

Pemuliaan Gandum Berbasis Marka Molekuler

Marcia B. Pabendon¹, Sri Sunarti¹, dan R. Heru Praptana²

¹Balai Penelitian Tanaman Sereal

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan

PENDAHULUAN

Gandum merupakan komoditas pangan penting dunia dengan produksi 624 juta ton pada tahun 2005 (FAO 2006). Komoditas ini adalah sumber utama karbohidrat sehingga penelitian peningkatan produksi gandum diupayakan melalui teknik bioteknologi. Ke depan, permintaan sereal diperkirakan tumbuh sebesar 50% seiring dengan meningkatnya kebutuhan (Reynolds and Borlaug 2006). Di Eropa, sejak tahun 1950-an, hasil panen gandum meningkat rata-rata 0,1 t/ha, yang merupakan dampak dari perbaikan teknologi budi daya maupun perakitan dan pengembangan varietas baru.

Genetika gandum lebih rumit dibandingkan dengan sebagian besar spesies domestikasi lainnya karena tergolong allopolyploid, mengandung tiga genom tetua yang berbeda (kode A, B dan D), masing-masing berisi tujuh pasang kromosom homolog (Kumar and Singh 2010, Hussain *et al.* 2010). Oleh karena itu jumlah kromosom dalam genom diploid (2n) adalah 42, atau juga disebut sebagai 6x, karena masing-masing genom tetua memiliki tujuh kromosom. Beberapa spesies gandum diploid, seperti *T. monococcum*, mempunyai dua set kromosom, namun banyak juga yang polyploids stabil dengan empat set kromosom atau tetraploid, misalnya gandum durum dengan enam set kromosom (hexaploid).

Dalam program pemuliaan gandum secara konvensional, ratusan ribu galur dibutuhkan untuk menghasilkan varietas baru setiap beberapa tahun. Biaya yang mahal adalah pada uji multilokasi dan evaluasi untuk beberapa sifat, terutama kualitas hasil biji dan stabilitas hasil. Bioteknologi diharapkan dapat memainkan peranan utama dalam meningkatkan produktivitas gandum dengan meningkatkan toleransi atau ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik, meningkatkan efisiensi penggunaan air dan nitrogen, serta menyediakan varietas spesifik untuk industri hilir.

Indonesia bukan penghasil gandum sehingga ketergantungan terhadap tepung terigu cukup tinggi yang membutuhkan devisa yang cukup besar. Salah satu upaya untuk mengembangkan gandum di Indonesia yang beriklim tropis adalah merakit varietas toleran suhu tinggi. Pengembangan tanaman gandum di Indonesia relatif lambat karena selain bersaing dengan tanaman pangan utama seperti padi, jagung, kedelai, kondisi lingkungan tropis khususnya suhu tinggi kurang mendukung pertumbuhan dan produksi gandum. Varietas gandum dari daerah subtropis pada umumnya tidak dapat berproduksi dengan baik di Indonesia. Kalau pun dapat tumbuh dan berproduksi, tanaman gandum

introduksi membutuhkan adaptasi yang cukup lama. Varietas gandum yang dilepas di Indonesia umumnya sesuai untuk lahan dataran tinggi atau kondisi suhu dingin. Masalah lain adalah koleksi plasma nutfah gandum introduksi memiliki variabilitas genetik yang sempit karena sifatnya yang menyerbuk sendiri, sehingga peluang keberhasilan rekombinasi untuk perbaikan varietas relatif kecil. Hasil karakterisasi 44 aksesori koleksi plasma nutfah gandum menggunakan marka SSR menunjukkan variabilitas genetik relatif sempit (Pabendon *et al.* 2011). Pada tahun 2014 analisis keragaman genetik dilanjutkan dengan menambah koleksi plasma nutfah baru menjadi 147 aksesori menggunakan 43 marka SSR. Hasilnya juga serupa, yaitu memiliki variabilitas genetik yang cenderung sempit yang ditunjukkan oleh tingkat polimorfisme 0,59 dan rata-rata 3 alel per lokus SSR. Hasil karakterisasi molekuler progeny S3 hasil persilangan konvergen menggunakan marka SSR menunjukkan adanya peningkatan variabilitas genetik pada populasi plasma nutfah gandum dan diperoleh 22 kandidat pasangan genotipe yang memiliki peluang heterosis (Syahrudin *et al.* 2015).

Berdasarkan hal tersebut maka program perakitan varietas unggul gandum di Indonesia diarahkan untuk mendapatkan varietas toleran suhu tinggi atau gandum tropis guna meningkatkan kemampuan adaptasi dan potensi hasil. Dalam hal ini dibutuhkan proses seleksi yang sangat teliti dalam memilih rekombinan potensial untuk meningkatkan variabilitas genetik. Teknologi berbasis marka molekuler berperan penting untuk mengetahui kondisi variabilitas genetik plasma nutfah yang dimiliki. Pemilihan rekombinan potensial didasarkan pada nilai jarak genetik untuk meningkatkan variabilitas genetik, maupun mengidentifikasi aksesori yang terpaut dengan gen toleran cekaman suhu tinggi yang bersifat kuantitatif atau dikendalikan oleh banyak gen.

PERANAN REKOMBINASI DALAM PERAKITAN VARIETAS GANDUM

Meskipun teknologi rekombinasi berperan penting dalam pemuliaan genom, pemahaman mengenai rekombinasi pada gandum masih terbatas. Perkembangan peta genetik gandum dan hasil penelitian dari berbagai program aplikasi marka telah menegaskan kurangnya keseragaman laju rekombinasi, terutama di sepanjang kromosom gandum. Peta yang menunjukkan hubungan antara jarak fisik dan genetik pada barley telah tersedia (Künzel *et al.* 2000) dan penelitian terbaru menganalisis distribusi kejadian rekombinasi di sepanjang kromosom gandum. Akhunov *et al.* (2003) menggambarkan hubungan terbalik antara synteny dan gradien rekombinasi sepanjang kromosom gandum. Hal tersebut menunjukkan bahwa tingkat synteny menurun seiring dengan semakin panjangnya jarak sumbu sentromer-telomer. Tidak mengherankan terjadinya kehilangan synteny lebih cepat di daerah kromosom homoeologous rekombinasi tinggi dibandingkan dengan daerah rekombinasi rendah. Hal ini

konsisten dengan hasil penelitian Gill *et al.* (1993) yang menunjukkan daerah distal kromosom gandum diasosiasikan dengan daerah kaya gen.

Selain variasi tingkat rekombinasi yang terjadi di sepanjang kromosom gandum dan barley, ada juga bukti bahwa tingkat rekombinasi akan sangat bervariasi antarpersilangan. Hal ini dapat dilihat dari perbandingan antara hasil pemetaan populasi yang berbeda (Chalmers *et al.* 2001), dan bisa menjadi sangat ekstrim ketika yang diamati adalah perilaku kromosom asing atau bahkan pada *landrace* (Paull *et al.* 1994). Dalam beberapa kasus, *blok linkage* yang menggunakan beberapa persilangan dengan jumlah populasi besar kurang baik karena rekombinasi bisa kacau (Paull *et al.* 1994). Sebagai alternatif, galur-galur gandum dengan aktivitas Ph1 atau Ph2 yang rendah dapat digunakan untuk mempercepat pecahnya blok kromosom sehingga dapat bermanfaat dalam *mengintrogresi kromatin asing ke dalam gandum* (Koebner and Shepherd 1985, Riley *et al.* 1966). Pendekatan lain adalah mengembangkan galur-galur gandum dengan melakukan modifikasi melalui rekombinasi tingkat tinggi. Secara teoritis, hal ini dapat dicapai dengan mengover-ekspresikan gen tertentu yang terlibat dalam rekombinasi atau mematikan gen yang bertanggung jawab untuk memperlambat rekombinasi, seperti gen yang mengkode enzim perbaikan DNA (Langridge *et al.* 2000). Jika perilaku kromosom pada gandum telah dipahami secara lebih rinci, maka alternatif pilihan akan lebih banyak dalam mengelola dan mengidentifikasi proses-proses penting saat terjadinya rekombinasi.

