pšenice *T. monococcum* L. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc.

KONVALINA, P., CAPOUCHOVÁ, I., STEHNO, Z., MOUDRÝ, J., MOUDRÝ, J. JR. (2010): Weaknesses of the emmer wheat genetic resources and possibilities of its improvement for low-input and organic farming systems. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 8: 376 – 382.

KONVALINA, P., STEHNO, Z., CAPOUCHOVÁ, I., MOUDRÝ, J., ŠRÁMEK, J., MOUDRÝ, J. JR. (2009): Differences in the morphological characteristics of the land races of the soft and emmer wheat in relation to the modern varieties. *Lucrări Științifice, Seria Agronomie*, 52: v tisku

KOSAMBI, D.D. (1943): The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugenics*. 12: 172 - 175.

KOSMOLAK, F.G., DEXTER, J.E., MATSUO, R.R., LEISLE, D., MARCHYLO, B.A. (1980): A relationship between durum wheat quality and gliadin electrophoreograms. *Can. J. Plant Sci.* 60: 427 – 432.

KOSOVÁ, K., PRÁŠIL, I. T., VÍTÁMVÁS, P. (2008): The relationship between vernalization- and photoperiodically-regulated genes and the development of frost tolerance in wheat and barley. *Biologia Plantarum* 52: 601 – 615.

KRUPNOV, V.A., KRUPNOVA, O.V. (2012): Genetic architecture of grain protein content in wheat. *Russian Journal of Genetics* 48: 129 – 138.

KUCHEL, H., HOLLAMBY, G., LANGRIDGE, 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., KUMAR, N., KUMAR, A., GUPTA, R.K., BALYAN, H.S., GUPTA, P.K. (2005): Gene networks in hexaploid wheat: interacting quantitative trait loci for grain protein content. *Funct Integr Genomics* 5: 254 – 259.

- KUMAR, N., KULWAL, P.L., GAUR, A., TYAGI, A.K., KHURANA, J.P., KHURANA, P., BALYAN, H.S., GUPTA, P.K. (2006): QTL analysis for grain weight in common wheat. *Euphytica* 151: 135 - 144.
- KURAPARTHY, V., SOOD, S., DHALIWAL, H.S., CHHUNEJA, P., GILL, B.S. (2007): Identification and mapping of a tiller inhibition gene (*tin3*) in wheat. *Theor Appl Genet* 114: 285 – 294.
- KUSHNIR, U., HALLORAN, E.M. (1982): Attempts to incorporate high grain content from tetraploid wheat into hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 10: 61 – 64.
- LAW, C.N., WORLAND, A.J., GIORGI, B. (1976): The genetic control of ear-emergence time by chromosomes 5A and 5D of wheat. *Heredity* 36: 49 – 58.
- LI, W., GILL, B.S. (2006): Multiple genetic pathways for seed shattering in the grasses. *Integrated Genomics* 6: 300 – 309.
- LI, W.L., NELSON, J.C., CHU, C.Y., SHI, L.H., HUANG, S.H., LIU, D.J. (2002): Chromosomal locations and genetic relationships of tiller and spike characters in wheat. *Euphytica* 125: 357 – 366.
- LI, Y., FAN, CH., XING, Y., JIANG, Y., LUO, L., SUN, L., SHAO, D., XU, CH., LI, X., XIAO, J., HE, Y., ZHANG, Q. (2011): Natural variation in *GS5* plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat Genet* 43: published online 23 October 2011; doi:10.1038/ng.977.
- LI, Z., PENG, T., XIE, Q., HAN, S., TIAN, J. (2010): Mapping of QTL for tiller number at different stages of growth in wheat using double haploid and immortalized F₂ populations. *Journal of Genetics* 89: 409 – 415.
- LOFFLER, C.M., BUSCH, R.H. (1982): Selection for grain protein, grain yield, and nitrogen partitioning efficiency in hard red spring wheat. *Crop Sci* 22: 591 – 595.
- MAO, H., SUNA, S., YAO, J., WANG, CH., YU, S., XU, C., LI, X., ZHANG, Q. (2010): Linking differential domain functions of the *GS3* protein to natural variation of grain size in rice. *PNAS*: published online before print October 25, 2010; doi:10.1073/pnas.1014419107.

