

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Mr Dragana N. Trkulja

ASOCIJATIVNA ANALIZA VEZE
AGRONOMSKIH OSOBINA I SSR LOKUSA
PŠENICE

doktorska disertacija

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

MSc Dragana N. Trkulja

ASSOCIATION ANALYSIS OF
AGRONOMICAL TRAITS AND SSR LOCI
OF WHEAT

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015.

MENTOR:

Dr Gordana Šurlan Momirović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Slaven Prodanović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Ankica Kondić Špika, naučni savetnik
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Dr Tomislav Živanović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Borislav Kobiljski, redovni profesor
Megatrend Univerzitet, Beograd

Datum odbrane:

Koristim priliku da se zahvalim

Dr Ljiljani Vapa, profesoru u penziji, kao i dr Dragani Obreht, redovnom profesoru sa Katedre za genetiku, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, na ukazanom poverenju da, još kao student, započnem rad na genetici pšenice,

Dr Borislavu Kobiljskom, mom prvom mentoru sa Instituta za ratarstvo i povrtarstvo i idejnom tvorcu ove doktorske disertacije, na uvek korisnim kritikama i savetima,

Kolegama oplemenjivačima sa Odeljenja za strna žita na ustupljenom materijalu i podacima fenotipske evaluacije,

Kolegamicama sa Odeljenja za biotehnologiju na divnoj saradnji,

Mentoru prof. dr Gordani Šurlan-Momirović i članovima komisije na korisnim savetima prilikom izrade disertacije.

Najveću zahvalnost dugujem roditeljima, sestri, supruhu i deci na podršci i strpljenju koje su mi pružili tokom izrade rada.

Ova doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta TR31066 „Savremeno oplemenjivanje strnih žita za sadašnje i buduće potrebe“ koji je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Asocijativna analiza veze agronomskih osobina i SSR lokusa pšenice

REZIME

Asocijativno mapiranje predstavlja relativno nov i perspektivan metod za rasvetljavanje genetičke osnove kompleksnih osobina. Zasniva se na korišćenju prirodnog genetičkog diverziteta i rekombinacija nastalih tokom evolucije određene biljne vrste, kako bi se detektovao broj i položaj gena koji determinišu osobinu od agronomskog značaja. Asocijativna analiza je izgrađena na konceptu gametske neravnoteže, odnosno neslučajnog vezanog nasleđivanja alela dva lokusa. Prednost ovog metoda u odnosu na tradicionalno mapiranje, bazirano na primeni mapirajućih populacija nastalih ukrštanjem dva genetički divergentna roditelja, jeste veća rezolucija mapiranja jer se pri analizi koristi materijal koji karakteriše veća polimorfnost alela i veći broj rekombinacija. Pored toga, ova metoda je i ekonomičnija jer nije potrebno dodatno vreme za stvaranje mapirajuće populacije.

U radu je primenom seta od trideset jednog mikrosatelitskog markera izvršena molekularna evaluacija 282 genotipa pšenice, koji predstavljaju deo genetičke kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu i poreklom su iz dvadeset šest zemalja sveta. Pored toga, analizirani su i podaci fenotipske evaluacije za navedeni materijal, koji su prikupljeni tokom pet vegetacionih sezona, od 1995. do 1999. godine, na lokalitetu Rimski Šančevi i to za sledećih jedanaest agronomski značajnih osobina: visina stabljike, dužina klasa, vreme klasanja i cvetanja, masa klasa, broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, masa zrna po klasu, broj zrna po klasu, masa 1000 zrna i prinos. Na osnovu podataka molekularne i fenotipske evaluacije odabranog materijala, izvršena je asocijativna analiza između navedenih agronomski važnih osobina i ispitivanih mikrosatelitskih lokusa. Ustanovljeno je ukupno 112 statistički značajnih veza marker-osobina, koje su bile zajedničke za opšti i mešoviti linearni model. Dva lokusa sa hromozoma 2AS, *Xbarc212* i *Xwmc177* bila su u vezi sa najvećim brojem agronomski značajnih osobina. *Xbarc212* bio je u vezi sa vremenom klasanja, vremenom cvetanja i brojem klasića po klasu. U okviru ovog lokusa alel od 215 bp determinisao je kasnije sazrevanje i veći broj klasića po klasu, dok je alel od 219 bp imao suprotan efekat na navedene osobine. Za mikrosatelitski marker *WMC177*

ustanovljena je asocijacija sa dužinom klasa, brojem klasića po klasu, brojem sterilnih klasića po klasu, masom klasa i masom zrna po klasu. Alel od 177 bp, detektovan u ovom lokusu, imao je pozitivan efekat na navedene osobine. Pored toga, markeri *WMC24* (1A), *GWM261* (2D), *BARC12* (3A), *WMC238* (4B), *WMC553* (6A) i *GWM297* (7B), su takođe bili u asocijaciji sa određenim osobinama ispitivanim u ovom radu, te se mogu koristiti pri marker asistiranoj selekciji u našem agroklimatskom regionu.

Ključne reči: agronomski značajne osobine, asocijativna analiza, mikrosatelitski markeri, pšenica

NAUČNA OBLAST: Biotehničke nauke

UŽA NAUČNA OBLAST: Genetika i oplemenjivanje

UDK broj: 575.113.1:633.11(043.3)

Association analysis of agronomical traits and SSR loci of wheat

ABSTRACT

Association mapping is relatively new and perspective method for genetic dissection of complex traits. Here, detection of number and location of genes for some agronomically important traits relies on occurring variation in diverse germplasm and on historical recombination events within some plant species. Association analysis is built on the basis of linkage disequilibrium concept, which is defined as the non-random co-segregation of alleles at two loci. The advantage of association mapping, compared with traditional quantitative trait mapping, based on mapping populations, is a relatively detailed mapping resolution. Besides that, this method is far less time consuming since no mapping populations need to be generated.

In this paper, thirty one microsatellite loci were used for molecular evaluation of 282 wheat genotypes originated from twenty six countries across five continents. These genotypes are part of core collection of Institute of Field and Vegetable Crops Novi Sad. Phenotypic data for eleven agronomically important traits (height, spike length, heading, flowering, spike weight, number of spikelets per spike, number of sterile spikelets per spike, grain weight per spike, number of grains per spike, thousand kernel weight and grain yield) of this germplasm were collected during five growing seasons, from 1995 to 1999 at locality Rimski Sancevi. According to association analysis based on data of molecular and phenotypic evaluation, 112 statistically significant associations were detected. These associations were common for general and mixed linear model. Two microsatellite loci from 2AS chromosome, Xbarc212 and Xwmc177 were associated with the greatest number of agronomically important traits. Xbarc212 was associated with heading, flowering and number of spikelets per spike. Within this locus allele of 215 bp contributed to later maturity and more spikelets per spike than allele of 219 bp. SSR marker WMC177 was associated with spike length, number of spikelets per spike, number of sterile spikelets per spike, spike weight and grain weight per spike, where allele of 177 bp had positive effect on all listed traits. Besides that, markers WMC24 (1A), GWM261 (2D), BARC12 (3A), WMC238 (4B), WMC553 (6A) and

GWM297 (7B) were also associated with some of traits analysed in this paper and could be used for marker assisted selection in our agro-climate region.

Key words: agronomically important traits, association analysis, microsatellite markers, wheat

SCIENTIFIC FIELD: Biotechnical Sciences

SPECIAL TOPIC: Genetics and Breeding

UDC number: 575.113.1:633.11(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	3
3. PREGLED LITERATURE.....	4
3. 1. Domestikacija pšenice	4
3. 2. Poreklo i struktura genoma heksaploidne pšenice.....	5
3. 3. Mikrosatelitski markeri.....	7
3. 4. Asocijativno mapiranje.....	14
3. 5. Osobine koje determinišu genetički potencijal za prinos pšenice	23
4. RADNA HIPOTEZA	28
5. MATERIJAL I METODE RADA.....	29
5. 1. Izbor materijala.....	29
5. 2. Molekularna analiza	30
5. 3. Fenotipska analiza	38
5. 4. Statistička obrada podataka	39
6. REZULTATI I DISKUSIJA.....	42
6. 1. Molekularna evaluacija.....	42
6. 1. 1. Polimorfnost ispitivanih <i>SSR</i> lokusa pšenice.....	42
6. 1. 2. Struktura ispitivane populacije pšenice	50
6. 1. 3. Alelna varijabilnost u potpopulacijama pšenice	57
6. 2. Fenotipska evaluacija	67
6. 2. 1. Deskriptivni statistički parametri.....	67
6. 2. 2. Analiza varijanse	68
6. 2. 3. Korelacije među ispitivanim osobinama pšenice	70
6. 3. Asocijativna analiza.....	74

6. 3. 1. Gametska neravnoteža	74
6. 3. 2. Veza marker-osobina - poređenje <i>GLM</i> i <i>MLM</i>	78
6. 3. 3. Analiza veze marker-osobina	80
6. 3. 4. Efekat alela	95
6. 3. 5. Značaj rezultata asocijativne analize pšenice	98
7. ZAKLJUČAK.....	101
8. LITERATURA	103
9. PRILOG.....	127

1. UVOD

Pre 12000 godina određena grupa ljudi prešla je sa lovačko-sakupljačkog načina života na gajenje biljaka i životinja kako bi osigurali opstanak u surovim uslovima spoljašnje sredine. Otkriće poljoprivrede dovelo je do brojnih promena u tadašnjem ljudskom društvu, poznatih pod nazivom Neolitska revolucija. Poljoprivreda je učvrstila sedelački način života, odnosno dovela do pojave prvih naselja, što je opet uzrokovalo društveno raslojavanje kao i razvoj tehnologija ključnih za opstanak ljudske civilizacije (Gopher et al., 2002; Salamini et al., 2002).

Kao jedna od osnovnih žitarica u ljudskoj ishrani, pšenica je oduvek zauzimala centralno mesto u poljoprivrednoj proizvodnji. Sam pojam Zelene revolucije, koja je započela četrdesetih godina prošlog veka u Meksiku i predstavlja niz mera koje su dovele do drastičnog porasta produktivnosti useva, vezan je za stvaranje visokoprinosa sorti pšenice (Borlaug, 2007). Prema podacima *FAO (Food and Agriculture Organization of United Nations)* u toku 2012. godine, pšenica se gajila na oko 215,5 miliona hektara, dok su kukuruz i pirinač zauzimali nešto manje obradive površine (oko 177,4, odnosno 163,2 miliona hektara). U istoj godini, po količini proizvodnje u svetu, nalazila se na trećem mestu (oko 671 miliona tona), iza kukuruza (oko 872 miliona tona) i pirinča (720 miliona tona) (www.faostat.fao.org).

Usled izrazitog porasta brojnosti ljudske populacije, koju danas čini oko 7,2 milijarde stanovnika u odnosu na 3 milijarde, koliko je bilo šezdesetih godina prošlog veka (www.worldometers.info) u vreme širenja dostignuća Zelene revolucije, postoji opravdana sumnja da sadašnji nivo produktivnosti najvažnijih agronomskih kultura, neće moći da zadovolji buduće potrebe svetskog tržišta. Stoga se javlja potreba za uvođenjem savremenih metoda biotehnologije, zasnovanih na primeni molekularnih markera, kao i novih pristupa u analizi složenog genoma pšenice, među kojima je i asocijativna analiza.

Marker asistirana selekcija (MAS), koja se bazira na primeni utvrđene i potvrđene veze između markera i gena od interesa, ima za cilj da u značajnoj meri poveća efikasnost pri stvaranju novih sorti, koje se odlikuju određenim agronomski

poželjnim osobinama, kao što su: otpornost na određene abiotičke i biotičke faktore, kvalitet (odgovarajući sadržaj proteina, masti, ugljenih hidrata) i visok genetički potencijal za prinos (Landjeva et al., 2007). Informacije dobijene primenom molekularnih markera, povećavaju kompleksnost oplemenjivačkih programa. Kao dodatak standardnim oplemenjivačkim procedurama (kao što su proizvodnja semena, setva u zaštićenim prostorima i poljskim ogledima, oprašivanje, sakupljanje fenotipskih podataka, žetva i analiza dobijenih podataka), oplemenjivanje zasnovano na primeni molekularnih markera, zahteva i analizu i tumačenje podataka genotipizacije i na kraju analizu veze molekularnih i fenotipskih podataka, kako bi se procenio značaj dobijenih rezultata za dalji rad (Eathington et al., 2007).

Asocijativno mapiranje predstavlja relativno nov i perspektivan metod za rasvetljavanje genetičke osnove kompleksnih osobina kod biljaka. Sam pristup se zasniva na korišćenju prirodnog genetičkog diverziteta i rekombinacija nastalih tokom evolucije određene biljne vrste, kako bi se detektovao broj i položaj gena koji determinišu osobine od agronomskog značaja. Asocijativna analiza je izgrađena na konceptu gametske neravnoteže, odnosno neslučajnog vezanog nasleđivanja alela dva lokusa. Prednost ovog pristupa u odnosu na tradicionalno mapiranje, bazirano na primeni mapirajućih populacija nastalih ukrštanjem dva genetički divergentna roditelja, jeste veća rezolucija mapiranja jer se pri analizi koristi materijal koji karakteriše veća polimorfnost alela i veći broj rekombinacija. Pored toga, ova metoda je i ekonomičnija jer nije potrebno dodatno vreme za stvaranje mapirajuće populacije (Ersoz et al., 2007, Hall et al., 2010).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj disertacije bio je:

- Da se primenom odabranog seta mikrosatelitskih markera izvrši molekularna evaluacija sorti i linija pšenice, koje predstavljaju deo genetičke kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, kako bi se ustanovila genetička varijabilnost materijala i njegov značaj pri oplemenjivanju na određene agronomski važne osobine.
- Da se izvrši statistička obrada podataka fenotipske evaluacije ispitivanih sorti i linija, koja se odvijala tokom pet vegetacionih sezona u pogledu sledećih agronomski važnih osobina: visina stabljike, dužina klasa, vreme klasanja i cvetanja, masa klasa, broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, masa zrna po klasu, broj zrna po klasu, masa 1000 zrna i prinos.
- Da se na osnovu rezultata molekularne i fenotipske evaluacije odabranog materijala izvrši asocijativna analiza između navedenih agronomski važnih osobina i ispitivanih mikrosatelitskih lokusa.