PEMULIAAN GANDUM BERBASIS PENANDA MOLEKULER

Dari sudut pandang evolusi, gandum adalah polyploid muda dan mempunyai konfigurasi genetik yang merupakan contoh klasik hubungan kekerabatan tanaman sereal. Kemiripan genom gandum dengan padi dan jagung membuka jalan untuk mengembangkan varietas gandum yang lebih unggul. Banyak varietas unggul gandum toleran cekaman telah dikembangkan berdasarkan informasi hasil penelitian filogenetik (Kumar and Sharma 2011).

Penanda molekuler dapat membantu data morfologi yang juga relatif mahal dan sering kurang akurat karena banyak dipengaruhi oleh lingkungan. Penanda molekuler sudah banyak digunakan untuk melacak lokus dan daerah genom dalam program pemuliaan gandum. Sebagai contoh di Australia, sejumlah varietas telah dilepas dengan menggunakan alat bantu penanda molekuler pada fase-fase tertentu selama proses pemuliaan. Letak beberapa lokus utama dapat dikenal melalui gen penyandi ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap cekaman biotik, serta karakter kuantitas dan kualitas lainnya. Terdapat juga beberapa perbaikan yang signifikan dalam teknologi skrining marka yang mampu mengurangi biaya karena meningkatnya kehandalan skrining berbasis marka genotipik. Efisiensi penggunaan marka dipengaruhi oleh jarak marka terhadap lokus target dan keberhasilan marka dalam mendeteksi polimorfisme genotipe yang digunakan dalam program pemuliaan.

Prasyarat pertama untuk analisis genom adalah pengembangan penanda molekuler dan peta keterpautan. Peta pertama gandum yang diterbitkan pada tahun 1995 menggunakan marka RFLP merupakan kontribusi besar bagi upaya pemetaan yang telah mengembangkan 2.200 penanda SSR. Informasi pemetaan telah ditingkatkan melalui pengembangan peta komposit dan peta ini sekarang diselaraskan dengan peta fisik melalui pemetaan bin SSR yang terseleksi pada galur-galur delesi (Gandon and Crépieux 2008).

Baru-baru ini, pustaka BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) menawarkan cakupan genome maupun kromosom spesifisitas (Safar *et al.* 2004), merupakan alat ampuh untuk peta berbasis kloning. Contoh terbaru dari peta berbasis kloning adalah isolasi lokus *ph1* (Griffiths *et al.* 2006), yang mencegah kromosom berpasangan selama proses meiosis baik, pada gandum durum maupun gandum roti.

International Triticeae EST (*Expressed Sequence Tags*) Cooperative (ITEC) telah merilis 853.401 marka EST untuk gandum yang semuanya tersedia untuk umum. Sebuah bin kromosom yang terdiri atas 16.000 lokus EST juga telah diterbitkan (Qi 2004), memberikan peluang bagi pengembangan marka SNP melalui pemetaan kepadatan atau kejenuhan tinggi. Namun, pengembangan SNP pada gandum lebih sulit dibandingkan dengan jenis tanaman lainnya karena sifat hexaploid dari genom, yang menyebabkan kesulitan dalam merancang genom primer PCR spesifik (Gandon and Crépieux 2008).

Program genom tanaman NSF adalah yang pertama dalam menggunakan urutan EST untuk pengembangan SNP dan telah diinformasikan sejumlah 17.174 primer, yang dilaporkan sebagai polimorfik sebanyak 1.102. Alat bantu genomik ini telah digunakan dalam berbagai aplikasi yang menyebabkan pentingnya pemetaan gen QTL dan agronomis, serta peta berbasis kloning gen pada beberapa lokus penting. Pada gandum, lebih dari 100 gen telah dipetakan, terutama untuk penyakit, nematoda atau ketahanan terhadap serangga (Feuillet & Keller 2005). Saat ini, informasi marka telah tersedia yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan karakter penting dalam plasma nutfah, seperti karakter-karakter penting dari materi genetik eksotis yang memungkinkan untuk diintrograsi secara cepat melalui MAS (*Marker Assisted Selection*), antara lain (i) ketahanan terhadap penyakit brown rust dan yellow rust (Lr9, Lr10, Lr19, Lr24, Lr37/Yr17/Sr38, Yr15, Lr34/Yr18, Lr46/Yr29); (ii) ketahanan terhadap eye spot (Pch1); (iii) ketahanan terhadap powdery mildew (PM3, Pm4b, Pm8/Pm17, MlRe); (iv) ketahanan terhadap *Septoria tritici* (Stb6); (v) ketahanan terhadap *Fusarium* (QTL yang berasal dari Sumai3 yaitu Qfhs.ndsu-3BS, Frontana, dan sumber-sumber lain dari Eropa); (vi) gen yang terlibat dalam pertumbuhan tanaman (RhtB1b (Rht1), RhtD1b (Rht2), Rht8, Vrn1); dan (vii) karakter terkait kualitas (hasil PCR glutenin berat molekul tinggi pada alel tertentu, puroindolins, dan terigu lilin) (Gandon and Crépieux 2008).

SELEKSI BERBASIS ALAT BANTU MARKER (MAS) PADA GANDUM

Jika konsep pengembangan idiotipe berbasis genetik sebagai dasar dalam merancang strategi persilangan dan seleksi untuk membangun idiotipe baru untuk beberapa kondisi dan pada sejumlah kasus, maka hal ini akan menjadi salah satu pendekatan. Sebagai contoh, informasi yang dibutuhkan untuk mengembangkan dan menerapkan strategi dengan menggunakan data genetika yang dihasilkan dari empat populasi haploid ganda hasil pemetaan dengan melibatkan hasil analisis kemajuan genetik selama beberapa tahun. Pada saat strategi dimulai, hampir semua informasi pemetaan awal telah tersedia. Untuk aplikasi selanjutnya, berdasarkan pendekatan ini, dapat melibatkan materi dengan latar belakang genetik yang berbeda atau mengintegrasikan yang berbeda, dan berpotensi tumpang tindih dengan set lokus atau keterpautan blok.

Strategi karakter ideotipe hanya salah satu dari banyak pendekatan pemuliaan seluruh genom yang berpeluang diterapkan pada perbaikan gandum. Contoh aplikasi yang sedang dilakukan di Australia yaitu upaya untuk menggabungkan alel yang diinginkan pada beberapa lokus gandum toleran genangan dari sejumlah koleksi galur-galur Eropa, Jepang dan Kanada, sehingga menjadi latar belakang genetik gandum Australia yang unggul dan mampu beradaptasi dengan baik (Vassos *et al.* 2003). Selain itu berupaya untuk memperbaiki beberapa kekurangan dari genotipe gandum unggul yang dihasilkan (Kuchel *et al.* 2003). Dalam aplikasi ini diperoleh informasi detail dari kontrol genetik dan lokasi dari gen target serta informasi fenotipik galur-galur elit yang tersedia. Dari sejumlah strategi yang mulai diaplikasikan, akumulasi informasi yang dibutuhkan merupakan proses yang memakan waktu dan mahal.

Kemajuan metode skrining marker telah membantu mengatasi kelemahan tersebut sehingga menciptakan lebih banyak peluang terhadap strategi tersebut. Hal terpenting adalah pergeseran ke studi asosiasi genetika pada gandum mulai memberikan pandangan mengenai inti dari pautan blok dan memahami struktur haplotipe dari tanaman target. Informasi ini berperan penting pada generasi berikutnya dari strategi pemuliaan seluruh genom.

Deteksi bobot molekul rendah gen HSP (*heat shock protein*) yang disintesis dari *T. durum* dalam kaitannya dengan thermo-toleransi telah diketahui. Respon toleran panas genotipe *T. aestivum* yang berbeda untuk enzim seperti NRA dan Peroksidase telah dibuktikan dapat menunjukkan thermo-toleransi. Secara umum gen penyandi cekaman toleransi abiotik sangat kompleks sehingga sulit dalam melakukan seleksi fenotipik. Pendekatan berbasis MAS (*Marker Assisted Selection*) lebih efektif untuk kasus tersebut. Namun belum banyak informasi mengenai pemanfaatan MAS secara rutin.