- MARZA, F., BAI, G.H., CARVER, B.F., ZHOU, W.C. (2006): Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 × Clark. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 688 – 698.
- MIR, R.R., KUMAR, N., JAISWAL, V., GIRDHARWAL, N., PRASAD, M., BALYAN, H.S., GUPTA, P.K. (2012): Genetic dissection of grain weight in bread wheat through quantitative trait locus interval and association mapping. *Mol Breeding* 29: 963 – 972.
- MITCHELL, R.A.C., MITCHELL, V.J., DRISCOLL, S.P., FRANKLIN, J., LAWLOR, D. (1993): Effects of increased CO₂ concentration and temperature on growth and yield of winter wheat at two levels of nitrogen application. *Plant Cell Environ.* 16: 521 – 529.
- NARUOKA, Y., TALBERT, L.E., LANNING, S.P., BLAKE, N.K., MARTIN, J.M., SHERMAN, J.D. (2011): Identification of quantitative trait loci for productive tiller number and its relationship to agronomic traits in spring wheat. *Theor Appl Genet* 123: 1043 – 1053.
- PAYNE, P.I. (1987): The genetical basis of breadmaking quality in wheat. *Aspects Appl Biol* 15: 79 - 90.
- PAYNE, P.I., NIGHTINGALE, M.A., KRATTIGER, A.F., HOLT, L.M. (1987): The relationship between HMW glutenin subunit composition and the breadmaking quality of British-grown wheat varieties. *J Sci Food Agric* 40: 51 - 65.
- PEARCE, S., SAVILLE, R., VAUGHAN, S.P., CHANDLER, P.M., WILHELM, E.P., SPARKS, C.A., AL-KAFF, N., KOROLEV, A., BOULTON, M.I., PHILLIPS, A.L., HEDDEN, P., NICHOLSON, P., THOMAS, S.G. (2011): Molecular characterization of *Rht-1* dwarfing genes in hexaploid wheat. *Plant Physiology* 157: 1820 – 1831.
- PENG, J., CAROL, P., RICHARDS, D.E., KING, K.E., COWLING, R.J., MURPHY, G.P., HARBERD, N.P. (1997): The *Arabidopsis GAI* gene defines a signaling pathway that negatively regulates gibberellin responses. *Genes & Dev.* 11: 3194 – 3205.
- PENG, J., RICHARDS, D.E., HARTLEY, N.M., MURPHY, G.P., DEVOS, K.M., FLINTHAM, J.E., BEALES, J., FISH, L.J., WORLAND, A.J., PELICA, F., SUDHAKAR, D., CHRISTOU, P., SNAPE, J.W., GALE, M.D., HARBERD, N.P. (1999): „Green revolution“ genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature* 400: 256 - 261.