3. PREGLED LITERATURE

3. 1. Domestikacija pšenice

Filogenetsko razdvajanje najznačajnijih podfamilija trava, uključujući i *Pooideae*, nastupilo je pre oko 50 do 80 miliona godina. Tribusi *Triticeae* i *Poeae* divergirali su pre oko 35 miliona godina, rod *Hordeum* odvojio se od srodničke grupe *Triticum/Aegilops* pre oko 11, a *Secale* od istih predaka pre oko 7 miliona godina. Domestikacija nekoliko najvažnijih rodova strnih žita (*Triticum*, *Hordeum*, *Secale*, *Avena*) odvijala se u vremenskom okviru od 8 do 12 hiljada godina pre sadašnjice u takozvanom „Plodnom polumesecu“, regionu koji obuhvata doline reka Tigar, Eufrat i severno priobalje Nila (Kellog, 2001; Akhunov et al., 2003; Pozzi and Salamini, 2007). Ovaj proces započeo je konverzijom divljih trava (koje karakterišu sitna i raštrkano raspoređena semena) u žitarice, koje su neosetljive na dužinu trajanja dana i imaju krupna semena koja se ne rasipaju, usled razvoja čvrstog vretena klasa, što je neophodan preduslov za uspešnu setvu i kasniju žetvu (Pozzi et al., 2004; Peng et al., 2003). U toku domestikacije favorizovani su specifični aleli u okviru grupa tesno vezanih lokusa, poznatih pod nazivom *domestication syndrome factors–DSFs* (Le Thierry et al., 1999).

Einkorn ili jednozrna pšenica (*Triticum monococcum*), prva kultivisana vrsta pšenice, ima diploidan AA genom ($2n = 14$) i domesticirana je od svog divljeg pretka, *T. boeoticum* (Van Zeist et al., 1991). Kod ove vrste pšenice prvi put se javlja nekoliko osobina klasa veoma značajnih za povećanje produktivnosti. U odnosu na *T. boeoticum*, einkorn ima krupnija zrna i čvrsto vreteno klasa, što u značajnoj meri sprečava rasipanje zrna i olakšava žetvu. Iako je jednozrna pšenica zauzimala značajno mesto u neolitskoj poljoprivredi, danas predstavlja reliktnu žitaricu, koja se retko seje.

Sledeći važan korak u evoluciji današnje moderne poliploidne pšenice predstavlja domestikacija emer vrste, koja spada u grupu tetraploidnih pšenica ($2n = 28$), od svog divljeg pretka *T. dicoccoides*. Divlja emer pšenica ili dvozrna pšenica ima lomljivo vreteno klasa, koje se rasipa u klasiće koji nose relativno krupna zrna.

Domestikovana dvozna pšenica, *T. dicoccum*, kao i einkorn ima čvrsto vreteno klasa, ali se odlikovala krupnijim zrnima, koja su i dalje imala čvrsto sraslu plevu. Golozrna einkorn pšenica se takođe veoma retko sretala, pronađena je jedna linija u kolekciji botaničara *Petr M. Zhukovskii* (Salamini et al., 2002). Dvozna pšenica je bila jedna od najznačajnijih žitarica u Plodnom polumeseću sve do ranog bronzanog doba (Salamini et al., 2002; Pozzi and Salamini, 2007).

Pojava golozrnih formi pšenice, tetraploidne tvrde pšenice (*T. durum*) i heksaploidne hlebne pšenice (*T. aestivum*), predstavlja finalne korake u domestikaciji roda *Triticum*. Kod navedenih vrsta se prvi put sreću zajedno sve tri osobine, koje predstavljaju predispoziciju za uspešnu žetvu: krupno zrno, čvrsto vreteno klasa i glume koje se lako odvajaju od zrna (Salamini et al., 2002; Pozzi et al., 2004).

3. 2. Poreklo i struktura genoma heksaploidne pšenice

Promene u nivou ploidnosti genoma predstavljaju osnovu evolucije pšenice. Iako se *T. monococcum* ($A^m A^m$) ubraja među prve gajene vrste pšenice, A genom današnje heksaploidne pšenice vodi poreklo od *T. urartu* ($A^u A^u$), koja se pre nekih 300 do 400 hiljada godina, spontano u prirodi, ukrstila sa predstavnikom roda *Aegilops* iz sekcije *Sitopsis*, donorom B genoma. Novonastala vrsta *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* (divlja emer pšenica, $A^u A^u BB$) dala je današnje domesticirane tetraploidne varijetete, *T. turgidum* ssp. *durum* (golozrna) i *T. turgidum* ssp. *dicoccum* (sa sraslom plevom). U poređenju sa njima, heksaploidna pšenica, *T. aestivum* ($A^u A^u BBDD$) predstavlja mladu vrstu, nastalu pre oko 8 hiljada godina, kao posledica dodatne poliploidizacije između emer pšenice i diploidnog donora D genoma, *Ae. tauschii*. Imajući u vidu da se prirodna staništa *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* i *A. tauschii* ne preklapaju i nisu poznati divlji srodnici heksaploidne pšenice, u ovom procesu hibridizacije, tetraploidni partner je morala biti kultivisana emer pšenica, najverovatnije *T. turgidum* ssp. *dicoccum* (McFadden and Sears, 1946 navedeno u Pozzi et al., 2004), ukazujući na to da je heksaploidna pšenica nastala tek sa pojavom poljoprivrede (Pozzi et al., 2004; Petersen et al., 2006).

Proces aloploidizacije imao je značajnu ulogu za ubranu evoluciju genoma pšenice, uključujući i eliminaciju određenih jedinstvenih DNK sekvenci, aktivaciju ili inhibiciju specifičnih gena i aktivaciju retrotranspozona (Ozkan et al., 2001; Kashkush et al., 2002; He et al., 2003). Naime, prema McClintock (1984) spajanje dva genoma različitog porekla u jednom jedru, tokom formiranja aloploidida, predstavlja veliki „genomički šok“ na koji biljka odgovara različitim restrukturiranjem genoma. Novosintetisani aloploididi su često nestabilni, pokazujući određene aberacije u toku mejoze, koje dovode do nastanka potomstva sa širokim opsegom restrukturiranja genoma, uključujući delecije, translokacije, inverzije i duplikacije određenih hromozomskih segmenata ili čitavih hromozoma. Feldman i sar. (1997) su zaključili da postoje dva osnovna molekularna procesa koja obezbeđuju da se heksaploidna pšenica u toku mejoze ponaša kao diploidne forme: 1) neslučajna eliminacija DNK sekvenci i 2) sprečavanje parenja homeolognih hromozoma pomoću *Ph1* lokusa. Prvi fenomen imao je uticaja na povećavanje razlika između homeolognih hromozoma, sprečavajući na taj način rekombinaciju gena između hromozoma koji pripadaju različitim genomima.

Među poljoprivrednim kulturama, hlebna pšenica (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) ima najveći genom, oko 17×10^9 bp (baznih parova), sa prosečnom vrednosti od 810 Mb (mega baznih parova) po hromozomu (Arumuganathan and Earle, 1991). U odnosu na genom kukuruza, veći je 8 puta i čak 40 puta veći u odnosu na genom pirinča. Na usložnjavanje pšeničnog genoma, pored poliploidizacije, uticalo je i umnožavanje transpozona, zajedno sa duplikacijom određenih hromozomskih segmenata. Dok genom pirinča sadrži približno 22 procenta transpozona (Ma et al., 2004), a genom kukuruza oko 50 procenata (Whitelaw et al., 2003), oko 90 procenata pšeničnog genoma čine ponovljive DNK sekvence, od čega čak 70 procenata transpozona (Li et al., 2004). Mapiranjem delecionih linija (Gill et al., 1994, 1996a, 1996b) ustanovljeno je da su kod pšenice regioni genoma bogati genima (genski klasteri) razdvojeni dugačkim sekvencama visoko ponovljive DNK, koja sadrži nekodirajuće sekvence ili sadrži veoma mali broj gena. Distalni regioni hromozoma su bogati genima, dok se u proksimalnim delovima nalazi uglavnom mali broj gena (Werner et al., 1992; Miftahudin et al., 2004). Prema Akhunov i sar. (2003, 2010) jedna četvrtina svih motiva gena kod pšeničnog genoma, predstavljena je sa dva ili više dupliciranih lokusa, odnosno paralognih gena (geni koji su divergirali nakon duplikacije). Oni su ustanovili

da su lokusi nastali duplikacijom najčešće pozicionirani u distalnim regionima gde je visoka frekvencija rekombinacija, dok su predački lokusi detektovani proksimalno u odnosu na njih. Na osnovu toga je pretpostavljeno da je proces rekombinacije imao veoma važnu ulogu u evoluciji strukture genoma pšenice i da je gradijent stope rekombinacija duž kraka hromozoma podsticao znatno bržu evoluciju genoma u distalnim, visoko rekombinativnim, nego u proksimalnim regionima koje karakteriše niska učestalost rekombinacija. Na osnovu dosadašnjeg rada na sekvenciranju genoma pšenice, koji je započet u januaru 2005. godine, osnivanjem međunarodnog konzorcijuma za sekvenciranje genoma pšenice (*International Wheat Genome Sequencing Consortium – IWGSC*), procenjeno je da genom heksaploidne pšenice sadrži između 94 i 96 hiljada gena (Brenchley et al., 2012).

3. 3. Mikrosatelitski markeri

Mikrosatelitski markeri (Litt and Luty, 1989) predstavljaju segmente DNK molekula veličine od 1 do 6 baznih parova, koji se ponavljaju u nizovima (Tautz and Renz, 1984). Imajući u vidu da oko 90 procenata pšeničnog genoma čine ponovljive DNK sekvence (Li et al., 2004), ovi markeri su se pokazali kao veoma pogodna tehnika u različitim istraživanjima iz oblasti genetike i oplemenjivanja pšenice (Landjeva et al., 2007; Kalia et al., 2011). Ono što mikrosatelite izdvaja u odnosu na neke druge klase molekularnih markera, jeste njihova visoka varijabilnost, multialelna priroda, kodominantni način nasleđivanja, reproduktivnost, relativna raznovrsnost, široka rasprostranjenost u genomu (uključujući i genome organela), specifična lokacija na hromozomu, mogućnost za automatizaciju i visoko-produktivnu genotipizaciju (Parida et al., 2009). U tabeli 1. navedene su neke osnovne karakteristike različitih tipova molekularnih markera.

Uobičajeni nazivi za mikrosatelitske markere su još i jednostavne ponavljajuće sekvence (*SSR -simple sequence repeats*, Jacob et al., 1991), kratki tandemske ponovci (*STR – short tandem repeats*, Edwards et al., 1991) i polimorfnost dužine jednostavnih sekvenci (*SSLP – simple sequence length polymorphism*, Tautz, 1989). Na postojanje

mikrosatelita prvi su ukazali Hamada et al. (1982) kod različitih eukariota, od kvasaca do kičmenjaka. Tokom istraživanja koja su usledila od strane Delseny i sar. (1983) i Tautz i Renz (1984), ustanovljeno je njihovo prisustvo kod biljka. Genomi biljaka obiluju AT ponovcima, dok je kod životinja AC ponovak najučestaliji (Powell et al., 1996). Mikrosateliti su raspoređeni širom nuklearnog genoma kako u kodirajućim, tako i u nekodirajućim regionima. Pored toga, mogu se naći i u genomu hloroplasta (Chung et al., 2006) i mitohondrija (Rajendrakumar et al., 2007). *SSR* markere karakteriše mali broj ponovaka po lokusu (5 do 100), slučajna raspodela sa učestalošću od 10^4 do 10^5 po genomu i visok nivo polimorfnosti, kao posledica različitog broja ponovaka u mikrosatelitskim regionima. Zahvaljujući ovim osobinama, mikrosatelitski fragmenti se mogu lako detektovati pomoću lančane reakcije polimeraze, pri čemu se dobijeni rezultati mogu ponoviti sa jednakom efikasnošću. Ovi markeri su pogodni za visokoproduktivnu genotipizaciju i pokazali su se kao izuzetno korisna metoda za utvrđivanje očinstva, konstrukciju genomskih mapa visoke gustine, mapiranje korisnih gena, MAS, kao i za utvrđivanje genetičkih i evolucionih veza (Parida et al., 2009).