Waktu pengisian biji telah digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengidentifikasi genotipe gandum toleran panas (Bhullar and Jenner 1985, Yang *et al.* 2002, Mohammadi *et al.* 2008). Sadat *et al.* (2013) mengungkapkan kegunaan penanda SSR dikaitkan dengan berbagai karakter yang berkaitan dengan toleransi sifat panas yang telah digunakan sebagai parameter seperti periode pengisian biji pada tanaman biji-bijian, HSI (*Heat Susceptibility Index*)/ bobot kernel malai utama, HSI/periode pengisian biji, dan HSI/bobot kernel pada kondisi cekaman panas dengan menggunakan MAS untuk skrining 25 genotipe gandum roti toleran cekaman panas. Penelitian masih terbatas untuk mengidentifikasi penanda genetik yang terkait dengan toleransi cekaman panas pada tanaman yang berbeda. Berdasarkan hal tersebut maka yang perlu dipahami terlebih dahulu adalah faktor genetik yang mempengaruhi toleransi cekaman panas serta mengidentifikasi penanda diagnostik baru yang akan digunakan dalam MAS, yang akan lebih memastikan hasil secara lebih cepat pada kondisi lingkungan cekaman panas.

DASAR MOLEKULER GANDUM TOLERANSI CEKAMAN SUHU TINGGI

Toleransi terhadap cekaman panas adalah fenomena yang kompleks dan dikontrol oleh beberapa gen yang menginformasikan sejumlah perubahan fisiologis dan biokimia dan tidak ada karakter tunggal menjelaskan mekanisme toleransi panas. Informasi dasar molekuler dan genetik toleransi panas untuk mengidentifikasi penanda molekuler akan meningkatkan efisiensi program perbaikan gandum yang ditargetkan untuk mengembangkan kultivar toleran panas.

Suhu tinggi mempersingkat durasi pengisian biji dan mengurangi waktu untuk apoptosis dan waktu panen (Altenbach *et al.* 2003). Paparan suhu tinggi (> 35°C) pada fase akhir pertumbuhan merupakan masalah pada 40% daerah pengembangan gandum pada lingkungan beriklim sedang. Beberapa pendekatan berbasis pemuliaan telah diusulkan untuk karakter yang terkait dengan hasil dan yang selalu menjadi tolok ukur adalah mengukur keberhasilan genotipe pada lingkungan cekaman panas. Setiap kenaikan suhu di atas 15°C menurunkan hasil 3% (Wardlaw *et al.* 1989). Bobot kernel yang dapat dipertahankan secara optimum di bawah cekaman merupakan kriteria yang baik untuk mengukur toleransi panas (Tyagi *et al.* 2003).

Ada dua pendekatan untuk memahami sifat-sifat kuantitatif dan kompleks, yaitu melalui pendekatan *genome-wide scanning* dan kandidat gen. *Genome-wide scanning* merupakan pendekatan dengan sumberdaya yang mahal dan intensif yang menempatkan daerah kromosom dari lokus-lokus karakter kuantitatif pada tingkat cM dengan bantuan penanda molekuler berdasarkan desain percobaan berbasis populasi, yang biasanya mengandung sejumlah besar gen putatif. Sebagai perbandingan, pendekatan kandidat gen adalah

metode yang lebih efektif dan ekonomis untuk mempelajari arsitektur genetik dari sifat-sifat kompleks (Zhu and Zhao 2007). *Heat shock protein* (HSPs) berfungsi sebagai molekul chaperone yang bertanggung jawab untuk protein folding, perakitan, translokasi dan degradasi dalam banyak proses seluler, stabilisasi protein dan membran, dan membantu mempertahankan protein refolding di bawah kondisi cekaman, termasuk suhu tinggi (Wang *et al.* 2004).

Studi proteome menunjukkan kultivar gandum toleran panas memiliki respon yang berbeda terhadap cekaman panas dibandingkan dengan kultivar rentan dalam bentuk HSPs (Skylas *et al.* 2002). Profil protein setelah mengalami stres panas mengungkapkan tidak hanya perbedaan kuantitatif dalam HSPs secara individu tetapi juga beberapa HSPs unik ditemukan pada genotipe toleran panas. Messenger RNA yang mengkode kelas utama HSPs bobot molekul rendah (HSP16.9) terdeteksi pada genotipe gandum terkena suhu tinggi (Nguyen *et al.* 1994). Beberapa laporan menunjukkan bahwa berbagai jenis HSP disintesis dari jaringan gandum menanggapi durasi dan jenis cekaman panas yang berbeda (Zivy 1987, Weng and Nguyen 1992, Treglia *et al.* 1999, Rampino *et al.* 2009, Sharma-Natu *et al.* 2010, Xu *et al.* 2011). Sebagian besar studi tentang HSP dalam kaitannya dengan cekaman panas didasarkan pada analisis ekspresi HSP namun belum ditemukan literatur tentang HSP berbasis penanda dalam program pemuliaan yang toleran cekaman panas pada gandum. Analisis ekspresi juga membutuhkan keterampilan teknis yang tinggi dan tidak mungkin untuk melakukan studi ekspresi dengan memisahkan populasi.

Dalam penelitian genetik tanaman, MAS menyediakan strategi untuk mempercepat proses pemuliaan gandum. Polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) terdapat dalam jumlah yang hampir tak terbatas, dan beberapa perbedaan urutan nukleotida antara individu memiliki potensi terpaut dengan fenotipe yang dapat dikonversi menjadi penanda genetik untuk genotipe *high-throughput* (Rafalski 2002). Informasi terkini menunjukkan belum ada laporan tentang SNP di HSP terkait dengan thermotolerance. Dalam studi ini, telah dikembangkan penanda SNP pada gen HSP16.9 gandum roti untuk mengidentifikasi genotipe rentan dan toleran panas menggunakan PCR primer spesifik alel.

Ekspresi HSP adalah respon molekuler yang paling banyak dipelajari di bawah cekaman panas. HSP menyimpan protein dari hasil agregasi akibat panas sehingga selama periode pemulihan dapat memfasilitasi protein kembali refolding (Hendrick and Hartl 1993, Schoffl *et al.* 1998, Feder and Hofmann 1999, Maestri *et al.* 2002). Ekspresi gen HSP merupakan respon awal terhadap cekaman (Rampino *et al.* 2009). Bila terkena suhu tinggi (> 35°C), sintesis protein normal pada gandum berkurang, tetapi memproduksi HSP (Blumenthal *et al.* 1994).

Nguyen *et al.* (1994) mendeteksi RNA pembawa Hsp-HSP16.9 yang mengkode bobot molekul rendah pada genotipe gandum yang ditanam pada suhu 32-35°C. Pada studi lain, beberapa varietas gandum terkena suhu 3,2-3,6°C lebih tinggi dari biasanya, HSP18 terakumulasi lebih tinggi pada saat pembentukan biji pada varietas toleran panas dibandingkan varietas rentan

(Sharma-Natsu *et al.* 2010). Sumesh *et al.* (2008) juga mengamati kandungan HSP 100 lebih tinggi pada suhu tinggi pada berbagai varietas yang relatif toleran. Protein dehydrine merupakan bagian dari dua grup protein *late embryo genesis* (LEA) yang berlimpah. Dehydrins membantu menstabilkan makro-molekul yang disebabkan oleh kerusakan akibat panas (Brini *et al.* 2010). Pada gandum, misalnya, protein DHN-5 membantu melindungi dan menstabilkan enzim kunci untuk memulai metabolisme (Brini *et al.* 2010).