- PENG, J., RONIN, Y., FAHIMA, T., RÖDER, M.S., LI, Y., NEVO, E., KOROL, A. (2003): Domestication quantitative trait loci in *Triticum dicoccoides*, the progenitor of wheat. PNAS 100: 2489 – 2494.
- PENG, Z.S., YEN, C., YANG, J.L. (1998): Genetic control of oligo-culms character in common wheat. Wheat Inf Serv 86: 19 – 24.
- PINTHUS, M.J., ABRAHAM, M. (1996): Effects of light, temperature, gibberellin (GA3) and their interaction on coleoptile and leaf elongation of tall, semi-dwarf and dwarf wheat. Plant Growth Regulation 18: 239 - 241.
- PSHENICHNIKOVA, T.A., LAPOCHKINA, I.F., SHCHUKINA, L.V. (2007): The inheritance of morphological and biochemical traits introgressed into common wheat (*Triticum aestivum* L.) from *Aegilops speltoides* Tausch. Genetic Resources and Crop Evolution 54: 287 – 293.
- PYSH, L.D., WYSOCKA-DILLER, J.W., CAMILLERI, CH., BOUCHEZ, D., BENFEY, P.N. (1999): The GRAS gene family in Arabidopsis: sequence characterization and basic expression analysis of the *SCARECROW-LIKE* genes. Plant J. 18: 111 – 119.
- RAO, M.V.P. (1977): Mapping of the *Sphaerococcum* gene 'S' on chromosome 3D of wheat. Cereal Res Comm 5: 15 – 17.
- RAWAT, N., SEHGAL, S.K., JOSHI, A., ROTHE, N., WILSON, D.L., MCGRAW, N., VADLANI, P.V., LI, W., GILL, B.S. (2012): A diploid wheat TILLING resource for wheat functional genomics. BMC Plant Biology 12: 205; doi:10.1186/1471-2229-12-205.
- RICHARDS, R.A. (1988): A tiller inhibitor gene in wheat and its effect on plant growth. Aust J Agric Res 39: 749 – 757.
- RICHARDS, R.A. (1991): Crop improvement for temperate Australia – future opportunities. Field Crop Res 26: 141 – 169.
- RILEY, R., CHAPMAN, V., KIMBER, G. (1961): Origin of genetic control of diploid-like behavior of polyploid wheat. J. Hered. 52: 22 – 25.
- RÖDER, M.S., HUANG, X.Q., BÖRNER, A. (2008): Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. Funct Integr Genomics 8: 79 - 86.

- ROY, B.A., STANTON, M.L., EPPLEY, S.M. (1999): Effects of environmental stress on leaf hair density and consequences for selection. *J. Evol. Biol.* 12: 1089 – 1103.
- SCARTH, R., LAW, C.N. (1983): The location of the photoperiod gene, *Ppd2* and an additional genetic factor for ear-emergence time on chromosome 2B of wheat. *Heredity* 51: 607 — 619.
- SHAO, G., WEI, X., CHEN, M., TANG, S., LUO, J., JIAO, G., XIE, L., HU, P. (2012): Allelic variation for a candidate gene for *GS7*, responsible for grain shape in rice. *Theor Appl Genet* 125: 1303 – 1312.
- SHILBOM, E. (1962): Amino-acid Ccmposition of swedish wheat protein. *Acta Agric. Scand.* 12: 148 – 156.
- SCHMOLKE, M., MOHLER, V., HARTL, L., ZELLER, F.J., HSA, S.L.K. (2012): A new powdery mildew resistance allele at the *Pm4* wheat locus transferred from einkorn (*Triticum monococcum*). *Mol Breeding* 29: 449 – 456.
- SCHMÜLLING, T., WERNER, T., RIEFLER, M., KRUPKOVÁ, E., BARTRINA, M.I. (2003): Structure and function of cytokinin oxidase/dehydrogenase genes of maize, rice, *Arabidopsis* and other species. *Journal of Plant Research* 116: 241 – 252.
- SIMONETTI, M.C., BELLOMO, M.P., LAGHETTI, G., PERRINO, P., SIMEONE, R., BLANCO, A. (1999): Quantitative trait loci influencing free-threshing habit in tetraploid wheats. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 267 – 271.
- SIMONOV, A.V., PSHENICHNIKOVA, T.A. (2012): Chromosomal localization of the speltoidy gene, introgressed into bread wheat from *Aegilops speltoides* Tausch., and its interaction with the *Q* gene of *Triticum spelta* L. *Russian Journal of Genetics* 48: 1120 – 1127.
- SIMONS, K.J., FELLERS, J.P., TRICK, H.N., ZHANG, Z., TAI, Y.S., GILL, B.S., FARIS, J.D. (2006): Molecular characterization of the major wheat domestication gene *Q*. *Genetics* 172: 547 – 555.
- SINGH, K., GHAI, M., GARG, M., CHHUNEJA, P., KAUR, P., SCHNURBUSCH, T., KELLER, B., DHALIWAL, H.S. (2007): An integrated molecular linkage map of diploid wheat based on a *Triticum boeoticum* × *T. monococcum* RIL population. *Theor Appl Genet* 115: 301 – 312.