Tabela 1. Najvažnije karakteristike različitih tipova molekularnih markera (Kalia et al., 2011)

Karakteristike	Molekularni markeri			
	EST-SSRs	SSRs	RFLPs	RAPDs/AFLPs/ISSRs
Podaci o sekvenci	Neophodni	Neophodni	Nisu potrebni	Nisu potrebni
Nivo polimorfnosti	Nizak	Visok	Nizak	Nizak-srednji
Dominantnost	Kodominantni	Kodominantni	Kodominantni	Dominantni
Međuvrsna prenosivost	Visoka	Nisko srednja	Srednje visoka	Nisko srednja
Primena u MAS	Visoka	Visoka	Srednja	Nisko srednja
Troškovi sinteze	Niski	Visoki	Visoki	Nisko srednji

SSR markeri se mogu klasifikovati u odnosu na njihovu veličinu, tip ponovka i lokaciju unutar genoma. Imajući u vidu broj nukleotida po jedinici ponovka, razlikujemo mono-, di-, tri-, tetra-, penta- i heksanukleotidne mikrosatelite. U zavisnosti od rasporeda nukleotida u ponavljajućim motivima, Weber (1990) koristi termine savršeni, nesavršeni i složeni mikrosateliti, dok Wang i sar. (2009a) dele mikrosatelite na jednostavne savršene, jednostavne nesavršene, složene savršene i složene nesavršene.

Savršeni ponovci se sastoje od pojedinačnog motiva koji se ponavlja, dok su kod nesavršenih motivi koji se ponavljaju prekinuti na određenom mestu motivima koji se ne ponavljaju. Kod složenih *SSR* markera, dva osnovna ponavljajuća motiva su prisutna zajedno u različitim konfiguracijama. Pored ovih termina mogu se sresti i pojmovi čisti i ometeni (Jarne and Lagoda, 1996), za savršene, odnosno nesavršene motive (Kalia et al., 2011).

Najveći procenat genomskih mikrosatelita predstavljaju jedarni *SSR* markeri (*nuSSR*), a razlikujemo još i mitohondrijalne (*mtSSR*) i hloroplastne (*cpSSR*) mikrosatelite. Zahvaljujući uniparentalnom nasleđivanju, *cpSSR* mikrosateliti su našli primenu u proučavanju varijabilnosti kod biljaka, kao i protoku gena u prirodnim populacijama (Provan et al., 2001).

Evolucija SSR lokusa

Evolucija mikrosatelitskih markera, odnosno svaka promena u *SSR* lokusima koja ima za posledicu povećanje ili smanjenje broja ponovaka, povezana je sa stopom mutacije. Stvaranje mikrosatelita je jedan evolutivno dinamički i složen proces. Moguća objašnjenja za njihov nastanak uključuju greške u toku replikacije DNK molekula, nejednake rekombinacije, zakazivanje mehanizma za otklanjanje grešaka prilikom replikacije i retrotranspozicija.

U toku umnožavanja DNK molekula može se desiti da DNK polimeraza III „sklizne“ niz ili uz matrični lanac u ponavljajućem regionu, tako da se novosintetisani lanac skрати ili produži (Wang et al., 2009 a). Ovakav tip grešaka se uglavnom otklanja pomoću mehanizama za reparaciju, tako da stabilnost *SSR* lokusa zavisi od balansa između grešaka prilikom replikacije i efektivnosti sistema za reparaciju. Za podjednaku distribuciju mikrosatelita veoma je značajna i ravnoteža između grešaka prilikom replikacije i tačkastih mutacija. Prva pojava favorizuje rast, dok tačkaste mutacije „razbijaju“ dugačke nizove ponovaka u dva ili više kraćih. Na taj način promena u relativnoj učestalosti navedenih pojava, može imati direktan uticaj na raspored mikrosatelita u genomu (Li et al., 2002), odnosno veći udeo grešaka pri replikaciji u odnosu na tačkaste mutacije ima za posledicu nastanak dužih mikrosatelitskih

fragmenata. Ustanovljeno je da stvaranje mikrosatelita može biti nuspojava prilikom retrotranspozicije. Retrotranspozoni predstavljaju visoko ponovljive fragmente DNK koji nastaju reverznim prepisivanjem bilo kog RNK molekula. Parida i sar. (2009) su utvrdili da 23,1 % *SSR* lokusa u genomu šećerne trske imaju značajnu homologiju sekvenci sa retrotranspozonomima i predložili potencijalnu primenu datih fragmenata kao izvor za sintezu polimorfne klase genetičkih markera. Pretpostavlja se da su insercija i akumulacija retrotranspozona između gena imale značajan udeo u uslozňjavanju biljnih genoma.

Učestalost svake od navedenih pojava zavisi u određenoj meri i od uslova spoljašnje sredine. Na stopu mutacija *SSR* lokusa mogu uticati različiti faktori, kao što su: struktura motiva koji se ponavlja, dužina sekvence, pozicija na hromozomu, sadržaj GC nukleotida u bočnim regionima, ćelijski ciklus (mitoza ili mejoza), pol, genotip itd. Pri proučavanju mikrosatelitskog diverziteta divlje emer pšenice, ustanovljena je jaka interakcija, između srednje vrednosti dužine ponovaka i udaljenosti *SSR* lokusa od centromere s jedne strane, i broja alela i varijabilnosti u veličini ponovaka u *SSR* lokusima, s druge strane (Li et al., 2002).

Zastupljenost i funkcija mikrosatelita u genomu

Na osnovu brojnih istraživanja pokazano je da *SSR* fragmenti čine značajnu frakciju nekodirajuće DNK. Međutim, određeni autori impliciraju da je nezanemarljivi deo mikrosatelita lociran u delovima genoma koji se transkribuju, uključujući gene koji kodiraju ekspresiju proteina, iako je broj ponovaka u ovim regionima neuporedivo manji (Marcotte et al., 1999; Li et al., 2004; Sonah et al., 2011). Tako je kod žitarica 1,5 do 7,5 % *SSR* markera locirano unutar *EST* (*expressed sequence tag*) sekvenci (Thiel et al., 2003). Dinukleotidni motivi su najčešće zastupljeni kod većine vrsta, sem kod primata gde dominiraju mononukleotidni (Toth et al., 2000). Pretpostavlja se da su lokusi sa većim ponavljajućim jedinicama izloženi jačem selekcionom pritisku prema promeni dužine fragmenata, naročito u regionima genoma koje karakteriše veća učestalost rekombinacija (Samadi et al., 1998). Pored toga uočeno je i da su u egzonima većine organizama najučestaliji trinukleotidni ponovci što može biti posledica supresije drugih tipova ponovaka u kodirajućim regionima kako ne bi došlo do promene okvira

čitanja gena (Li et al., 2004). Kod biljaka najdominantniji tripleti su AAG (Li et al., 2004), iako se kod žitarica najčešće sreću CCG motivi (Thiel et al., 2003), što je specifična pojava za sve monokotiledone biljke i može biti u vezi sa visokom frekvencijom određenih aminokiselina. Dikotiledone biljke imaju više mono-, a monokotiledone više trinuklotidnih motiva (Lawson and Zhang, 2006).

Položaj *SSR* markera u genomu determiniše njegovu ulogu i u skladu sa tim mikrosateliti imaju potencijal da utiču na regulaciju aktivnosti gena, evoluciju i razvoj gena. Ukoliko su locirani u kodirajućim regionima mogu da utiču na ekspresiju gena. Prema Li i sar. (2002) mikrosatelitske sekvence omogućavaju formiranje različitih vidova neuobičajenih DNK struktura u vidu jednostavnih, ali i složenijih petlji koje mogu imati uticaja na regulaciju ekspresije gena. U nekodirajućim segmentima, npr. 5'UTR regionima ili intronima, mikrosateliti mogu da regulišu transkripciju gena (Lawson and Zhang, 2006). Prisustvo *SSR* lokusa u ovim regionima je neophodno za ekspresiju određenih gena pri čemu broj ponovaka predstavlja ključan faktor u nivou ekspresije gena. Ekspresija nekih gena je čak uslovljena specifičnim brojem ponovaka (Liu et al., 2000). Širenje *SSR* ponovaka u intronima i 3'UTR sekvencama može da dovede do gubljenja funkcija gena. Svako smanjenje ili povećanje broja ponovaka unutar gena može na kraju da utiče na promene u fenotipu (Li et al., 2004), što kod ljudi može da se odrazi u vidu veoma ozbiljnih oboljenja. Zabeleženo je više od 40 neuroloških, neurodegenerativnih i neuromuskularnih poremećaja kod ljudi, koji su uzrokovani nestabilnošću tandemskih ponovaka (Orr and Zoghbi, 2007). S druge strane, funkcija gena koji sadrže *SSR* motive kod biljaka je slabije istražena. Tako npr. kod kukuruza mikrosatelitski motiv (CCG)_n u 5'UTR sekvenci gena za ribozomalne proteine, ima uticaja na regulaciju oplodnje (Dresselhaus et al., 1999), a kod pirinča sadržaj amiloze je u korelaciji sa variranjem broja GA ili CT ponovaka u 5'UTR regionu gena koji kodira sintezu voska (Bao i sar., 2002).

Primena SSR markera u oplemenjivanju pšenice

Od svog otkrića krajem osamdesetih godina prošlog veka, mikrosatelitski markeri su jedna od najčešće korišćenih tehnika pri analizi pšeničnog genoma. Uprkos ubrzanom razvoju novih tehnika za genotipizaciju genoma, gde se najviše ističu *SNP*

(*single nucleotide polymorphism*) markeri, primena ovih ekonomičnih i visoko polimorfnih markera i dalje raste, podstaknuta novim tehničkim dostignućima, kao što su razvoj multipleks *PCR* (*polymerase chain reaction*) metoda i novih tehnika za sekvenciranje genoma (*next generation sequencing*; Guichoux et al., 2011).

Genotipizacija ili DNK fingerprinting (metoda otiska prsta), predstavlja tehniku koja se koristi za karakterizaciju i poređenje sekvenci bilo kojih organizama. Podaci dobijeni fingerprintingom mogu da se koriste za identifikaciju individua u populaciji, razlikovanje individua prilikom stvaranja inbred linija ili detekciju genetičkih distanci između genotipova uopšteno. Ove metode mogu da se koriste za proveru čistoće semenskog materijala, za utvrđivanje identiteta sorte i kasnije zaštitu intelektualne svojine oplemenjivača, odnosno određene semenske kompanije. U širem smislu, genotipizacija omogućava utvrđivanje nivoa genetičkog diverziteta, što je veoma bitno za oplemenjivače jer predstavlja osnovu za selekciju superiornih roditeljskih kombinacija. Potreba za novim genetičkim kombinacijama je stalno prisutna kako bi se odgovorilo na različite izazove prirode, kao što su klimatske promene, varijabilnost u rasnom sastavu patogena i nedostatak esencijalnih nutritijenata (Landjeva et al., 2007). Informacija o nivou genetičke varijabilnosti i promenama u diverzitetu tokom vremena, mogu da doprinesu efikasnoj konzervaciji, upravljanju i racionalnom korišćenju izvora germplazme, kako bi se sprečila genetička erozija. Mikrosateliti su veoma široko primenjivani pri komparativnim genetičkim studijama u mnogim zemljama, kako bi se ustanovio diverzitet nacionalnih genetičkih resursa pšenice (Ahmad, 2002; Kobiljski et al., 2002b; Khlestkina et al., 2004, Fu et al., 2005) ili kolekcija u bankama gena (Roussel et al., 2005; Orford et al., 2006). Rezultati navedenih istraživanja ukazali su pre svega na kvalitativne promene u genetičkom diverzitetu tokom vremena. Promene u alelnoj kompoziciji su rezultat kako gubitka alela, prisutnih u divljim srodnicima i izvornoj germplazmi, tako i uvođenja novih alela u moderne sorte. Evaluacijom mikrosatelitskog polimorfizma, dobijeni su različiti modeli promena u kompoziciji alela po lokusu: povećanje ili smanjenje broja alela, dominacija različitih alela i slučajne promene tokom vremena, odnosno aleli prisutni u staroj gerplazmi bili su sporadično prisutni u modernim sortama (Landjeva et al., 2007).

Zahvaljujući visokom nivou polimorfnosti i rasprostranjenosti, *SSR* markeri su našli široku primenu u mapiranju genoma pšenice. Prva detaljna mapa za 279 mikrosatelitskih lokusa objavljena je 1998. godine (Röder et al., 1998), a nakon toga usledio je čitav niz publikacija u kojima su predstavljene mape novih mikrosatelitih lokusa. Stephenson i sar. (1998) su objavili mapu za 53, Gupta i sar. (2002) za 66, Somers i sar. (2004) za 1235, Song i sar. (2005) za 540 novih mikrosatelita. Pored toga, veliki je broj radova gde je prilikom mapiranja kombinovano nekoliko tehnika molekularnih markera, među kojima i *SSR* markeri (Paillard et al., 2003; Quarrie et al., 2005; Li et al., 2007; Chu et al., 2008; Saintenac et al., 2013). Većina navedenih mikrosatelita razvijena je iz totalne genomske DNK. Određeni broj *SSR* markera identifikovan je i iz mikrosatelitskih motiva unutar *EST* sekvenci (Gao et al., 2004; Yu et al., 2004; Peng and Lapitan, 2005). Mikrosatelite razvijene iz *EST* sekvenci odlikuje visoka konzervativnost, te se mogu primenjivati pri analizi veoma raznovrsne germplazme, dok su s druge strane znatno manje polimorfni od markera nastalih iz totalne genomske DNK (Ganal and Röder, 2007).