PERAKITAN VARIETAS GANDUM TROPIS BERBASIS PENANDA MOLEKULER

Perakitan varietas gandum tropis (suhu tinggi) merupakan salah satu alternatif dalam pengembangan gandum di Indonesia. Aplikasi marka molekuler (SSR) secara sederhana yang telah dilakukan selama beberapa tahun terakhir antara lain (1) karakterisasi secara molekuler beberapa set koleksi plasma nutfah gandum untuk mengetahui variabilitas genetik koleksi tersebut; (2) menyeleksi pasangan-pasangan rekombinan potensial berdasarkan estimasi nilai jarak genetik ($> 0,60$), sebagai salah satu cara untuk meningkatkan variabilitas genetik; (3) pembentukan populasi baru menggunakan metode persilangan konvergen untuk meningkatkan variabilitas genetik berdasarkan pasangan rekombinan potensial, kemudian progeny hasil persilangan dikarakterisasi kembali menggunakan penanda SSR untuk mengetahui apakah terjadi peningkatan variabilitas genetik; (4) mengidentifikasi koleksi plasma nutfah gandum yang mempunyai gen terpaut toleran suhu tinggi dan gen-gen ketahanan lainnya, yaitu ketahanan terhadap penyakit karat daun menggunakan marka spesifik, utamanya pada aksesi-aksesi yang berpotensi untuk meningkatkan variabilitas genetik. Hasil analisis keragaman genetik 147 koleksi plasma nutfah gandum yang dilakukan Andriani *et al.* (2015) menunjukkan nilai jarak genetik berkisar antara 0,04-0,62. Dari total 147 aksesi yang dianalisis terdapat 10.732 rekombinan, dan hanya 35 rekombinan yang potensial berdasarkan nilai jarak genetik $> 0,60$ yang melibatkan 28 aksesi, berpotensi untuk meningkatkan variabilitas genetik. Semua rekombinan yang berpotensi meningkatkan variabilitas genetik berada pada klaster atau sub-klaster yang berbeda.

KEMAJUAN INFORMASI GENOMIK GANDUM

Dalam beberapa tahun terakhir, alat analisis skala genom telah diterapkan untuk mempelajari perubahan global dalam ekspresi gen, proteome, dan metabolome untuk memahami jalur metabolisme dan regulasi jaringan yang terlibat dalam toleransi cekaman abiotik dan biotik (Nakashima *et al.* 2009, Hirayama and Shinozaki 2010). Data sekuens pendek genom gandum telah dipublikasi dan diperkirakan terdapat 94.000-96.000 gen yang mengatur dua-pertiga dari tiga komponen genom (A, B dan D) dari gandum hexaploid (Brenchley *et al.* 2012).

Hal ini merupakan informasi penting yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber daya genom yang berharga untuk identifikasi gen, alel, dan daerah genom yang dapat dimanfaatkan dalam merakit sejumlah varietas toleran. Selain itu, beberapa fokus utama yang muncul ke permukaan seperti integrasi transkriptomik, proteomik, metabolomik bertujuan guna mengembangkan sistem pendekatan biologi untuk mengungkap mekanisme yang terlibat dalam toleransi cekaman abiotik pada tanaman (Urano *et al.* 2010, Moreno-Risueno *et al.* 2010, Cramer *et al.* 2011).

Studi tentang organisasi genom gandum menunjukkan lebih 85% dari total gen gandum menempati kurang dari 10% daerah kromosom (Deepak and Gill 2004). Perkiraan sederhana berdasarkan keterangan urutan 11,1 Mb dari klon BAC yang dipilih secara acak, dan dengan mempertimbangkan fakta bahwa jumlah gen bervariasi sebanyak 32% ketika urutan yang sama dijelaskan oleh peneliti yang berbeda, bahwa genom gandum mengandung gen protein penyandi antara 164.000 - 334.000, termasuk pseudo gen (Devos *et al.* 1994). Hasil pemetaan secara fisik menunjukkan gandum mengandung 3.025 lokus, termasuk 252 gen yang ditandai sebagai karakter fenotipik dan 17 lokus menunjukkan sifat kuantitatif (QTL). Terdapat 29% gen yang menempati sebagian kecil genom gandum pada daerah padat gen (*gen-rich region* = GRR), 18% muncul sebagai gen mayor dan 30% sebagai minor gen. GRR bervariasi dalam jumlah maupun kepadatan gen. Secara fisik, terdapat lima GRR terbesar mencakup 3% dari genom yang mengandung 26% gen gandum. Perkiraan ukuran GRR berkisar 3-71 Mb. Rekombinasi terutama banyak terjadi pada GRR. Dari berbagai macam GRR bervariasi sekitar 128 kali lipat untuk kepadatan gen dan 140 kali lipat untuk tingkat rekombinasi (Erayman *et al.* 2004).

Dalam beberapa tahun terakhir, alat analisis berbasis genomik telah diterapkan untuk mempelajari perubahan global dalam ekspresi gen, proteome, dan metabolome untuk memahami jalur metabolisme dan regulasi jaringan yang terlibat dalam toleransi cekaman abiotik dan biotik (Nakashima *et al.* 2009, Hirayama and Shinozaki 2010). Baru-baru ini data sekuens pendek genom gandum telah diterbitkan yang diperkirakan antara 94.000-96.000 gen, yang mengatur dua-pertiga dari tiga komponen genom (A, B dan D) gandum hexaploid (Brenchley *et al.* 2012). Informasi berharga yang bersumber dari genom tersebut bermanfaat untuk identifikasi gen, alel, dan daerah genom untuk pengembangan varietas toleran. Selain itu, penekanan utama pada integrasi transcriptomik, proteomik, metabolomik bertujuan untuk menciptakan sistem pendekatan biologi untuk mengungkap mekanisme yang terlibat dalam toleransi cekaman abiotik pada tanaman (Urano *et al.* 2010, Moreno-Risueno *et al.* 2010, Cramer *et al.* 2011).

Transcriptomik. Cekaman abiotik merupakan karakter kompleks, sehingga diprediksi banyak gen akan terlibat dalam berbagai respon fisiologis dan biokimia cekaman abiotik pada tanaman. Oleh sebab itu, studi tentang profil ekspresi gen secara komprehensif pada beberapa gen dapat memberikan informasi tentang mekanisme cekaman abiotik pada tanaman. Di masa lalu, alat-alat seperti

mikroarray, substraksi pustaka, cDNA-AFLP, *serial analysis of gene expression* (SAGE) dan hasil sekuensing transkriptome secara keseluruhan telah teridentifikasi pada sejumlah besar gen tanaman yang terlibat dalam respon cekaman abiotik dalam tanaman, termasuk gandum (Fowler and Thomashow 2002, Kreps *et al.* 2002, Seki *et al.* 2002, Wong *et al.* 2006). Qin *et al.* (2007) mengungkapkan profil ekspresi gen dari genom secara komprehensif pada benih genotipe gandum toleran panas 'TAM107' dan genotipe gandum 'Spring Chinese' yang rentan cekaman panas dengan menggunakan mikroarray. Pola perubahan ekspresi gen pada genotipe berbeda nyata dengan perlakuan panas waktu singkat dan waktu yang berlangsung lama. Selain itu, genotipe kontras menunjukkan karakter yang berbeda, baik *up-regulation* maupun *down-regulation*, termasuk jalur sinyal HSPs, faktor transkripsi, fitohormon biosintesis/signaling, kalsium, dan gula pada perlakuan panas yang singkat dan yang berlangsung lama. Oleh karena itu, respon gandum terhadap cekaman panas kemungkinan dimediasi melalui jalur sinyal transduksi yang melibatkan hormon tanaman, kalsium, dan molekul gula seperti yang dilaporkan juga terjadi pada spesies lain (Larkindale *et al.* 2005, Larkindale and Vierling 2008, Liu *et al.* 2003, Calderwood *et al.* 2010). Analisis transkriptome yang mengacu pada hasil biji dan perkembangan daun bendera pada gandum lebih relevan dalam mengidentifikasi sejumlah karakter dan *pathway* untuk toleransi cekaman panas pada gandum yang ditunjukkan oleh terjadinya penggulangan daun bendera dan penurunan hasil yang signifikan dari gandum tersebut. Chauhan *et al.* (2011) mengidentifikasi perbedaan *expressed sequence tags* (EST) gandum di bawah cekaman panas dari pustaka cDNA subtraktif dari 3' forward – 1' reverse yang dikonstruksi mulai dari tahap pembibitan sampai tahap pembungaan. Beberapa EST ditemukan spesifik untuk cekaman panas, namun juga banyak terdeteksi ekspresi yang menanggapi cekaman abiotik lain, sehingga diduga terjadi interaksi dengan cekaman abiotik lainnya. Rampino *et al.* (2012) menganalisis efek kombinasi toleransi cekaman panas dan kekeringan yang ditunjukkan oleh terjadinya perubahan dalam ekspresi gen secara global pada daun bendera gandum durum menggunakan cDNA-AFLP, dan ditemukan regulasi dari jumlah gen yang lebih tinggi setelah perlakuan kombinasi cekaman dibandingkan dengan perlakuan cekaman tunggal seperti yang terdeteksi pada spesies lain. Pada beberapa EST baru (selain EST yang terlibat dalam dehidrins dan HSPs) di bawah kondisi cekaman panas, kekeringan, atau cekaman gabungan juga diidentifikasi. Berdasarkan hal tersebut jelas bahwa studi transcriptome telah memberikan kontribusi yang besar dalam memahami cekaman panas pada gandum.