- SLAFER, G.A. (2003): Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Ann. appl. Biol.* 142: 117 – 128.
- SNAPE, J.W., LAW, C.N., PARKER, B.B., WORLAND, A.J. (1985): Genetical analysis of chromosome 5A of wheat and its influence on important agronomic characters. *Theor Appl Genet* 71: 518 – 526.
- SONG, X.J., HUANG, W., SHI, M., ZHU, M.Z., LIN, H.X. (2007): A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nature Genetics* 39: 623 – 630.
- SOURDILLE, P., TIXIER, M.H., CHARMET, G., GAY, G., CADALEN, T., BERNARD, S., BERNARD, M. (2000): Location of genes involved in ear compactness in wheat (*Triticum aestivum*) by means of molecular markers. *Molecular Breeding* 6: 247 – 255.
- SPIELMEYER, W., RICHARDS, R.A. (2004): Comparative mapping of wheat chromosome 1AS which contains the tiller inhibition gene (*tin*) with rice chromosome 5S. *Theor Appl Genet* 109: 1303 – 1310.
- SRINIVASACHARY, GOSMAN, N., STEED, A., HOLLINS, T.W., BAYLES, R., JENNINGS, P., NICHOLSON, P. (2009): Semi-dwarfing *Rht-B1* and *Rht-D1* loci of wheat differ significantly in their influence on resistance to Fusarium head blight. *Theor Appl Genet* 118: 695 – 702.
- STUBER, D.W., JOHNSON, V.A., SCHMIDT, J.W. (1962): Intraplant and interplant variation of grain protein content in the parents and F1 of a cross of *Triticum aestivum* L.. *Crop Sci.* 2: 286 – 289.
- SU, Z., HAO, CH., WANG, L., DONG, Y., ZHANG, X. (2011): Identification and development of a functional marker of *TaGW2* associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 122: 211 – 223.
- SUN, X.Y., WU, K., ZHAO, Y., KONG, F.M., HAN, G.Z. (2009): QTL analysis of kernel shape and weight using recombinant inbred lines in wheat. *Euphytica* 165: 615 – 624.

- ŠRÁMEK, J., ZDRHOVÁ, I., KONVALINA, P., MOUDRÝ, J. JR., MOUDRÝ, J. (2009): Selection of optimum varieties of genus wheat (*Triticum* L.) in organic farming with respect to weed competitiveness. *Lucrări Științifice, Universitatea de Științe Agricole Și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad" Iași, Seria Agronomie* 52: 103 – 115.
- TAKETA, S., CHANG, C.L., ISHII, M., TAKEDA, K. (2002): Chromosome arm location of the gene controlling leaf pubescence of a Chinese local wheat cultivar „Hong-mang-mai“. *Euphytica* 125: 141 – 147.
- TALUKDAR, A., ZHANG, G.Q. (2008): Inheritance of grain shape and molecular tagging of the QTL for reduced grain width (*gw*) in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 68: 103 – 107.
- TSILO, T.J., HARELAND, G.A., SIMSEK, S., CHAO, A., ANDERSON, J.A. (2010): Genome mapping of kernel characteristics in hard red spring wheat breeding lines. *Theor Appl Genet* 121: 717 - 730.
- TYUTEREV, S.A., CHMELEVA, Z.L., MOISA, I.I., DOROFEEV, V.F. (1973): Study of the grain contents of protein and essential amino acids in wheat and its wild relatives. *Tr. Prikl. Bot., Genet. Selektiv.* 52: 222 – 241.
- UAUY, C., DISTELFELD, A., FAHIMA, T., BLECHL, A., DUBCOVSKY, J. (2006): A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. *Science* 314: 1298 – 1301.
- UGARTE, C., CALDERINI, D.F., SLAFER, G.A. (2007): Grain weight and grain number responsiveness to pre-anthesis temperature in wheat, barley and triticale. *Field Crops Research* 100: 240 – 248.
- UNRAÜ, J. (1950): The use of monosomes and nullisomes in cytogenetic studies of common wheat. *Sci Agric* 30: 66 – 89.
- VAN OOIJEN, J. W. (2006) JoinMap ® 4, Software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations. Kyazma B. V., Wageningen, Netherlands.