Stvaranje genetičkih mapa predstavlja osnovu za mapiranje gena koji kontrolišu ekspresiju agronomski važnih osobina. Poslednjih desetak godina determinisana je lokacija velikog broja gena u okviru specifičnih hromozoma, hromozomskih kraka ili regiona. Lista molekularnih markera za specifične gene i *QTL*-e (*Quantitative Trait Loci* – lokusi za kvantitativne osobine) može se naći u Katalogu za genske simbole pšenice (*Catalogue of Gene Symbols for Wheat*) (McIntosh et al., 2012, www.shigen.nig.ac.jp). Navedena lista uključuje major gene koji kontrolišu otpornost na prevalentne bolesti pšenice i gene koji determinišu razvoj određenih morfoloških osobina, kao i gene za kompleksne osobine kao što su prinos i komponente prinosa pšenice. Na osnovu velikog broja istraživanja, razvijeni su *SSR* markeri koji su u vezi sa veoma značajnim major genima kao što su: geni za otpornost na lisnu rđu, pepelnicu, žutu rđu, sivu pegavost lista pšenice, geni za otpornost na štetočine, geni za visinu stabljike, geni za vernalizaciju, za oblik i boju glume i dlakavost lišća pšenice, geni za kvalitet proteina. Pored toga, detektovan je i veliki broj mikrosatelita koji su u vezi sa lokusima za kvantitativne osobine, kao što su: otpornost na lisnu i žutu rđu, pepelnicu i fuzarijum, tolerantnost na aluminijum, prežetveno proklijavanje semena, visok sadržaj proteina i prinos i komponente prinosa (Landjeva et al., 2007; Randhawa et al., 2013).

Razvoj mikrosatelitskih markera vezanih za agronomski značajne osobine pšenice predstavlja uvod za njihovu primenu u stvaranju sorti poboljšanih karakteristika. Markerima asistirano oplemenjivanje omogućava oplemenjivačima pšenice da unose/piramidiraju gene od interesa u linije i da identifikuju gene i/ili lokuse za kvantitativne osobine u germplazmi koja će biti korišćena za izbor roditelja. Ovaj pristup pruža mogućnost za unapređenje odgovora na selekciju jer se molekularni markeri mogu primeniti ranije u životnom ciklusu biljke (npr. u gametskoj selekciji u F1 generaciji, u fazi klijanaca). Iako se može primeniti u bilo kojoj generaciji razdvajanja, MAS se najčešće primenjuje u ranim generacijama kako bi se početni materijal „obogatio“ poželjnim alelima (Kobiljski, 2002a).

Primena tehnologije dihaploida (DH) u oplemenjivačkim programima pšenice značajno je ubrzala proces stvaranja novih sorti, naročito kod ozime pšenice, gde je postizanje dva oplemenjivačka ciklusa po godini otežano zbog poteškoća pri imitiranju uslova neophodnih za jarovizaciju. Danas je uobičajena praksa primene mikrosatelitskih markera za analizu potencijalnih roditelja pre nego što se pristupi samoj proizvodnji DH linija, a kasnije dobijene haploidne linije su podvrgnute MAS pre udvajanja hromozoma, kako bi se osigurao „ostanak“ gena od interesa sa jedne strane i odbacivanje nepoželjnih genotipova sa druge strane (Randawa et al., 2013).

3. 4. Asocijativno mapiranje

Stvaranje sorti koje se odlikuju visokim potencijalom za prinos predstavlja jedan od osnovnih ciljeva pri oplemenjivanju pšenice. Ovaj proces je u značajnoj meri otežan jer se radi o kvantitativnoj osobini, koja je determinisana velikim brojem gena i nalazi se pod značajnim uticajem faktora spoljašnje sredine. Sa detekcijom korisnih genetičkih markera, omogućeno je povezivanje određenih genomskih regiona, koji sadrže ove markere, sa varijacijom u kompleksnim osobinama. Kod mapiranja lokusa za kvantitativne osobine, rane generacije ukrštanja (F₁ ili F₂) se koriste za raščlanjivanje kvantitativne varijabilnosti, na osnovu razdvajanja individua u odnosu na generaciju roditelja. *QTL* mapiranje se pokazalo kao izuzetno korisno pri identifikaciji genomskih

regiona koji determinišu određene kvantitativne osobine kod velikog broja biljnih vrsta (Holland, 2007). Međutim, ovaj pristup ima brojne nedostatke. Kao prvo, alelna varijabilnost kod svakog ukrštanja je ograničena jer su tipično dva roditelja korišćena za stvaranje mapirajuće populacije. Drugo, pošto se analiziraju rane generacije ukrštanja, broj rekombinacija po hromozomu je uglavnom mali, ograničavajući rezoluciju genetičkih mapa. Tipičan *QTL* identifikovan iz populacije koja sadrži nekoliko stotina potomaka, može da obuhvati od nekoliko do par desetina cM (centimorgana), što odgovara genomskom regionu od nekoliko mega baznih parova (bp – *base pairs*). Ovako veliki regioni uglavnom sadrže nekoliko stotina gena, tako da je sam proces identifikacije odgovornog gena, putem tehnika kao što je kloniranje zasnovano na mapiranju, izuzetno mukotrpan i neekonomičan (Price, 2006). Pored toga, za mnoge organizme stvaranje mapirajućih populacija ili nije moguće (npr. u ljudskoj populaciji) ili traje veoma dugo, npr. kod većine vrsta drveća (Hall et al., 2010).

Asocijativno ili *LD* (*linkage disequilibrium* – gametska neravnoteža) mapiranje predstavlja nov pristup pri determinaciji genetičke osnove kompleksnih osobina. Zasniva se na korišćenju evidentne varijabilnosti u germplazmi različitog porekla, koja je značajno veća u odnosu na mapirajuće populacije. Pored toga, postojeće rekombinacije su se prirodno javile tokom evolucione istorije, tako da su blokovi vezanih gena značajno manji u asocijativnoj, u poređenju sa *QTL* mapirajućom populacijom, što u velikoj meri utiče na povećanje rezolucije mapiranja (Nordborg and Tavaré, 2002). Dok je linkidž analiza bazirana na detekciji neslučajnih veza, između genotipa i fenotipa u populacijama potomstava nastalih ukrštanjem najčešće dve genetički divergentne sorte, asocijativno mapiranje se fokusira na utvrđivanje veza u okviru populacija nesrodnih individua. Drugim rečima, vremenski period do prvog zajedničkog pretka bilo koje dve individue iz populacije nesrodnih individua, biće duži nego u populacijama srodnika. To je ono što *LD* mapiranje čini pogodnijim za „finije“ mapiranje: što je veći broj generacija, veća je i verovatnoća da se doći do rekombinacija genetičkog materijala u okviru date vrste, dok se u okviru mapirajućih populacija javlja svega nekoliko generacija razmene materijala u okviru homologih hromozoma. Porast u stopi rekombinacija dovodi do pregrupisavanja hromozomskih segmenata, a kao posledica dolazi do redukcije *LD* u okviru malih razdaljina u odnosu na lokus od značaja, čime je povećana rezolucija mapiranja. Poređenja radi, kod

mapirajućih populacija, u nekoliko generacija dolazi do krosing-overa koji rezultira u razmeni genetičkog materijala reda nekoliko megabaza, dok se u materijalu kod asocijativnih studija radi o rekombinacijama segmenata merenih u kilobazama (Ersoz et al., 2007).

Gametska neravnoteža

Termin gametska neravnoteža je prvi put uveden u literaturu kasnih 40-ih godina prošlog veka, kako bi se opisao stepen neslučajnih veza između dva lokusa. U cilju definisanja stepena zajedničke pojave alela u dva proučavana lokusa, uveden je parametar r^2 (Hill and Robertson, 1968). Kada je r^2 nula, određeni aleli u dva proučavana lokusa se ne pojavljuju češće nego što se očekuje pri slučajnom uzorkovanju. Ovaj parametar dostiže svoju maksimalnu vrednost od 1, kada se aleli u proučavanim lokusima znatno učestalije javljaju zajedno u okviru ispitivane populacije. Postoje i neki drugi parametri u okviru linkidž disekvilibrijum statistike, koji se koriste za predviđanje stepena vezanosti alela određenih lokusa, ali u svakom slučaju, ukoliko *LD* statistika ima vrednost nula, dati lokusi nisu vezani (Hedrick, 1987). Asocijativno mapiranje koristi *LD* statistiku, kako bi se predvidela veza određenog marker lokusa sa genom koji utiče na variranje ispitivane fenotipske osobine. Ukoliko je *LD* u okviru datog genomskog regiona kompletan, svaka polimorfnost u ovom segmentu imaće postojanu predviđenu fenotipsku vrednost. Kao rezultat značajne veze marker-fenotip, može se zaključiti da je dobijena varijabilnost svojstvena za dati *LD* region oko marker lokusa (Ersoz et al., 2007).

Obim *LD* (u baznim parovima) u okviru vrste pa čak i individualnih genoma je visoko varijabilan i stoga je najpouzdanije da se određuje empirijski (Long and Langley, 1999). Teorijska procena nivoa *LD* za modele realnih populacija, koje ne zadovoljavaju predviđanja *Wright-Fisher*-ovog modela (koji podrazumeva da se generacije međusobno ne preklapaju) je složena. Poteškoće se javljaju usled velikog broja međusobno povezanih faktora koji utiču na formiranje obrasca *LD*, uključujući genetički drift, protok gena i prirodnu selekciju (Wall and Pritchard, 2003). Statistička moć u proceni asocijacija, određena je obimom *LD* u odnosu na uzorkovani polimorfizam, kao i veličinom analiziranog uzorka (Wang and Rannala, 2005). Ukoliko

LD opada suviše brzo u okviru regiona, potreban je veći broj markera kako bi se detektovao ciljni segment genoma. S druge strane ukoliko *LD* opada suviše sporo sa veličinom uzorka, veličina blokova haplotipa biće suviše velika za nedvosmisleno determinaciju lokusa koji kontroliše određeno osobina od agronomskog značaja. Drugim rečima, stopa opadanja *LD* u okviru određenog segmenta genoma u proučavanoj populaciji, određuje potrebnu „gustinu“ markera i nivo rezolucije koja će se dobiti u datoj asocijativnoj analizi (Ersoz et al., 2007).

Kao što je napred navedeno, za definisanje *LD* koristi se nekoliko pokazatelja. Najčešće korišćeni parametar je r^2 , gde je r Pirsonov koeficijent korelacije, koji opisuje predviđenu pojavu određene alelne forme u jednom polimorfnom lokusu, sa određenom alelnom formom u drugom polimorfnom lokusu, a r^2 kvadrirana vrednost koeficijenta korelacije, koja se još naziva koeficijent determinacije (Hill and Robertson, 1968). Drugi pokazatelj koji se uobičajeno primenjuje je *Lewontin*-ova D vrednost (Lewontin, 1964). Parametar D je mera odstupanja dobijenih, od očekivanih gametskih frekvencija haplotipa, odnosno mera odstupanja od gametskog ekvilibrijuma.

$$D = P_{AB} - P_A P_B,$$

gde je P_{AB} učestalost gameta koji nosi alele A i B u dva lokusa, a P_A i P_B frekvencije alela A, odnosno B. U odsustvu drugih faktora, rekombinacijom kroz slučajno ukrštanje individua, razbija se gametska neravnoteža prema $D_t = D_0 (1 - r)^t$, gde je D_t preostali *LD* između dva lokusa posle t generacija slučajnog ukrštanja, od originalne D_0 vrednosti (Zhu et al., 2008).

Izbor odgovarajuće *LD* statistike zavisi od objekta istraživanja. Kod biljaka, većina *LD* mapirajućih istraživanja koristi parametar r^2 za kvantifikaciju gametske neravnoteže jer se na osnovu njega može proceniti korelacija između određenog markera i *QTL*-a od agronomskog značaja (Gupta et al., 2005). Tipično, vrednosti r^2 od 0,1 ili 0,2 smatraju se za prag značajnosti asocijacije između proučavanih parova lokusa i opisuju maksimalnu genetičku ili fizičku distancu pri kojoj je *LD* značajan (Zhu et al., 2008).

Faktori koji utiču na gametsku neravnotežu

Faktori koji utiču na gametsku neravnotežu mogu se podeliti u dve osnovne grupe. U prvu grupu svrstavaju se biološki faktori, kao što su: rekombinacije, sistem oplodjenja i varijabilnost ispitivane germplazme. Uočeno je da pojedini regioni humanog genoma pokazuju stopu rekombinacije koja značajno odstupa od prosečne stope. Ovakvi regioni nazvani su „vruća“ (engl. *hotspots*) ili „hladna“ mesta (engl. *coldspots*) usled visoke, odnosno niske stope razmene genetičkog materijala. Ustanovljeno je da je *LD* u korelaciji sa lokalnom stopom rekombinacije, na koju utiču faktori kao što su sadržaj GC baza ili „gustina“ gena (Dawson et al., 2002). Intrahromozomska *LD* varijacija uočena je i u genomima ječma, kukuruza, paradajza i hlebne pšenice (Malysheva-Otto et al., 2006; Robbins et al., 2011; Yan et al., 2009; Zhang et al., 2010), gde je varirala između vrednosti manje od jednog do trideset cM.

Kod samooplodnih vrsta redukuje se mogućnost efektivnih rekombinacija jer individue karakteriše veći stepen homozigotnosti, nego kod stranooplodnih vrsta. Kao rezultat očekuje se da je *LD* postojan u okviru većih genetičkih ili fizičkih distanci, dok je kod stranooplodnih vrsta ostvarena viša rezolucija, koja omogućuje finije mapiranje i olakšava kloniranje kandidat gena (Flint-Garcia et al., 2003).

Odabir germplazme ima ključnu ulogu u varijaciji *LD* vrednosti, koja je pod direktnim uticajem nivoa genetičke varijabilnosti zahvaćene ispitivanim uzorkom. Radi ilustracije može se navesti primer kod kukuruza, gde je *LD* u okviru 1 kb (kilo baza) kod lokalnih populacija, oko 2 kb kod različitih inbred linija i čak do nekoliko stotina kb kod komercijalnih elitnih inbred linija (Jung et al., 2004).