Proteomik. Perubahan ekspresi gen tanaman selama pertumbuhan, pengembangan dan paparan terhadap variasi lingkungan tercermin dari perubahan enzim dan/atau protein pada berbagai tingkat dari jalur metabolik (Hakeem *et al.* 2012). Hal ini menunjukkan pentingnya analisis proteome gandum untuk memahami dasar molekuler toleransi cekaman panas pada beberapa kultivar gandum. Bahkan, dengan ketersediaan teknik analisis proteome yang sensitif dan akurat, proteomik telah muncul sebagai alat yang ampuh dalam

menemukan gen dan lintasan yang terlibat dalam respon cekaman abiotik pada tanaman (Chen and Harmon 2006, Kosova *et al.* 2011). Protein/enzim dan jalur metabolik kunci diidentifikasi dari galur-galur gandum toleran yang berpotensi sebagai target dalam merakit varietas gandum toleran cekaman panas.

Majoul *et al.* (2004) menganalisis pengaruh cekaman panas pada proteome gandum hexaploid menggunakan elektroforesis dua dimensi (2-DE) dan *matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight-mass spectrometry* (MALDI-TOF-MS). Sebanyak 43 protein diferensial terekspresi di bawah cekaman panas, terdiri atas enzim metabolisme karbohidrat, ATP synthase α -chain yang terkait dengan empat protein penurunan panas, *heat shock protein*, dan beberapa protein pertahanan lainnya. Titik-titik yang terekspresi secara berbeda mewakili berbagai kelompok protein termasuk HSPs, protein yang terlibat dalam glikolisis dan metabolisme karbohidrat, serta cekaman yang berhubungan dengan protein (Laino *et al.* 2010). Ekspresi HSPs ini tidak mengherankan karena dapat melakukan beberapa fungsi strategis seperti mencegah denaturasi protein yang ada atau *misfolding protein* yang baru disintesis (Vierling 1991, Timperio *et al.* 2008). Namun peran yang tepat dari sejumlah HSPs gandum pada kondisi cekaman panas belum dipahami secara menyeluruh. Panas hasil induksi HSPs pada gandum yang tergolong HSPs dengan bobot molekul tinggi seperti HSP70, HSP90, sedangkan HSPs yang tergolong bobot molekul rendah seperti HSP26 (Laino *et al.* 2010). Sebagai contoh, HSP70 sangat jelas terkait dengan fungsi akuisisi thermo-toleransi dan terlibat dalam pelipatan dan oligomerisasi protein untuk mencegah agregasi ireversibel (Hendrick and Hartl 1993). Oleh karena itu, selain HSPs dan metabolisme energi protein yang terkait, metabolisme enzim karbohidrat yang terekspresi berbeda di bawah kondisi cekaman panas dapat dipahami secara jelas, karena protein tersebut terlibat pada degradasi (genotipe rentan) maupun pada sintesis (genotipe toleran) pati pada saat pengisian biji.

Majoul *et al.* (2003, 2004) mengungkapkan bahwa penurunan tingkat dua enzim kunci, *glucose-1-phosphate adenyl-transferase* dan *granule bound starch synthase* pada fase pengisian biji yang berakibat kurangnya hasil biji di bawah kondisi cekaman panas menunjukkan peran enzim tersebut. Namun peranan dari proteomik dalam memahami secara rinci jalur metabolik gandum yang terkena dampak cekaman panas dan identifikasi kandidat enzim sebagai target potensial dalam merakit gandum toleran cekaman panas belum sepenuhnya dipahami.

Metabolomik. Tanaman menanggapi cekaman abiotik dengan mengubah komposisi dan konsentrasi metabolit sehingga dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan yang merugikan. Dalam konteks ini, profil metabolit global dapat memainkan peran penting karena berpeluang memantau prekursor secara simultan, intermediet, dan merupakan produk dari semua jalur metabolik dari organisme tanaman apa pun (Kaplan *et al.* 2011). Profil metabolik telah mempercepat penemuan molekul sinyal transduksi terhadap cekaman dan senyawa yang merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari respon tanaman cekaman abiotik (Shulaev *et al.* 2008). Namun, hanya sedikit

informasi yang tersedia mengenai profil metabolik gandum, dan tidak satu pun dari informasi tersebut yang terkait dengan cekaman panas (Matthews *et al.* 2012). Sejak protein dan karbohidrat merupakan metabolit utama pada pembentukan biji gandum, sebagian besar studi terdahulu terfokus hanya pada senyawa tersebut dibandingkan dengan seluruh perubahan metabolit sebagai respon terhadap cekaman panas. Oleh karena itu perlu menganalisis profil metabolit global di bawah cekaman panas yang melibatkan kelompok heterogen molekul penanda yang terlibat dalam jaringan metabolisme yang kompleks.

TANTANGAN PENGEMBANGAN VARIETAS GANDUM

Pada tahun 2050, diperkirakan permintaan gandum meningkat sekitar 60% untuk memenuhi kebutuhan yang terus meningkat (Rosegrant and Agcaoili 2010). Pada saat yang sama, peningkatan suhu yang disebabkan oleh perubahan iklim diperkirakan akan menurunkan produksi gandum di negara berkembang sebesar 20-30%. Kecenderungan produksi berkaitan dengan penurunan potensi hasil gandum di daerah penghasil utama karena terjadinya perubahan iklim.

Belakangan ini, beberapa penanda molekuler yang berhubungan dengan toleransi panas telah dikembangkan. Skrining plasma nutfah gandum untuk toleransi cekaman suhu panas menggunakan pendekatan alat bantu penanda seleksi (MAS) untuk gen yang diketahui toleran dapat menjadi pendekatan yang tepat dalam membantu pemulia konvensional untuk mengembangkan gandum toleransi cekaman suhu panas. Hal ini berperan penting dalam meminimalisasi kehilangan hasil.

Genom gandum adalah hexaploid yang berukuran besar, sekitar 16 Gbp (Arumuganathan and Earle 1991). Faktor ini merupakan penghambat dalam pengembangan penanda molekuler pada gandum. Menurut Elshire *et al.* (2011), pendekatan baru untuk genotyping menggunakan alat *next generation sequencing* (NGS) efektif menghasilkan penanda *genom wide high-throughput* dengan biaya yang relatif murah. *Genotype-by-sequencing* (GBS) memanfaatkan enzim restriksi untuk menangkap representasi yang mengalami pengurangan target genom dan adaptor DNA barcode untuk urutan beberapa sampel (96-384) yang sekali jalan secara paralel sesuai platform NGS (*multiplexing*). GBS saat ini telah banyak diaplikasikan secara luas pada genom barley (*Hordeum vulgare* L.) dan gandum untuk menghasilkan penanda molekuler secara cepat (Poland *et al.* 2012).