- VANŽUROVÁ, H. (2011): Zavedení nových typů markerů do mapy *Triticum monococcum* L. pro mapování výnosu a prvků výnosu. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, Olomouc.
- WANG, Z., WU, X., REN, Q., CHANG, X., LI, R., JING, R. (2010): QTL mapping for developmental behavior of plant height in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 174: 447 – 458.
- WENG, J., GU, S., WAN, X., GAO, H., GUO, T., SU, N., LEI, C., ZHANG, X., CHENG, Z., GUO, X., WANG, J., JIANG, L., ZHAI, H., WAN, J. (2008): Isolation and initial characterization of *GW5*, a major QTL associated with rice grain width and weight. *Cell Research* 18: 1199 - 1209.
- WORLAND, A.J. (1996): The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica* 89: 49 – 57.
- WORLAND, A.J., BORNER, A., KORZUN, V., LI, W.M., PETROVIC, S., SAYERS, E.J. (1998): The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheats (Reprinted from *Wheat: Prospects for global improvement*, 1998). *Euphytica* 100: 385 – 394.
- YAN, L., LOUKOIANOV, A., TRANQUILLI, G., BLECHL, A., KHAN, I. A., RAMAKRISHNA, W., SAN MIGUEL, P., BENNETZEN, J. L., ECHNIQUE, V., LIJAVETZKY, D., DUBCOVSKY, J. (2004): The wheat *VRN-2* gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. *Science* 303: 1640 – 1644.
- YAN, L., LOUKOIANOV, A., TRANQUILLI, G., HELGUERA, M., FAHIMA, T., DUBCOVSKY, J. (2003): Positional cloning of wheat vernalization gene *VRN-1*. *PNAS* 100: 6263 – 6268.
- YOUSSEFIAN, S., KIRBY, E.J.M., GALE, M.D. (1992): Pleiotropic effects of the GA-insensitive *Rht* dwarfing genes in wheat: effects on leaf, stem, ear and floret growth. *Field Crops Res* 28: 191 – 210.
- ZHANG, J., WU, J., LIU, W., LU, X., LU, Y., LI, L. (2012a): Genetic mapping of a fertile tiller inhibition gene, *ftin*, in wheat. *Mol Breeding* 31: 441 - 449.
- ZHANG, K., TIAN, J., ZHAO, L., WANG, S. (2008): Mapping QTLs with epistatic effects and QTL × environment interactions for plant height using a doubled haploid population in cultivated wheat. *J. Genet. Genomics* 35: 119 – 127.

ZHANG, L., ZHAO, Y.L., GAO, L.F., ZHAO, G.Y., ZHOU, R.H., ZHANG, B.S., JIA, J.Z. (2012b): *TaCKX6-D1*, the ortholog of rice *OsCKX2*, is associated with grain weight in hexaploid wheat. *New Phytologist* 1 - 11.

ZHANG, Z., BELCRAM, H., GORNICKI, P., CHARLES, M., JUST, J., MAGDELENAT, G., COULOUX, A., SAMAIN, S., GILL, B.S., HUNEAU, C., RASMUSSEN, J.B., FARIS, J.D., CHALHOUB, B. (2011): Duplication and partitioning in evolution and function of homoeologous *Q* loci governing domestication characters in polyploid wheat. *PNAS* 108: published online before print October 31, 2011; doi:10.1073/pnas.1110552108.

ZOHARY, D., HOPF, M. (2000): *Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley* (3rd ed.). Oxford University Press, Oxford.

ZLATSKA, A.V. (2005): Grain protein content in wheat: Genetics of the character and some predictions for its improvement in common wheat. *Russian Journal of Genetics* 41: 823 – 834.