U drugu grupu faktora od kojih zavisi vrednost *LD*, svrstavaju se određeni evolucionari činioci: selekcija, struktura populacije, genetički drift, populaciono usko grlo (engl. *bottleneck*) i protok gena. Ukoliko su aleli u dva lokusa u gametskoj neravnoteži i ako oba pozitivno utiču na reproduktivnu sposobnost individua, odgovor na selekciju jednog lokusa ubrzan je selekcijom drugog lokusa. Tako će pozitivna selekcija povećati *LD* između i u neposrednoj okolini odabranog lokusa, uzrokujući fenomen poznat pod nazivom genetičko autostopiranje (engl. *genetic hitchhiking*; Slatkin, 2008). Čak i u slučaju da je drugi lokus selektivno neutralan, odabir prvog lokusa povećaće *LD* među njima. Veštačka selekcija je takođe imala dramatične efekte na *LD*. Kod većine biljnih

kultura, uočeni su mozaici velikih *LD* blokova, naročito u regionima koji nose gene za agronomski značajne osobine. Domestikacija praćena intenzivnom selekcijom na specifične uslove spoljašnje sredine i određene osobine kvaliteta, modifikovala je genomsku arhitekturu kod mnogih žitarica, redukujući genetički diverzitet i stvarajući određenu strukturu populacije, koja u značajnoj meri utiče na statističku validnost kod asocijativnog mapiranja (Soto-Cerda et al., 2012).

Populaciona struktura, javlja se usled nejednake distribucije alela među potpopulacijama koje potiču od različitih predaka (Balding, 2006). Kada se ove grupe uzorkuju kako bi se kreirao panel linija za asocijativno mapiranje, namernim ili slučajnim mešanjem individua sa različitim frekvencijama alela, stvara se prividni *LD*. Značajni *LD* između nevezanih lokusa utiče na stvaranje lažno-pozitivnih veza između markera i osobine. U cilju ilustracije može se navesti sledeći primer. Pretpostavimo da su u jednoj populaciji fiksirani *A* i *B* aleli u dva lokusa, dok su u drugoj fiksirani *a* i *b* aleli. Mešavina individua ove dve potpopulacije sadržaće samo *AB* i *ab* haplotipove, ukazujući da su oni u savršenoj gametskoj neravnoteži, što u stvarnosti nije slučaj (Slatkin, 2008). Po definiciji, mora da postoji polimorfizam u dva ili više lokusa kako bi se procenio nivo *LD*. U prethodno navedenom primeru, oba lokusa su monomorfna u potpopulacijama iz kojih potiču. Međutim, kada se individue pomešaju, u novostvorenim veštačkim populacijama, detektuje se najpre lažni polimorfizam i kao posledica značajan, ali isto tako lažni *LD*. U cilju otklanjanja ovakvih grešaka, predloženo je nekoliko statističkih modela, koji u obzir uzimaju potencijalne efekte populacione strukture. Jedan od najčešće korišćenih je algoritam koji je implementiran u softver *STRUCTURE* (Pritchard et al., 2000).

Kao rezultat genetičkog drifta, odnosno slučajnih promena učestalosti alela kroz generacije, u malim populacijama dolazi do gubitka retkih alelnih kombinacija i porasta *LD* (Flint-Garcia et al., 2003). Gametski disekvilibrijum se javlja i u populacijama koje su pretrpele značajnu redukciju veličine (populaciono usko grlo), gde neminovno dolazi i do ekstremnog genetičkog drifta. Nakon smanjenja broja individua, neki haplotipovi će biti izgubljeni, a *LD* automatski povećan. Kod biljaka, smanjenje alelne varijabilnosti posledica je, pre svega domestikacije i veštačke selekcije. S druge strane protok gena, odnosno uvođenje i integrisanje gena i genskih kompleksa u alohtone populacije,

dovodi do povećanja polimorfnosti alela u datoj populaciji. Ukoliko selekcija favorizuje određene kombinacije alela, u svakoj od potpopulacija postojaće *LD*. Međutim, kada dođe do slučajnog oplodjenja i rekombinacija, „razbija“ se i *LD* nastao protokom gena (Slatkin, 2008). Generalno gledano, faktori kao što su genetički drift, populaciono usko grlo i protok gena, mogu da doprinesu stvaranju veštačkog *LD* i negativno utiču na njegovu primenu u detekciji *QTL*-a pri asocijativnom mapiranju (Soto-Cerda et al., 2012).

Oplemenjivački materijal najznačajnijih biljnih kultura najčešće uključuje uski genetički pul, tako da se proučavanjem pedigreea, mogu naći zajednički preci u okviru veoma ograničenog broja generacija (Lu et al., 2005). Između nevezanih gena, *LD* se može javiti usled istovremene selekcije kombinacije alela različitih gena, kao i zbog postojanja strukture populacije (Hart and Clarck, 1997). Selekcija utiče na *LD* u određenim delovima genoma, vezanim za osobinu relevantnu za određeni oplemenjivački program, što treba uzeti u obzir prilikom interpretacije rezultata asocijativne analize. S druge strane, struktura populacije može da utiče na obrazac *LD* duž celog genoma i mora da se koriguje pre izvođenja asocijativne analize, kako bi se dobili validni rezultati (Pritchard et al., 2000). Podstruktura je uobičajen uzročnik kovarijansi poligenih efekata jer srodnici nose zajedničke alele markera i gena duž čitavog genoma (Brescghello and Sorrells, 2006). Kada je populacija izdvojena na grupe, mogućnost pojave lažno pozitivnih veza je značajno redukovano (Cardon and Palmer, 2003).

Etape asocijativnog mapiranja

Postoji pet glavnih etapa pri asocijativnom mapiranju: (1) odabir populacije koja će se analizirati, (2) utvrđivanje nivoa i uticaja populacione strukture na uzorak koji se ispituje, (3) fenotipska evaluacija populacije za osobine od interesa, (4) molekularna evaluacija populacije za kandidat gene/regione ili skeniranje čitavog genoma i (5) testiranje veze između genotipa i fenotipa.

Populacija koja se koristi u asocijativnim analizama treba da predstavlja uzorak genetički divergentnih individua, a veličina u dosadašnjim studijama najznačajnijih

biljnih kultura i njihovih divljih srodnika, varirala je od 26 do 961 genotipa (Ferreira et al., 2006; Hall et al., 2010). Prilikom genotipizacije uobičajeno su korišćeni *SSR* markeri, a u novije vreme sa razvojem tehnologija sekvenciranja nove generacije, sve više se koriste i *SNP* markeri. Izbor odgovarajuće tehnike markera zavisi od biljnog genoma koji se proučava, pristupa na kome će se analiza bazirati, kao i od tehničke opremljenosti laboratorije. Sledeći izbor sa kojim se treba suočiti je odabir odgovarajućeg pristupa, odnosno da li asocijativnu analizu bazirati na kandidat genima ili skenirati čitav genom vrste od interesa. Pri tome, najznačajnija smernica treba da bude nivo *LD* kod proučavane vrste jer on određuje kako rezoluciju mapiranja koja će se postići, tako i broj markera koji je potreban kako bi čitav genom bio obuhvaćen (Whitt and Buckler, 2003). Kod pristupa baziranog na kandidat genima, asocijativno mapiranje je ograničeno na gene za koje se pretpostavlja da utiču na kontrolu osobina od interesa. Sam izbor markera može biti zasnovan na informacijama dobijenim na osnovu genetičkih, biohemijskih ili fizioloških analiza (Neale and Savolainen, 2004). Istraživanja bazirana na kandidat genima su manje zahtevna u pogledu broja markera i uglavnom je potrebno od nekoliko desetina do nekoliko stotina markera za uspešnu analizu par stotina individua. S druge strane, treba imati u vidu da je ovaj pristup ograničen izborom kandidat gena koji su detektovani za određenu biljnu vrstu i stoga se uvek javlja rizik da se propusti identifikacija mutacija od značaja za određeno osobina jer se one nalaze u segmentima koji nisu pokriveni odabranim markerima (Hall et al., 2010). Kod pristupa baziranog na analizi čitavog genoma, broj markera varira od stotinu do nekoliko hiljada markera, pri čemu su pored kandidat gena zastupljeni i neutralni markeri, kako bi se testirao nivo uticaja genetičke pozadine (engl. *background*) na određene osobine (Ersoz et al., 2007; Hall et al., 2010).

Prema Long and Langley (1999), u cilju povećanja statističke moći asocijativnog mapiranja, mnogo je efikasnije povećati broj individua koje će biti fenotipski ocenjene, nego povećati broj markera pri molekularnoj evaluaciji. Međutim, adekvatna fenotipska evaluacija može biti dugotrajna i neekonomična. Kako bi se povećala preciznost i pouzdanost dobijenih rezultata, potrebno je postaviti oglede na većem broju lokaliteta i u nekoliko ponavljanja. Na taj način delimično se smanjuje uticaj sredine i grešaka pri merenju na dobijene rezultate jer se podaci pojedinačnog

merjenja mogu kombinovati kako bi se stvorila srednja vrednost fenotipa (Lynch and Walsh, 1998).

Poslednji korak u asocijativnim analizama, izbor odgovarajućeg statističkog testa, zavisi od prethodnih koraka, odnosno karakteristika populacije koja je korišćena za sakupljanje podataka fenotipizacije i genotipizacije (Brescghello and Sorrells 2006). U cilju smanjenja rizika od nastanka lažno pozitivnih veza marker - osobina, razvijeno je nekoliko metoda za utvrđivanje strukture populacije. Devlin i Roeder (1999) razvili su metod „genomske kontrole“, gde se struktura populacije utvrđuje na osnovu velikog broja neutralnih markera ili markera koji nisu u vezi sa osobinom od interesa za određeno istraživanje. *SA (structure associations)* analiza, razvijena od strane Pritchard i sar. (2000) bazira se na primeni seta nevezanih molekularnih markera za procenu populacione strukture (*Q matrix*), koja se zatim inkorporira u opšti linearni model (engl. *GLM – general linear model*), čime je omogućena korekcija lažnih asocijacija. Kasnije su Yu i sar. (2006) razvili novu metodologiju, tzv. mešoviti linearni model (engl. *MLM – mixed linear model*), koji pored populacione strukture, u sebi sadrži i srodničku povezanost individua populacije (*kinship matrix - K-matrix*), čime se odbacuje takođe značajan broj lažno pozitivnih veza. Kako bi se izvela *MLM* analiza potrebno je : (1) kreirati *Q*-matricu koristeći, uglavnom, softver *STRUCTURE*; (2) utvrditi koeficijent srodnosti (*K-matrix*) među individuama odabrane kolekcije germplazme, pomoću softvera *SpaGeDi* (Hardy and Vekemans, 2002) ili *TASSEL* (Bradbury et al., 2007) i (3) koristiti *Q*- i *K*-matricu u asocijativnoj analizi, kako bi se eliminisale lažno pozitivne veze.

Jedan od najčešće korišćenih softvera pri asocijativnom mapiranju biljnih genoma je *TASSEL* (Bradbury et al., 2007). U okviru ovog programa, moguće je kako je napred navedeno, utvrditi *K*-matricu, zatim izvesti *GLM* i *MLM* analizu, izračunati i grafički prikazati *LD*, kao i genetičku distancu među ispitivanim genotipovima (Soto-Cerda et al., 2012).

3. 5. Osobine koje determinišu genetički potencijal za prinos pšenice

Stopa porasta ljudske populacije na godišnjem nivou iznosi 1,3%, pri čemu se čak 83% od ukupnog porasta, odvija u zemljama u razvoju Azije, Afrike i Južne Amerike. Kako bi se proizvele dovoljne količine hrane, potrebno je da se i produkcija žitarica na godišnjem nivou povećava za 26 miliona tona. To bi značilo da se svetska produkcija hrane u narednih nekoliko decenija mora povećati za 50%. Pri tome, ovaj cilj treba dostići sa mnogo manje raspoloživih obradivih površina, manje vode za navodnjavanje i sa što manjom upotrebom hemijskih zaštitnih sredstava, kako bi se vodilo računa o održavanju životne sredine. Povećanje efikasnosti pri stvaranju sorti koje odlikuje visok genetički potencijal za prinos, predstavlja jedno od najrelevantnijih rešenja (Khush, 2001; Curtis et al., 2002).

Sve osobine koje determinišu genetički potencijal za prinos možemo grubo podeliti u dve grupe. Prvoj grupi pripadaju osobine koja indirektno utiču na prinos, kao što su sazrevanje biljke i arhitektura, odnosno morfološke karakteristike biljke, koje imaju jednostavniju genetičku kontrolu i manje su pod uticajem faktora spoljašnje sredine (Yin et al., 2000). U drugu grupu se ubrajaju različite komponente prinosa pšenice, čija je genetička kontrola znatno kompleksnija, pod većim su uticajem faktora spoljašnje sredine i gde efekat pojedinačnih *QTL*-a zavisi od genetičke pozadine (engl. *genetick background*) (Koebner and Snape, 1999; Babu et al., 2004).

Visina stabljike predstavlja jedno od najznačajnijih agronomskih metričkih osobina pšenice, zbog povezanosti sa otpornošću na poleganje, kapacitetom porasta klijanaca i kontrolom korova (Donald and Hamblin, 1976). Jedan od ključnih faktora za pojavu Zelene revolucije je upravo uvođenje određenih gena za redukciju rasta stabljike (*Rht - reduced height*) u oplemenjivačke programe. Biljke nosioci „patuljastih“ gena, trošile su manje hranljivih materija na produkciju stabljike, a više za nalivanje zrna, što je, uz otpornost na poleganje, dovelo do povećanja žetvenog indeksa preko 60% (Khush, 2001).