Selain itu, pendekatan genomik, proteomik, dan transcriptomik dalam memahami mekanisme toleransi cekaman panas juga diperlukan. Pemahaman akan molekuler tentang mekanisme respon dan toleransi akan membuka jalan bagi perakitan tanaman yang memiliki toleransi terhadap cekaman panas. Respon cekaman panas penting artinya, khususnya untuk tanaman yang merupakan ekspresi HSPs dan beberapa protein terkait cekaman lainnya yang juga tersedia. Respon tanaman terhadap cekaman tunggal dan cekaman

kombinasi berbeda pada tingkat molekuler. Dengan demikian strategi alternatif diperlukan dalam perakitan varietas tanaman yang mengalami kombinasi cekaman dibanding cekaman tunggal.

Meskipun studi molekuler berpeluang membantu meningkatkan hasil yang bernilai ekonomi, namun hasil yang lebih mendekati adalah estimasi terbaik di tingkat fenotipik tanaman. Jadi sistem pemodelan tanaman mungkin diperlukan dalam hubungannya dengan studi biologi untuk meningkatkan hasil panen.

Ekspansi yang cepat dalam pemahaman tentang kontrol genetik dari sifat-sifat utama dalam mengendalikan ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap cekaman dan komponen kualitas abiotik telah mengubah metode melalui aplikasi penanda molekuler dalam program pemuliaan. Tampilan penanda yang menawarkan alternatif cepat dan murah untuk bioassay telah sukses dan berkontribusi dalam mempercepat dan meningkatkan efisiensi seleksi. Namun, strategi ini tidak sepenuhnya memanfaatkan teknologi untuk struktur genom gandum dan barley. Keterbatasan utama upaya peningkatan dan kompleksitas penggunaan marker adalah besarnya populasi maksimal yang diperlukan jika ingin mencoba menyeleksi alel pada sejumlah besar lokus secara bersamaan dan pemahaman yang umumnya relatif kurang mengenai perilaku rekombinasi. Beberapa daerah genom di mana rekombinasi tidak terjadi seperti yang diharapkan seringkali tidak efektif memanfaatkan alel yang diinginkan dari kerabat liar atau *landrace*. Penggunaan marka secara konvensional belum efektif memanfaatkan daerah genom tersebut.

Tantangan utama dalam pemuliaan seluruh genom adalah bagaimana menggunakan informasi genom, memahami struktur haplotype dan perilaku rekombinasi, mengetahui lokasi utama sejumlah lokus dan marka penanda untuk alel yang diinginkan dan tidak diinginkan, merancang strategi pemuliaan optimal yang mengintegrasikan sebanyak mungkin informasi yang tersedia. Pendekatan ini memiliki potensi yang secara dramatis mengubah metode dimana plasma nutfah dikelola untuk meningkatkan fleksibilitas program pemuliaan.

KESIMPULAN

Marka secara bertahap telah diintegrasikan ke dalam program pemuliaan, bukan menggantikan pemuliaan konvensional, tetapi sebagai alat bantu. Tidak semua sifat menggunakan marka dalam proses seleksi, karena sifat-sifat yang secara fenotipik terlihat stabil, seperti umur genjah, tipe tanaman, tahan kerebahan, relatif tidak memerlukan marka untuk seleksi. Integrasi ini hanya mungkin melalui interaksi yang erat antara pemulia konvensional dan peneliti molekuler sehingga ada pemahaman bersama tentang apa yang diperlukan untuk mengoptimalkan pemanfaatan marka dalam program pemuliaan. Pertanyaan tentang penggunaan marka sudah tidak ada. Hal yang lebih penting sekarang adalah mengalokasikan sarana, menjaga keseimbangan yang tepat antara aktivitas fenotipik dan genotipik/molekuler. Tidak diragukan lagi bahwa penggunaan

MAS akan terus meningkat di masa mendatang sejalan dengan semakin menurunnya biaya penelitian dan lebih banyak marka untuk mengetahui sifat yang diinginkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhunov, E.D., A.R. Akhunov, A.M. Linkiewicz, J. Dubcovsky, D. Hummel, G. Lazo, S. Chao, O.D. Anderson, J. David, L. Qi, B. Echaliier, B.S. Gill, Miftahudin, J.P. Gustafson, M. La Rota, M.E. Sorrells, D.S. Zhang, H.T. Nguyen, V. Kalavacharla, K. Hossain, S.F. Kianian, J.H. Peng, N.L.V. Lapitan, E.J. Wennerlind, V. Nduati, J.A. Anderson, D. Sidhu, K.S. Gill, P.E. McGuire, C.O. Qualset, and J. Dvorak. 2003. Synteny perturbations between wheat homoeologous chromosomes caused by locus duplications and deletions correlate with recombination rates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:10836-10841.
- Altenbach, S.B., F. DuPont, K. Kothari, R. Chand, E. Johnson, and D. Lieu. 2003. Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in US spring wheat. *J. Cereal Sci.* 37:9-20.
- Andriani, A., Reflinur, and M.B. Pabendon. 2015. Genetic Diversity Analysis of Wheat Germplasm Collection of Indonesian Cereals Rerearch Institute using SSR Markers. Presented at the Sabrao 13th Congress and International Conference, 14-16 September 2015 Bogor, Indonesia.
- Arumuganathan, K. and E. Earle. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9:208-218. doi:10.1007/BF02672069.
- Blumenthal, C., C.W. Wrigley, I.L. Batey, and E.W.R. Barlow. 1994. The heat-shock response relevant to molecular and structural changes in wheat 820 yield and quality. *Aust. J. Plant Physiol.* 21:901-909.
- Brenchley, R., M. Spannagl, and M. Pfeifer. 2012. Analysis of the bread wheat genome using whole-genome shotgun sequencing. *Nature* 491:705-710.
- Brini, F., W. Saibi, I. Amara, A. Gargouri, K. Masmoudi, and M. Hanin. 2010. 825 wheat dehydrin dhn-5 exerts a heat-protective effect on α -glucosidase and glucose oxidase activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74:1050-1054.
- Bhullar, S.S. and C.F. Jenner. 1985. Differential responses to high temperatures of starch and nitrogen accumulation in the grain of four cultivars of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 12:363-375.
- Calderwood, S.K., Y. Xie, X. Wang, M.A. Khaleque, S.D. Chou, A.T. Murshid Prince, and Y. Zhang. 2010. Signal transduction always leading to heat shock transcription signal. *Transduct Insights* 2:13-24.
- Chalmers, K.J., A.W. Campbell, J. Kretschmer, A. Karakousis, P. Henschke, S. Pierens, N. Harker, M. Pallotta, G.B. Cornish, M.R. Shariflou, L. Rampling, A. McLauchlan, G. Daggard, P. Sharp, T. Holton, M.W. Sutherland, R. Appels, and P. Langridge. 2001. Construction of three linkage maps in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Aust. J. Agric. Res.* 52:1089-1119.
- Chauhan, H., N. Khurana, A.K. Tyagi, J.P. Khurana, and P. Khurana. 2011. Identification and characterization of high temperature stress responsive genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and their regulation at various stages of development. *Plant Mol. Biol.* 5:35-51.