ZLATSKA, A.V., SOZINOV, A.A. (2003): Using genome-addition and genome-substitution forms of hexaploid wheat for investigation of grain protein content. *Proc. 10th Int. Wheat Genet. Symp., Paestum, Italy* 2: 655 – 657.

9 Seznam použitých zkratek

A	adenin
APS	peroxodisulfát amonný
APg	proximální zrna v apikální části klasu
BAC	umělý bakteriální chromozóm (angl. bacterial artificial chromosome)
bp	páry bází (angl. base pairs)
BPg	proximální zrna v bazální části klasu
C	cytozin
CDg	distální zrna v centrální části klasu
CK	cytokinin
CKX	cytokinin oxidáza/dehydrogenáza
cM	centimorgan
CPg	proximální zrna v centrální části klasu
CS	<i>Triticum aestivum</i> cv. <i>Chinese Spring</i>
cv.	kultivar
DArT	Diversity arrays technology
DNA	deoxyribonukleová kyselina (angl. deoxyribonucleic acid)
dNTP	deoxynukleotid trifosfát (angl. deoxynucleotide triphosphate)
EDTA	kyselina etylendiamintetraoctová
F primer	forward primer
F ₂	druhá filiální generace
F ₉	devátá filiální generace
F ₁₂	dvanáctá filiální generace
FHB	<i>Fusarium head blight</i>
G	guanin

GA	kyselina gibberelová (angl. gibberellic acid)
Gb	gigabáze (angl. giga base)
GL	délka zrna (angl. grain length)
GPC	obsah proteinů v zrnech (angl. grain protein content)
GT	tloušťka zrna (ang. grain
GW	šířka zrna (angl. grain width)
HMW-GS	gluteninové podjednotky s vysokou molekulovou hmotností (angl. high molecular weight glutenin subunits)
IRAP	amplifikovaný polymorfismus mezi retrotranspozóny (angl. inter-retrotransposon amplified polymorphism)
KW	váha zrna (angl. kernel weight)
LMW-GS	gluteninové podjednotky s nízkou molekulovou hmotností (angl. low molecular weight glutenin subunits)
LOD	logaritmus pravděpodobnosti (angl. logarithm of odds)
MAS	selekce za pomoci markeru (angl. marker assisted selection)
n	haploidní počet chromozómů
PAA	polyakrylamid
PCR	polymerázová řetězová reakce (angl. polymerase chain reaction)
QEet	lokus pro kvantitativní znak – doba metání
QEI	lokus pro kvantitativní znak – délka klasu
QGn	lokus pro kvantitativní znak – počet obilek na klásek
QGpc	lokus pro kvantitativní znak - obsah proteinů v zrnech
QHI	lokus pro kvantitativní znak - chlupatost listů
QHt	lokus pro kvantitativní znak – výška rostliny
QSh	lokus pro kvantitativní znak – rozpadavost klasu
QSpn	lokus pro kvantitativní znak - počet klásků na klas

QT	kvantitativní znak (angl. quantitative trait)
QTgw	lokus pro kvantitativní znak - váha zrn
QTL	lokus s kvantitativním znakem (angl. quantitative trait loci)
QTn	lokus pro kvantitativní znak – počet odnoží
QTs	lokus pro kvantitativní znak – rozkladitost trsu
R primer	reverse primer
RIL	rekombinantní inbrední linie (angl. recombinant inbred line)
ssp.	poddruh (<i>subspecies</i>)
SSR	opakování jednoduchých sekvencí, mikrosatelity (angl. simple sequence repeats)
STS	místo se sekvenční adresou (angl. sequence tagged site)
T	tymin
T _a	teplota nasedání primeru (angl. annealing temperature)
TBE	pufř s Tris, kyselinou boritou a EDTA (angl. Tris-borate-EDTA buffer)
TEMED	tetrametyletylendiamin
TKW	váha tisíce zrn (angl. thousand-kernel weight)
x	základní chromozómové číslo