Najveći uticaj na Zelenu revoluciju imali su *Rht-B1b* (prvobitno nazvan *Rht1*) i *Rht-D1b* (*Rht2*), sa, redom, 4BS i 4DS kraka hromozoma, koji su uvedeni u

oplemenjivački program *CIMMYT*-a (*International Maize and Wheat Improvement Center*) iz japanske sorte Norin 10. Ovi geni su iz *CIMMYT*-a kasnije distribuirani širom sveta (Gale and Youssefien, 1985). Pored napred navedenih, važnu ulogu u stvaranju sorti niskog rasta i visoke produktivnosti imao je i *Rht8* gen (2DS), koji vodi poreklo od Japanske sorte Akakomugi. Navedeni gen je introdukovan u italijanski oplemenjivački materijal 1920. godine i do danas postao široko rasprostranjen, naročito u zemljama Južne Evrope (Borojević and Borojević, 2005).

Imajući u vidu značaj *Rht* gena za adaptabilnost sorte, od 90-ih godina prošlog veka pa do danas objavljen je veliki broj istraživanja čiji je glavni cilj bio razumevanje efekata pojedinih *Rht* gena i detekcija novih lokusa za modifikaciju visine biljke u odnosu na specifičan agroklimatski region (Korzun et al., 1998; Worland et al., 2001; Ellis et al., 2005; Wu et al., 2011; Chebotar et al., 2012; Chen et al., 2013; Dauora et al., 2013; Wilhelm et al., 2013; Zanke et al., 2014). U katalogu genskih simbola pšenice do danas su objavljena ukupno 22 *Rht* gena (McIntosh et al., 2012), a u radu skorijeg datuma Chen i sar. (2014), data je karakterizacija još jednog gena za redukciju rasta stabljike, kog su autori nazvali *Rht23*. Svi ovi geni su skoro ravnomerno raspoređeni u genomu pšenice i dele se u dve osnovne grupe na bazi odgovora na dodatak giberelinske kiseline (*GA – gibberellic acid*): *GA*-neosetljivi i *GA*-osetljivi (McIntosh et al., 2012).

Vreme klasanja je osobina od najvećeg značaja za adaptaciju pšenice na različite uslove spoljašnje sredine (Worland, 1996). Posredno utiče na varijabilnost sorti u pogledu agronomski značajnih osobina, što se naročito mora uzeti u obzir prilikom stvaranja novih linija poboljšanih karakteristika. Radi boljeg razumevanja genetičke kontrole ove izuzetno kompleksne osobine, samo vreme klasanja može se razložiti na tri komponente: osetljivost na fotoperiod (*PS - photoperiod sensitivity*), potreba za vernalizacijom (*VR - vernalization requirement*) i klasanje samo po sebi (*IE - intrinsic earliness*). Navedena podela izvršena je na osnovu interakcije svake od grupe gena sa faktorima spoljašnje sredine. Kod ozime pšenice, za prelazak biljke iz vegetativne u generativnu fazu, neophodno je da prođe tretman izlaganja niskim temperaturama u periodu od četiri do osam nedelja (odnosno vernalizaciju), dok jare sorte ne zahtevaju ovakav tretman u cilju formiranja klasa. Pored toga, sorte se mogu grupisati i na osnovu njihove osetljivosti na dužinu trajanja dana. Pšenica je uglavnom biljka dugog dana,

međutim postoje i genotipovi koji mogu klasati i za vreme kratkog dana. Geni koji kontrolišu vernalizaciju (*Vrn* geni) (Law and Worland, 1997) i osetljivost na fotoperiod (*Ppd* geni) (Scarath and Law, 1983) imaju najznačajniju ulogu pri adaptaciji pšenice na različite agroklimatske regione. Međutim, postoje i genomske regione koji takođe utiču na determinaciju vremena klasanja i cvetanja, ali nisu pod značajnim uticajem različitih signala iz spoljašnje sredine i stoga su kategorisani kao *Eps* geni (*earliness per se*) (Snape et al., 2001).

Hromozomi iz grupe 2 i 5 imaju najveći uticaj na regulaciju ekspresije klasanja i cvetanja jer nose major gene, *Ppd* i *Vrn* (Snape et al., 2001). Na osnovu *Meta-QTL* analize, koja podrazumeva integrisanje i sumiranje rezultata pojedinačnih *QTL* istraživanja, Hanocq i sar. (2007) detektovali su hromozomske regione koji imaju posrednu ulogu u determinaciji vremena klasanja na: 4A i 4B (klasanje, *Meta-QTL*), 2B (vernalizacija, *Meta-QTL*) i 5B hromozomu (klasanje samo po sebi, *Meta-QTL*). Pored navedenih autora, Griffiths i sar. (2009) su takođe primenom *Meta-QTL* analize, detektovali dodatne lokuse odgovorne za vreme klasanja na sledećim hromozomima: 1B (2 *Meta-QTL*-a), 1D, 3A, 3B (2 *Meta-QTL*-a), 4D, 6A, 6B, 7A, 7B i 7D.

Prinos je kompleksna kvantitativna osobina koju kontroliše veliki broj gena sa niskom heritabilnošću i pod značajnim je uticajem faktora spoljašnje sredine. Upravo zbog toga predstavlja veliki izazov za oplemenjivače jer ne raspolažu sa dovoljno informacija o broju, lokaciji i doprinosu svakog pojedinačnog gena konačnoj ekspresiji osobine (Koeberner and Snape, 1999). U cilju boljeg uvida u genetičku kontrolu, prinos se može podeliti u nekoliko komponenata kao što su broj biljaka po kvadratnom metru, broj klasova po biljci, broj zrna po klasu, masa hiljadu zrna i druge osobine koje su u vezi sa prinosom, kao što su dužina klasa i broj klasića po klasu (Cuthbert et al., 2008; Röder et al., 2008). Neke od navedenih osobina karakteriše veća heritabilnost i manje su osetljive na dejstvo faktora spoljašnje sredine (dužina klasa i broj klasića po klasu) nego sam prinos. Stoga je prilikom mapiranja *QTL*-a za prinos, veoma važno imati što više informacija o genetičkoj kontroli njegovih pojedinačnih komponenata (Kato et al., 2000; Kumar et al., 2007; Wang et al., 2011; Cui et al., 2014).

Promene u morfologiji klasa koje su se desile u toku procesa domestikacije pšenice, omogućile su njenu širu primenu u poljoprivrednoj praksi. Ove promene

uključuju modifikaciju dužine klasa, kompaktnosti klasa, čvrstine osnove klasa, razvoj osja i golozrnost (Manickavelu et al., 2010). U dosadašnjim istraživanjima identifikovana su tri major gena koja utiču na morfologiju klasa: *Q*, *C* i *S*. *Q* gen je mapiran na hromozomu 5AL i ima plejotropni efekat na dužinu i oblik klasa, čvrstinu glume, čvrstinu rahisa, golozrnost, visinu biljke i klasanje (Kato et al., 1999; Faris and Gill, 2002; Faris et al., 2003; Simons et al., 2006; Zhang et al., 2011b). Pošto determiniše većinu osobina koje su bile ključne za gajenje pšenice, *Q* gen se smatra glavnim genom za domestikaciju, a dominantan *Q* alel prisutan je u svim sortama obične i durum pšenice (Faris et al., 2014).

C gen je lociran na 2D hromozomu (Johnson et al., 2008) i definiše podvrstu heksaploidne pšenice poznatu pod nazivom *Triticum aestivum* L. ssp. *compactum*, sa kompaktnim, odnosno zbijenim tipom klasa koji determiniše dominantan *C* alel. S druge strane, *s* alel na hromozomu 3D definiše drugu podvrstu, *Triticum aestivum* L. ssp. *sphaerococcum*, koja ima okruglo seme, okrugle glume i kratak veoma zbijen klas (Sears 1947 iz Faris et al., 2014). Stoga obična pšenica (ssp. *aestivum*) ima genotip *QcS*, kompaktnum *QCS*, a sferokokum *Qcs* (Faris et al., 2014).

Fiziološke i morfološke karakteristike klasa imaju veoma značajan uticaj na prinos jer se u njima stvaraju zrna. Morfologija klasa je primarno determinisana dužinom klasa, gustinom klasića i fertilnošću cvetova. Karakteristike klasa determinišu broj zrna po klasu, određujući na taj način i sam prinos. Pored toga i sterilnost klasića predstavlja važnu determinantu broja zrna po klasu, kada je ukupan broj klasića po klasu fiksiran. Klasovi imaju važnu ulogu i u procesu fotosinteze, što doprinosi nalivanju semena, naročito u uslovima suše (Tambussi et al., 2007; Cui et al., 2012).

Imajući u vidu napred navedeno, kao i činjenicu da je alelna varijabilnost major gena *Q*, *C* i *S* na nivou podvrste zanemarljiva, veliki broj istraživanja posvećen je detekciji lokusa koji su u vezi sa osobinama klasa. U dosadašnjim istraživanjima ustanovljeno je više od 14 *QTL*-a u vezi sa osobinama klasa, distribuiranih u svih sedam grupa pšeničnog genoma (Börner et al., 2002; Sourdille et al., 2003; Suenaga et al., 2005; Ma et al., 2007; Kumar et al., 2007; Kirgiwi et al., 2007; Chu et al., 2008; Wu et al., 2014). Pored toga, utvrđeno je da je dužina klasa u jakoj korelaciji sa gustinom klasića. Iako dugi klasovi imaju manju gustinu klasića (Jantasuriyarat et al., 2004; Ma et

al., 2007), ova pojava ima izvesne prednosti, kao npr. pri suzbijanju infekcije izazvane gljivama iz roda *Fusarium*, odnosno smanjenju gubitka prinosa i kvaliteta zrna (Buerstmayr et al., 2009).

Masa hiljadu zrna predstavlja jednu od najznačajnijih komponenti prinosa pšenice. Na osnovu ranijih istraživanja ustanovljeno je da ovu osobinu karakteriše visoka heritabilnost i da većina gena koja utiče na njenu ekspresiju ima aditivni efekat (Xiao and He, 2003; Kuchel et al., 2007). Masa hiljadu zrna predstavlja složenu osobinu koje se može raščlaniti na fizičke parametre (dužina, širina i površina zrna) i parametre nalivanja semena (brzina i trajanje nalivanja; Gegas et al., 2010). U dosadašnjim istraživanjima, *QTL*-i za masu hiljadu zrna mapirani su na skoro svim hromozomima heksaploidne pšenice: 6A, 7D (Kuchel et al., 2007); 1A, 1D, 2B, 2D, 4B, 5B i 6B (Ramya et al., 2010); 1B, 2D, 4A, 4B, 4D, 5A, 6A i 7A (Zheng et al., 2010); 1A, 1B, 1D, 2B, 5A, 7A i 7B (Neumann et al., 2011); 4B, 5A i 7B (Wang et al., 2011); 3A, 5A i 7A (Wang et al., 2012).

4. RADNA HIPOTEZA

Materijal odabran za analizu u ovoj doktorskoj disertaciji, čine 282 sorte pšenice poreklom iz dvadeset šest zemalja sveta i predstavlja deo genetičke kolekcije Odeljenja za strna žita, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Stoga se, na osnovu rezultata molekularne analize očekuje utvrđivanje visokog nivoa polimorfnosti u analiziranim mikrosatelitskim lokusima i podela ispitivanih genotipova na grupe (potpopulacije), koja će biti u saglasnosti sa poreklom, odnosno pedigreom.

U ovom radu biće analizirani podaci fenotipske evaluacije za jedanaest agronomski važnih osobina, koji su prikupljeni u petogodišnjem periodu. Imajući u vidu da većinu osobina karakteriše niska heritabilnost, odnosno da su pod značajnim uticajem faktora spoljašnje sredine, očekuje se utvrđivanje statistički značajnih razlika među ispitivanim godinama. Pored toga, odabir genetički raznovrsnog materijala pretpostavlja postojanje statistički značajnih razlika za date osobine među ispitivanim genotipovima, odnosno potpopulacijama.

Asocijativna analiza bazira se na rezultatima molekularne i fenotipske evaluacije genetički divergentnog materijala, elitnih linija, lokalnih populacija ili drugog oplemenjivačkog materijala. Ovakav materijal karakteriše veliki broj rekombinacija i veća rezolucija mapiranja, u odnosu na mapirajuće populacije. U oplemenjivačkim programima fenotipska evaluacija genotipova se odvija u većem broju godina, što predstavlja značajnu bazu podataka za analizu kompleksnih kvantitativnih osobina, koje karakteriše niža heritabilnost. Primenom asocijativnog pristupa, na osnovu kandidat mikrosatelitskih lokusa, očekuje se utvrđivanje statistički signifikantnih veza između kandidat mikrosatelitskih lokusa i odabranih agronomski važnih osobina.

5. MATERIJAL I METODE RADA

5. 1. Izbor materijala

Jedan od osnovnih preduslova za validnu asocijativnu analizu, jeste odabir materijala koji karakteriše značajna genetička varijabilnost. Pored toga, na osnovu ranijih istraživanja (Hall et al., 2010), ustanovljeno je da je za utvrđivanje veze između markera i osobine od interesa, optimalano da broj ispitivanih individua bude oko 250. Kako bi se zadovoljili napred navedeni kriterijumi, u radu su analizirana 282 genotipa pšenice poreklom iz dvadeset šest zemalja sveta, koja predstavljaju deo genetičke kolekcije Odeljenja za strna žita, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, koja broji oko 1000 genotipova (sl.1).