- Chen, S. and A.C. Harmon. 2006. Advances in plant proteomics. *Proteomics* 6 (20):5504-16.
- Cramer, G.R., K. Urano, S. Delrot, M. Pezzotti, and K. Shinozaki. 2011. Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biol.* 11:163. doi:10.1186/1471-2229-11-163.
- Deepak, S. and K.S. Gill. 2004. Distribution of genes and recombination in wheat and other Eukaryotes'. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 79:257-270.
- Devos, K.M., S. Chao, Q.Y. Li, M.C. Simonetti, and M.D. Gale. 1994. Relationship between chromosome 9 of maize and wheat homeologous group 7 chromosomes'. *Genetika* 138:1287-1292.
- Elshire, R.J., J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler, and S.E. Mitchell. 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6:e19379. doi:10.1371/journal.pone.0019379.
- Erayman, M., D. Sandhu, D. Sidhu, M. Dilbirligi, P.S. Baenziger, and K.S. Gill. 2004. Demarcating the gene-rich regions of the wheat genome. *Nucleic Acids Research* 32: 3546-3565.
- FAO. 2006. The State of Food Insecurity in the World 2006. Eradicating world hunger-taking stock ten years after the World Food Summit. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy. 39 p.
- Feder, M.E. and G.E. Hofmann. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 61: 243-282.
- Feuillet, C. and B. Keller. 2005. Molecular markers for disease resistance, the example wheat. *In*: "Molecular Marker System in Plant Breeding and Crop Improvement". (Eds.). Lorzh and Wenzel *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 55: 353-370.
- Fowler, S. and M.F. Thomashow. 2002. Arabidopsis transcriptome profiling indicates multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold-response pathway. *Plant Cell* 14:1675-1690.
- Gandon, B., and S. Crépieux. 2008. Marker implementation in wheat breeding programs: status and prospects. *In*: Molina-Cano J.L. (ed.), P. Christou (ed.), A. Graner A. (ed.), K. Hammer (ed.), N. Jouve (ed.), B. Keller (ed.), J.M. Lasa (ed.), W. Powell (ed.), C. Royo (ed.), P. Shewry (ed.), and A.M. Stanca (ed.). *Cereal science and technology for feeding ten billion people: genomics era and beyond*. Zaragoza: CIHEAM / IRTA, 2008. 93-98 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéennes; n. 81).
- Gill, K.S., B.S. Gill, and T.R. Endo. 1993. A chromosome region-specific mapping strategy reveals gene-rich telomeric ends in wheat. *Chromosoma* 102:374-381.
- Griffiths, S., R. Sharp, T.N. Foote, I. Bertin, M. Wanous, S. Reader, I. Colas, and G. Moore. (2006). Molecular characterization of Ph1 as a major chromosome pairing locus in polyploid wheat. *Nature* 439 (9): 749-752.
- Hakeem, K.R., R. Chandna, P. Ahmad, M. Iqbal, and M. Ozturk. 2012. Relevance of proteomic investigations in plant abiotic stress physiology. *OMICS*. doi:10.1089/omi.2012.0041.
- Hendrick, J.P. and F.U. Hartl. 1993. Molecular chaperone functions of heat shock proteins. *Annu. Rev. Biochem.* 62: 349-384.

- Hiryama, T. and K. Shinozaki. 2010. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future. *Plant J.* 61:1041-1052.
- Huang, X.Q., H. Kempf, M.W. Ganal, and M.S. Röder. 2004. Advanced back-cross QTL analysis in progenies derived from a cross between a German elite wheat variety and a synthetic wheat. *Theor. Appl. Genet.* 109:933-943.
- Huang, X.Q., H. Cöster, M.W. Ganal, and M.S. Röder. 2003a. 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.
- Hussain, I., M. Burhanuddin, and M.K.J. Bhuiyan. 2010. Evaluation of physiochemical properties of wheat and mungbean from Bangladesh. *Internet Journal of Food Safety* 12:104-108.
- Johnson, R. 2004. MARS, association genetics, importance of accurate phenotypic data. *Plant Breeding Reviews* (J. Janick, ed.) 24: 293-309.
- Kaplan, F., J. Kopka, D.W. Haskell, W. Zhao, S.K. Cameron, N. Gatzke, K. Kosová, P. Vítámvás, I.T. Prášil, and J. Renault. 2011. Plant proteome changes under abiotic stress-contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *J. Proteomics* 74(8):1301-22.
- Koebner, R.M.D. and K.W. Shepherd. 1985. Induction of recombination between rye chromosome 1 RL and wheat chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 71:208-215.
- Kosová, K., P. Vítámvás, I.T. Prášil, and J. Renault. 2011. Plant proteome changes under abiotic stress-contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *J. Proteomics* 74(8):1301-22.
- Kreps, J.A., Y. Wu, H.S. Chang, T. Zhu, X. Wang, and J.F. Harper. 2002. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol.* 130:2129-2141.
- Kuchel, H., P. Warner, R.L. Fox, K. Chalmers, N. Howes, P. Langridge, and S.P. Jefferies. 2003. Whole-genome based marker assisted selection strategies in wheat breeding. 10th Int. Wheat Genetiks Symp. (*Eds.*) Pogna, Romano, Pogna and Galterio. Paestum 1:144-147. Italy.
- Kumar, A. and M. Sharma. 2011. Wheat genome phylogeny and improvement. *AJCS* 5(9):1120-1126.
- Kumar, S. and A.K. Singh. 2010. A review on herbicide 2, 4-D damage reports in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2: 118-124.
- Künzel, G., L. Korzun, and A. Meister. 2000. Cytologically integrated physical restriction fragment length polymorphism maps for the barley genome based on translocation breakpoints. *Genetiks* 154:397-412.
- Laino, P., D. Shelton, C. Finnie, A.M. De Leonardis, A.M. Mastrangelo, B. Svensson, D. Lafiandra, and S. Masci. 2010. Comparative proteome analysis of metabolic proteins from seeds of durum wheat (cv. Svevo) subjected to heat stress. *J. Proteom* 10:2359-2368.
- Langridge P., Q. Yang, C. Dong, and K. Chalmers. 2000. From genome structure to pragmatic breeding of wheat and barley. In "Genomes" (*Eds.*) J. Perry Gustafson, Kluwer Academic. pp.197-209.
- Larkindale, J. and E. Vierling. 2008. Core genome responses involved in acclimation to high temperature. *Plant Physiol.* 146(2):748-761.

- Larkindale, J., J.D. Hall, M.R. Knight, and E. Vierling. 2005. Heat stress phenotypes of Arabidopsis mutants implicate multiple signalling pathways in the acquisition of thermo tolerance. *Plant Physiol.* 138:882-897.
- Liu, H.T., B. Li, Z.L. Shang, X.Z. Li, R.L. Mu, D.Y. Sun, and R.G. Zhou. 2003. Calmodulin is involved in heat shock signal transduction in wheat. *Plant Physiol.* 132:1186-1195.
- Maestri, E., N. Klueva, C. Perrotta, M. Gulli, H.T. Nguyen, and N. Marmioli. 2002. Molecular genetics of heat tolerance and heat shock proteins incereals. *Plant Mol. Biol.* 48: 667-681.
- Majoul, T., E. Bancel, E. Tribói, J.B. Hamida, and G. Branlard. 2003. Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: Characterization of heat-responsive proteins from total endosperm. *Proteomics* 3:175-183.
- Majoul, T., E. Bancel, E. Tribói, J.B. Hamida, and G. Branlard. 2004. Proteomic analysis of the effect of heat stress on hexaploid wheat grain: characterization of heat-responsive proteins from non-prolaminsfraction. *Proteomics* 4:505-513.
- Matthews, S.B., M. Santra, M.M. Mensack, P. Wolfe, and P.F. Byrne. 2012. Metabolite profiling of a diverse collection of wheat lines using ultra performance liquid chromatography coupled with time-off lightmass spectrometry. *PLoS One* 7(8):e44179. doi:10.1371/journal.pone.0044179.
- Mohammadi, V., A.A. Zali, and M.R. Bihamta. 2008. Mapping QTLs for heat tolerance in wheat. *J. Agric. Sci. Technol.* 10:261-267.
- Moreno-Risueno, M.A., W. Busch, and P.N. Benfey. 2010. Omics meet networks-using systems approaches to infer regulatory networks in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13(2):126-131.
- Nakashima, K., Y. Ito, and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiol.* 149(1):88-95.
- Nguyen, H.T., C.P. Joshi, N. Kluev, J. Weng, K.L. Hendershot, and A. Blum. 1994. The heat-shock response and expression of heat-shock proteins in wheat under diurnal heat stress and field conditions. *Aust. J. Plant Physiol.* 105521: 857-867.
- Paull, J.G., M.A. Pallotta, and P. Langridge. 1994. RFLP markers associated with Sr22 and recombination between chromosome 7A of bread wheat and the diploid species *Triticum boeoticum*. *Theor. Appl. Genet.* 89:1039-1045.
- Peter, L.M., E.S. Buckler, and J. Ross-Ibarra. 2012. Crop genomics: advances and applications. *Nature Reviews Genetiks* 13:85-96.
- Pabendon, M.B., Baharuddin, A. Adriani, Muzdalifah, T. Kuswinanti, M. Azrai, dan Soenartiningih. 2011. Karakterisasi molekuler koleksi plasma nutfah gandum menggunakan marka SSR. Laporan akhir Tahun 2011, Rintisan Penelitian Berbasis Marka Molekuler Tanaman Serealia (jagung, gandum, dan sorgum) untuk Perakitan Varietas Unggul. Badan Litbang Pertanian, Pusat Penelitian Tanaman Pangan, Balai Penelitian Tanaman Serealia.
- Poland, J.A., P.J. Brown, M.E. Sorrells, and J.L. Jannink. 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS ONE* 7:e32253. doi:10.1371/journal.pone.0032253.
- Qi, L.L. 2004. A chromosome bin map of 16,000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. *Genetiks* 168:701-712.