Slika 1. Genetička kolekcija Odeljenja za strna žita, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu

Odabrani materijal obuhvata registrovane sorte i eksperimentalne linije, pri čemu su dve sorte pripadale vrsti *Triticum turgidum* L., po jedna podvrstama *Triticum aestivum* L. subsp. *sphaerococcum* i *Triticum aestivum* L. subsp. *compactum*, dok su preostali genotipovi pripadali podvrsti hlebne pšenice, *Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*. Odabir materijala zasnovan je na fenotipskoj varijabilnosti, kako u pogledu morfoloških karakteristika (arhitektura klasa, arhitektura lista, visina stabljike), tako i u vremenu sazrevanja i visini prinosa. Od ukupnog broja ispitivanih sorti, najveći broj je bio poreklom iz Srbije (72) i Sjedinjenih Američkih Država (63). Kolekcija uključuje veliki broj genotipova osnivača, odnosno genotipova koji su primenjivani kao roditelji u oplemenjivačkim programima širom sveta (PRILOG, tab. 20).

5. 2. Molekularna analiza

Ekstrakcija DNK

Prilikom ekstrakcije DNK korišćen je *CTAB* metod prema Doyle and Doyle (1990). Za svaki od ispitivanih genotipova na nakvašenom filter papiru naklijavano je po deset zrna. Od tako dobijenih klijanaca pravljena je smeša iz koje je zatim izdvajano nekoliko mg svežeg tkiva za izolaciju DNK.

Maceracija tkiva se odvijala pomoću tečnog azota u kivetama od 1,5 ml. Nakon toga, u kivete sa uzorcima dodavano je po 500 µl *CTAB* ekstrakcionog pufera i uzorci su stavljeni u vodeno kupatilo na 65 °C, u trajanju od 30 minuta uz povremeno mešanje inverzijom. Po završetku inkubacije, u svaki od uzoraka dodavano je po 500 µl smeše hloroform/izoamil alkohola (razmere 24:1) u digestoru, uz mešanje inverzijom, kako bi se stvorila emulzija. Uzorci su zatim centrifugirani 10 minuta na 11 000 obrtaja na sobnoj temperaturi u mikrocentrifugi. Dobijeni supernatant prenošen je u novi set kiveta od po 1,5 ml i u njega je dodavano po 350 µl ledenog izopropanola. Dobijeni rastvor mešan je lagano inverzijom, uz izdvajanje niti DNK, a zatim su uzorci centrifugirani 5 minuta na 10 000 obrtaja na sobnoj temperaturi u mikrocentrifugi. Po odlivanju

supernatanta, DNK je ostajala na dnu, a u kivete je dodavano po 200 μ l pufera za ispiranje i uzorci su centrifugirani 3 minuta na 10 000 obrtaja na sobnoj temperaturi u mikrocentrifugi. Nakon odlivanja supernatanta, uzorci su stavljeni u termoblok na sušenje četrdesetak minuta na 35 °C. Po završetku sušenja, uzorci su resuspendovani u 50 μ l 0,1xTE pufera i odlagani na 4 °C najmanje jedan dan, kako bi se DNK rastvorila, a zatim čuvani na -20 °C.

Tabela 2. Rastvori za ekstrakciju DNK

CTAB pufer
2% CTAB (<i>mixed acrylic 3-methyl ammonium bromide</i>)
100mM Tris-HCl pH 8,0
20 mM EDTA pH 8,0
1,4 M NaCl
0,2% merkaptoetanol (dodaje se neposredno pre upotrebe)
Pufer za ispiranje
76% etanol
10 mM amonijum acetat
0,1xTE pufer
10 mM Tris-HCl pH 8,0
1 mM EDTA pH 8,0

* proizvođač Sigma

Određivanje koncentracije DNK izolata

Koncentracija DNK izolata određena je merenjem apsorbancije na 260 (A_{260}) i 280 nm (A_{280}) pomoću MBA 2000 spektrofotometra (Perkin-Elmer Corp). Imajući u vidu da DNK molekul ima maksimum apsorpcije na 260 nm, dati parametar se koristi za određivanje njene koncentracije. Pri tome se primenjuje korekcionni faktor, po kome vrednost A_{260} od 1, odgovara 50 μ g/ml DNK, odnosno:

$$1 : 50 \mu\text{g/ml} = A_{260} : x$$

Na osnovu čega sledi da je:

$$x = A_{260} * 50 \mu\text{g/ml}$$

Dobijena vrednost se zatim koriguje, uzimajući u obzir i razblaženje, kako bismo koncentraciju rastvora DNK izolata izrazili u $\mu\text{g} / \mu\text{l}$.

Proteini imaju maksimum apsorpcije na 280 nm, pa se iz odnosa A_{260}/A_{280} određuje čistoća uzorka. Ukoliko je ova vrednost manja od 1,7, uzorak je kontaminiran proteinima, a pri vrednostima preko 2,0 uzorak sadrži visoku koncentraciju RNK molekula (<http://homepages.bw.edu/~mbumbuli/molbio/labs/dna/>).

Izbor mikrosatelitskih markera

Za molekularnu evaluaciju seta od 282 genotipa, odabrano je četrdeset mikrosatelitskih markera koji su na osnovu ranijih istraživanja bili u vezi sa agronomski važnim osobinama pšenice (PRILOG, tab.19). Iako se vodilo računa da *SSR* lokusi budu podjednako zastupljeni na sva tri genoma heksaploidne pšenice, prednost je data markerima koji su bili u vezi sa većim brojem agronomski značajnih osobina. Nakon optimizacije uslova lančane reakcije polimeraze, devet *SSR* markera (*WMC278-1A*, *WMC304-1A*, *GWM484-2D*, *BARC86-3A*, *GWM397-4A*, *GWM113-4B*, *GDM109-5A*, *GWM332-7A* i *WMC364-7B*) je izuzeto iz dalje analize jer su bili monomorfni ili je izostalo specifično vezivanje njihovih prajmer sekvenci. Spisak ispitivanih mikrosatelitskih lokusa, njihove pozicije na hromozomima, prajmer sekvence, kao i ponavljajući motivi, navedeni su u tabeli 3.

Tabela 3. Spisak ispitivanih mikrosatelitskih lokusa pšenice

Marker	Hromozom	Prajmer sekvence*	Motiv
Xwmc24	1A	Levi 5' GTG AGC AAT TTT GAT TAT ACT G 3'	(GT)28 25 to 80
		Desni 5' TAC CCT GAT GCT GTA ATA TGT G 3'	
Xwmc177	2A	Levi 5' AGG GCT CTC TTT AAT TCT TGC T 3'	(CA)21
		Desni 5' GGT CTA TCG TAA TCC ACC TGT A 3'	
Xbarc212	2A	Levi 5' GGC AAC TGG AGT GAT ATA AAT ACC G 3'	(CT)14
		Desni 5' CAG GAA GGG AGG AGA ACA GAG G 3'	
Xgwm425	2A	Levi 5' GAGCCACAAGCTGGCA 3'	(CT)21
		Desni 5' TCGTTCTCCCAAGCTTG 3'	
Xgwm388	2B	Levi 5' CTA CAA TTC GAA GGA GAG GGG 3'	(CT)4(CA)11(CA)12
		Desni 5' CAC CGC GTC AAC TAC TTA AGC 3'	
Xgwm261	2D	Levi 5' CTCCTGTACGCCTAAGGC 3'	(CT)21
		Desni 5' CTCGCGCTACTAGCCATTG 3'	
Xwmc264	3A	Levi 5' CTC CAT CTA TTG AGC GAA GGT T 3'	(GA)16 81 to 112
		Desni 5' CAA GAT GAA GCT CAT GCA AGT G 3'	
Xbarc1060	3A	Levi 5' GCG TCT ATT TTT GCC ATT TCC ATT CA 3'	(CAT)3+8
		Desni 5' GCG ATG TTC TGT AGT TCT TAG TGT TCT TT 3'	
Xbarc12	3A	Levi 5' CGACAGAGTGATCACCCAAATATAA 3'	(ATT)28
		Desni 5' CATCGGTCTAATTGTCAATGTA 3'	
Xbarc164	3B	Levi 5' TGC AAA CTA ATC ACC AGC GTA A 3'	(ATT)18
		Desni 5' CGC TTT CTA AAA CTG TTC GGG ATT TCT AA 3'	
Xgwm284	3B	Levi 5' AATGAAAAAACACTTGCCTGG 3'	(GA)17
		Desni 5' GCACATTTTCACTTTTCGGG 3'	
Xwmc3	3B	Levi 5' ATTCAAGTCTCTGCAGACCACC3'	(CT)(CA)
		Desni 5' CCCTGAGCAGCTTCACAGATTAC3'	
Xbarc1047	4A	Levi 5' GCG CAG ACC GTA CCC AAC CAG ATA G 3'	(TAGA)11
		Desni 5' CAT GCC TTG CCC TTG GTT TCA 3'	
Xwmc238	4B	Levi 5' TCT TCC TGC TTA CCC AAA CAC A 3'	(CA)22
		Desni 5' TAC TGG GGG ATC GTG GAT GAC A 3'	
Xgwm495	4B	Levi 5' GAGAGCCTCGCGAAATATAGG 3'	(GA)20
		Desni 5' TGCTTCTGGTGTTCCTTCG 3'	
Xgpw3017	4B	Levi 5' GTTTGTGCGTTCGTGAAGGTT3'	(GA)33
		Desni 5' TGCGTTGGTTTGTCTACTGG3'	
Xwmc331	4D	Levi 5' CCT GTT GCA TAC TTG ACC TTT TT 3'	(CA)13 56 to 81
		Desni 5' GGA GTT CAA TCT TTC ATC ACC AT 3'	
Xwmc457	4D	Levi 5' CTT CCA TGA ATC AAA GCA GCA C 3'	(CA)13 342 to 367
		Desni 5' CAT CCA TGG CAG AAA CAA TAG C3'	
Xcfa2155	5A	Levi 5' TTT GTT ACA ACC CAG GGG G 3'	(TG)16
		Desni 5' TTG TGT GGC GAA AGA AAC AG 3'	
Xgwm499	5B	Levi 5' ACT TGT ATG CTC CAT TGA TTG G 3'	(GA)32
		Desni 5' GGG GAG TGG AAA CTG CAT AA 3'	
Xbarc243	5B	Levi 5' CGCAAATCGAAATTAATAATGGAAA 3'	(ATT)21
		Desni 5' GATCCTCCTTTCAGCTGGCCTATTA 3'	
Xbarc320	5D	Levi 5' CGT CTT CAT CAA ATC CGA ACT G 3'	(TTC)11(CGT)4
		Desni 5' AAA ATC TAT GCG CAG GAG AAA C 3'	

Tabela 3. (nastavak)

Marker	Hromozom	Prajmer sekvence*	Motiv	
Xwmc553	6A	Levi	5'CGGAGCATGCAGCTAGTAA3'	(CA)24
		Desni	5'CGCCTGCAGAATTCAACAC3'	
Xbarc3	6A	Levi	5' TCCCTGTGTCTTTCTAATTTTTTTT 3'	(CCT)17
		Desni	5' GCGAACTCCCGAACATTTTAT 3'	
Xpsp3071	6A	Levi	5'CGTGCCCTACACCTCCTTTTCTCTC3'	(TC)14
		Desni	5'TCCGTACATACTCCGGGAGACC3'	
Xgwm518	6B	Levi	5'AATCACAACAAGGCGTGACA3'	(CA)34
		Desni	5'CAGGGTGGTGCATGCAT3'	
Xgwm276	7A	Levi	5' ATTTGCCTGAAGAAAATATT 3'	(CT)24
		Desni	5' AATTTCACTGCATACACAAG 3'	
Xgwm297	7B	Levi	5' ATCGTCACGTATTTTGAATG 3'	(GT)12(GA)18
		Desni	5' TCGTAAGTCTAGCATTTTCTG 3'	
Xwmc396	7B	Levi	5'TGCACTGTTTTACCTTCACGGA3'	(GT)14
		Desni	5'CAAAGCAAGAACCAGAGCCACT3'	
Xcfd14	7D	Levi	5' CCA CCG GCC AGA GTA GTA TT 3'	(TC)28
		Desni	5' TCC TGG TCT AAC AAC GAG AAG A 3'	
Xbarc1057		Levi	5'GCG GAA CTT GGG CAG GAG CAC3'	(CAT)12(CAA)4
		Desni	5'TCG CCT CTA TCA CCC CGC CTC TAT CA3'	

* Podaci o prajmer sekvencama dostupni na <http://wheat.pw.usda.gov/>

Lančana reakcija polimeraze

Odabrani *SSR* lokusi umnožavani su pomoću fluorescentno obeleženih levih i neobeleženih desnih prajmer sekvenci (proizvođač *Applied Biosystems, Life Technologies*). Lančana reakcija polimeraze odvijala se u aparatu *PCR System 9700 gold*, kao i u *Veriti Thermal Cycler* aparatu (*Applied Biosystems, Life Technologies*). Navedeni aparati su dizajnirani za rad sa mikrotitar pločama koje imaju 96 mesta (sl.2). Kao standard za proveru dužine umnoženog fragmenta, odnosno proveru specifičnosti reakcije, korišćena je sorta Chinese Spring, koja je unošena na ploče zajedno sa analiziranim sortama pri svakoj reakciji.

Reakciona smeša, ukupne zapremine 10 µl, sadržala je 3 ng/µl genomske DNK, koja je služila kao matrica, 1xPCR pufer, 2 mM MgCl₂, 0,2 mM svakog dinukleotida (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0,5µM svakog od fluorescentno obeleženog levog i neobeleženog desnog prajmera i 1 jedinicu *Taq polymerase* (*Applied Biosystems, Life Technologies*).