- Qin, F., M. Kakimoto, Y. Sakuma, K. Maruyama, Y. Osakabe, L.S. Tran, K. Shinozaki, and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2007. Regulation and functional analysis of ZmDREB2A in response to drought and heat stresses in *Zea mays* L.. *Plant J.* 50(1):54-69.
- Rafalski, J.A. 2002. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Sci.* 162:329-333.
- Rampino, P., G. Mita, S. Pataleo, S., Pascali, M.D., Fonzo, N.D., and C. Perrotta. 2009. Acquisition of thermo tolerance and HSP gene expression in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Environ. Exper. Bot.* 66 257-264.
- Rampino, P., G. Mita, P. Fasano, G.M. Borrelli, A. Aprile, G. Dalessandro, L. De Bellis, and C. Perrotta. 2012. Novel durum wheat genes up regulated in response to a combination of heat and drought stress. *Plant Physiol. Biochem.* 56:72-78.
- Reynolds, M.P. and N.E. Borlaug. 2006. Centenary review. Applying innovations and new technologies for international collaborative wheat improvement. *Journal of Agricultural Science* 144:95-110.
- Riley, R., V. Chapman, R.M. Young, and A.M. Belfield. 1996. Control of meiotic chromosome pairing by the chromosomes of homoeologous group 5 of *Triticum aestivum*. *Nature* 212:1475-1477.
- Rosegrant, M.W. and M. Agcaoili. 2010. International food policy research institute. Washington, D.C., USA.
- Safar, J., J. Bartos, J. Janda, A. Bellec, M. Kubalaková, M. Valarik, S. Pateyron, J. Weiserová, R. Tusková, J. Ciháliková, J. Vrana, H. Simková, P. Faivre-Rampant, P. Sourdille, M. Caboche, M. Bernard, J. Dolezel, and B. Chaloub. 2004. Dissecting large and complex genomes, flow sorting and BAC cloning of individual chromosomes from bread wheat. *Plant Journal* 39:960-968.
- Schöffl, F., R. Prandl, and A. Reindl. 1998. Regulation of the heat-shock response. *Plant Physiol.* 117:1135-1141.
- Sadat, S., K.A. Saeid, M.R. Bihamta, S. Torabi, S.G.H. Salekdeh, and G.A.L. Ayeneh. 2013. Marker assisted selection for heat tolerance in bread wheat. *World App. Sci. J.* 21(8):1181-1189.
- Seki, M., J. Ishida, M. Narusaka, M. Fujita, T. Nanjo, T. Umezawa, A. Kamiya, and M. Nakajima. 2002. Monitoring the expression pattern of around 7000 Arabidopsis genes under ABA treatments using a full-length cDNA microarray. *Funct. Integr. Genomics* 2:282-291.
- Sharma-Natu, P., K.V. Sumesh, and M.C. Ghildiyal. 2010. Heat shock protein in developing grains in relation to thermo tolerance for grain growth in wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 196:76-80.
- Shulaev, V., D. Cortes, G. Miller, and R. Mittler. 2008. Metabolomics for plant stress response. *Physiol. Plant* 2:199-208.
- Skylas, D.J., S.J. Cordwell, P.G. Hains, M.R. Larsen, D.J. Basseal, B.J. Walsh, C. Blumenthal, W. Rathmell, L. Copeland, and C.W. Wrigley. 2002. Heat shock of wheat during grain filling: Proteins associated with heat-tolerance. *J. Cereal Sci.* 35:175-188.
- Sumesh, K.V., P. Sharma-Natu, and M.C. Ghildiyal. 2008. Starch synthase activity and heat shock protein in relation to thermal tolerance of developing wheat grains. *Biol. Plant.* 52: 749-753.
- Syahruddin, K., A. Nur, dan M.B. Pabendon. 2015. Keragaman Genetik Segregan Gandum (*Triticum aestivum* L.) Hasil Persilangan Konvergen Berdasarkan Marka *Simple Sequence Repeat*. Laporan Akhir Tahun, Penelitian Berbasis Marka Molekuler

- (Jagung, Gandum, dan Sorgum) untuk Mendukung Perakitan Varietas Unggul Baru. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Puslitbang Tanaman Pangan. Balitbangtan. 2015.
- Timperio, A.M., M.G. Egidi, and L. Zolla. 2008. Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). *J. Proteomics* 71:391-411.
- Treglia, A., G. Spano, P. Rampino, E. Giangrande, G. Nocco, G. Mita, N. Di Fonzo, and C. Perrotta. 1999. Identification by in vitro translation and Northern Blot analysis of heat shock mRNAs isolated from wheat seeds exposed to different temperatures during ripening. *J. Cereal Sci.* 30:33-38.
- Tyagi, P.K., R.K. Pannu, K.D. Sharma, B.D. Chaudhary, and D.P. Singh. 2003. Post anthesis dry-matter accumulation and its partitioning in different wheat (*Triticum aestivum*) genotypes under varying growing environments. *Ind. J. Agron.* 49: 163-167.
- Urano, K., Y. Kurihara, M. Seki, and K. Shinozaki. 2010. 'Omics' analyses of regulatory networks in plant abiotic stress responses. *Curr. Opin. Plant Biol.* 13:132-138.
- Vierling, E. 1991. The roles of heat shock proteins in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 42:579-620.
- Vassos, E.J, A.R. Barr, and J.K. Eglinton. 2003. Genetic conversion of feed barley varieties to malting types. *Proc. Barley Technical/Cereal Chemistry Conf. (Eds.)*. Black and Panozzo, Adelaide, Australia, www.cdesign.com.au/bts2005/pages/Papers_2003/papers/087VassosE.pdf.
- Wang, W., B. Vinocur, O. Shoseyov, and A. Altman. 2004. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in abiotic stress response. *Trends Plant Sci.* 9:244-252.
- Wardlaw, I.F., I.A. Dawson, P. Manibi, and R. Fewster. 1989. The tolerance of wheat to high temperature during reproductive growth. I. survey procedures and general response patterns. *Aust. J. Agr. Res.* 40:1-13.
- Weng, J. and H.T. Nguyen. 1992. Differences in the heat-shock response between thermo tolerant and thermo susceptible cultivars of hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 84:941-964.
- Wong, C.E., Y. Li, A. Labbe, D. Guevara, and P. Nuin. 2006. Transcriptional profiling implicates novel interactions between abiotic stress and hormonal responses in *Thellungiella*, a close relative of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 140:1437-50.
- Xu, Y., C. Zhan, and B. Huang. 2011. Heat shock proteins in association with heat tolerance in grasses. *Intl. J. Proteomics*. DOI:10.1155/2011/529648.
- Yang, J., R.G. Sears, B.S. Gill, and G.M. Paulsen. 2002. Quantitative and molecular characterization of heat tolerance in hexaploid wheat. *Euphytica* 126:275-282.
- Zhu, M. and S. Zhao. 2007. Candidate gene identification approach: Progress and Challenges. *Int. J. Biol. Sci.* 3:420-427.
- Zivy, M. 1987. Genetic variability for heat shock proteins in common wheat. *Theor. Appl. Genet.* 74: 209-213.