Lančana reakcija polimeraze odvijala se na dva tipa programa. Kod prvog tipa programa, nakon 5 minuta inicijalne denaturacije na 94 °C, sledilo je 35 do 40 ciklusa umnožavanja, pri čemu se svaki sastojao od sledećih koraka:

- denaturacija na 94 °C u trajanju od 30 sekundi
- hibridizacija prajmer sekvenci za matričnu DNK u trajanju od 45 sekundi na 52 °C (*WMC24*, *WMC177*), 60 °C (*GWM388*, *WMC238*) ili 62 °C (*BARC1057*, *GWM425*, *GWM261*, *GPW3017*, *WMC3*, *PSP3071*)
- 45 sekundi na 72 °C.

Posle toga sledila je finalna ekstenzija u trajanju od 10 minuta na 72 °C.



Slika 2. PCR aparati, *PCR System 9700 gold* (levo) i *Veriti Thermal Cycler* (desno)

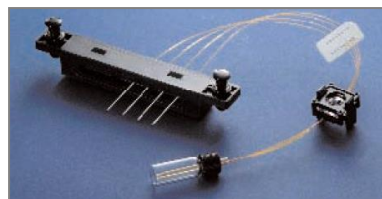
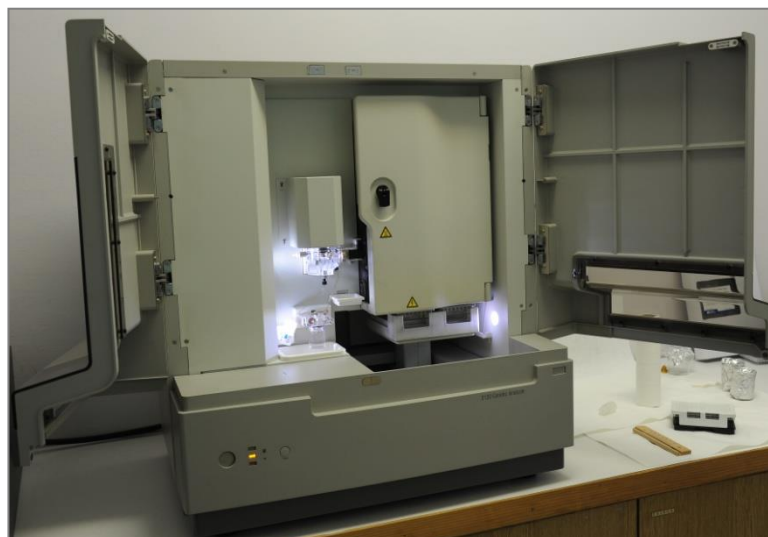
Drugi tip programa je tzv. *Touchdown* program, koji se odlikuje postepenim smanjenjem temperature hibridizacije prajmer sekvenci. *PCR* započinje na temperaturi koja je za nekoliko stepeni viša od preporučene za datu prajmer sekvencu, da bi se zatim kroz nekoliko ciklusa smanjila do optimalne temperature. Na ovaj način postiže se specifičnije vezivanje prajmera za određeni region genomske DNK, a samim tim i bolji kvalitet dobijenog produkta (Korbie and Mattick, 2008). Za sve programe ovog tipa,

dužina trajanja kao i temperatura na kojoj su se odvijale faze denaturacije i ekstenzije bila je identična kao i kod prvog tipa *PCR* programa. Kod programa *touchdown* 63-59 (*WMC264, BARC164, WMC331, WMC457, GWM495, WMC457, CFA2155, GWM499, WMC396*) u prvoj fazi hibridizacija prajmer sekvenci za matičnu DNK odvijala se u osam ciklusa gde se početna temperatura od 63 °C u svakom od narednih ciklusa smanjivala za 0,5 °C. Nakon toga sledilo je još 30 ciklusa na temperaturi vezivanja od 59 °C. Za program *touchdown* 62-56 (*BARC1060, BARC1047, BARC320, WMC553, BARC3, GWM518, GWM276*) karakteristično je da je početna temperatura hibridizacije bila za 6 °C veća od optimalne pa se postepeno smanjivala kroz 12 ciklusa, nakon čega je sledilo još 30 ciklusa na radnoj temperaturi za date prajmere. Treći program (*BARC212, BARC12, GWM284, GWM429, CFD14*) se odvijao prema modifikovanoj metodi Xu i sar. (2005b), gde se početna temperatura od 68 °C kroz dve serije *touchdown* ciklusa smanjila na 50 °C. Modifikacija se ogledala u drugačijoj ukupnoj zapremini i koncentraciji komponenata za *PCR* (koja je bila identična sa podacima koji su prethodno navedeni u ovoj disertaciji), temperaturi na kojoj se odvijala denaturacija (94 °C umesto 95 °C) kao i dužini trajanja finalne ekstenzije (10 umesto predloženih 5 minuta).

Analiza SSR fragmenata

Analiza *PCR* produkata, dobijenih umnožavanjem ispitivanih mikrosatelitskih lokusa, odvijala se pomoću automatskog laserskog DNK sekvenatora, model *ABI Genetic Analyzer 3130* (*Applied Biosystems, Life Technologies*) (sl. 3). To je sistem sa četiri kapilare, a u zavisnosti od tipa analize, mogu se koristiti kapilare dužine 22, 36, 50 ili 80 cm. U ovom radu korišćene su kapilare dužine 36 cm, dizajnirane za genotipizaciju mikrosatelita (sl.3). *ABI Genetic Analyzer 3130* omogućava poređenje mikrosatelitskih fragmenata po veličini sa preciznošću od jednog baznog para. Princip rada aparata zasniva se na metodi elektroforeze i primeni fluorescentno obeleženih prajmera. Na putu od katode ka anodi, fluorescentno obeleženi produkti prolaze kroz laserski zrak aparata i detektuje se emitovano fluorescentno zračenje koje se zatim prevodi u odgovarajući elektroferogram, sa koga se može očitati veličina produkta, kao i intenzitet fluorescencije (<https://www.lifetechnologies.com/>).

Za razdvajanje *PCR* produkata korišćen je polimer *POP4* (*Polydimethyl acrylamide* – 4% polidimetil akrilamid, 8 M urea, 5% 2-pirolidinon) (*Applied Biosystems, Life Technologies*).



Slika 3. *ABI Genetic Analyzer 3130* (gore), detalj pumpe za ubacivanje polimera u sistem kapilara (dole levo) i sistem kapilara (dole desno) (<https://www.lifetechnologies.com/>)

Prajmer sekvence za *SSR* markere analizirane u ovom radu obeležavane su sa četiri različite boje: *6-FAM* (plava), *NED* (žuta), *PET* (crvena) i *VIC* (zelena). Na taj način bilo je omogućeno da se produkti četiri različita mikrosatelitska lokusa analiziraju istovremeno. Pre analize, na mikrotitarske ploče sa 96 mesta, unošeno je po 2 μ l smeše *PCR* produkata (po 0,5 μ l od svake boje), a zatim je na svako mesto (tubicu) dodavano

po 0.2 µl standarda za veličinu (*GeneScan500 LIZ Size Standard, Applied Biosystems, Life Technologies*) i 7.8 µl *Hi-Di Formamide (Applied Biosystems, Life Technologies)*, tako da je u svakoj od tubica ukupna zapremina reakcione smeše bila 10 µl. Nakon toga, uzorci su denaturisani 5 minuta na 94 °C u aparatu *PCR System 9700 gold* i postavljeni na *Genetic Analyzer 3130*.

Kontrola rada, kao i kalibracija instrumenta održavana je pomoću *Data Collection* softvera, verzija 3.0 (*Applied Biosystems, Life Technologies*), preko kog se vrši i unos podataka o uzorcima, uključujući naziv i mesto uzoraka na mikrotitarskim pločama.

Rezultati fragmentne analize obrađivani su primenom *GeneMapper* softvera, verzija 4.0 (*Applied Biosystems, Life Technologies*), koji omogućava određivanje veličine *PCR* produkata na bazi njihovog poređenja sa standardom za veličinu.

5. 3. Fenotipska analiza

U ovom radu korišćeni su podaci fenotipske evaluacije koja se odvijala u periodu od pet godina, od 1995. do 1999. godine. Pri tome, poljski ogled je bio postavljen na oglednim poljima Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, lokalitet Rimski Šančevi, po slučajnom blok sistemu, u tri ponavljanja po sezoni. Svaka parcelica imala je po šest redova, međusobno odvojenih 20 cm, tako da je ukupna površina iznosila 1,2 m².

Analizirano je ukupno jedanaest agronomski značajnih osobina. U polju su analizirane visina stabljike, vreme klasanja i cvetanja. Visina stabljike merena je od površine zemljišta do osnove klasa i izražavana je u cm. Parametri vreme klasanja i cvetanja bili su izraženi kao broj dana od 1. januara do datuma klasanja, odnosno cvetanja (50 % biljaka po eksperimentalnoj jedinici), prema *UPOV* deskriptorima za pšenicu.

Komponente prinosa pšenice, kao što su: dužina klasa (cm), masa klasa (g), broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, masa zrna po klasu (g) i broj zrna po klasu, analizirane su u laboratoriji za oplemenjivanje, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Pri tome je za evaluaciju korišćeno po pet klasova od svakog genotipa, uzorkovanih od pet pojedinačnih biljaka po parcelici. U istoj laboratoriji merena je i masa 1000 zrna (g). Prinos je meren u kg/m^2 , a zatim izražavan u t/ha.

Za označavanje osobina korišćene su sledeće skraćenice: VS – visina stabljike; VK – vreme klasanja; VC – vreme cvetanja; DK – dužina klasa; BK – broj klasića po klasu; BSK – broj sterilnih klasića po klasu; BZ – broj zrna po klasu; MK – masa klasa; MZ – masa zrna po klasu; MHZ – masa hiljadu zrna i PR – prinos.

5. 4. Statistička obrada podataka

Rezultati fenotipske analize obrađeni su primenom programa *StatSoft 12.0*. Za svaku od jedanaest ispitivanih osobina utvrđeni su deskriptivni statistički parametri, analiza varijanse i vrednosti Pirsonovog koeficijenta korelacije. Za određivanje jačine veze među analiziranim osobinama, korišćena je skala prema Evans-u (1996):

Jačina korelacije	Vrednost koeficijenta korelacije (r)
Veoma slaba	0 – 0,19
Slaba	0,20 – 0,39
Srednja	0,40 – 0,59
Jaka	0,60 – 0,79
Veoma jaka	0,80 – 1,00

Stepen informativnosti odabranih mikrosatelitskih lokusa utvrđen je na osnovu *PIC (Polymorphism Information Content)* vrednosti (Anderson et al., 1993), korišćenjem dodatka za *Excel* program *Microsatellite Tool Kit 3.3.1*. (Park, 2001).

Populaciona struktura ispitivanog materijala, analizirana je primenom *Bayesian* metoda baziranog na *Markov Chain Monte Carlo (MCMC)* algoritmu implementiranom

u program *STRUCTURE* (Pritchard et al., 2000), verzija 2.3.4, pri čemu su korišćeni rezultati genotipizacije primenom seta od 31 *SSR* markera (tab. 3). Rezultati molekularne evaluacije, bili su izraženi u formi heterozigota. Najverovatniji broj grupa (K vrednost), definisan setom alelnih frekvencija za svaki lokus, analiziran je u opsegu od 1 do 10. Za svaku K vrednost izvedeno je pet nezavisnih analiza, pri čemu su vreme i broj ponavljanja bili podešeni na 1×10^5 . Kao rezultat analize dobija se vrednost $LnP(D)$ na osnovu izračunavanja logaritma verovatnoće za date podatke pri svakom od koraka *Markov Chain Monte Carlo* algoritma. Najverovatniji broj grupa određuje se na osnovu grafikona za prosečne vrednosti parametra $LnP(D)$.

Evanno i sar. (2005) su predložili izvesne modifikacije, u cilju povećanja preciznosti pri određivanju broja potpopulacija, odnosno grupa, na osnovu rezultata dobijenih pomoću softvera *STRUCTURE*. Navedeni autori uvode parametar delta K (ΔK), zasnovan na stopi promene logaritma verovatnoće između uzastopnih K vrednosti.

$$\Delta K = m|L''(K)| / sL(K), \text{ pri čemu su:}$$

$$L(K) - LnP(D),$$

$$mL(K) - \text{srednja vrednost } L(K),$$

$$sL(K) - \text{standardna devijacija } mL(K),$$

$$L'K = L(K) - L(K-1),$$

$$|L''(K)| = |L'(K+1) - L'(K)|$$

$$m|L''(K)| - \text{srednja vrednost od } |L''(K)|.$$

Kada je ustanovljen broj grupa, na osnovu Q matrica koje se dobijaju u programu *STRUCTURE*, za svaku od pet nezavisnih analiza za datu K vrednost, računaju se prosečne vrednosti i na osnovu njih dobija konačna Q matrica koja se dalje koristi pri asocijativnoj analizi. Kod Q matrice, na bazi izračunate verovatnoće, svakom genotipu se utvrđuje pripadnost određenoj grupi.

U cilju provere rezultata dobijenih na osnovu programa *STRUCTURE*, raspored genotipova u grupe analiziran je i pomoću analize glavnih koordinata (*Principal*

Coordinate Analysis - PCoA) primenom dodatka za *Excel* program, *GenAlEx 6.5* (Peakall and Smouse 2006, 2012). Primenom navedenog programa izračunata je i analiza molekularne varijanse (AMOVA) na osnovu matrice genetičke distance, korišćenjem 999 permutacija.

Asocijativna analiza agronomski važnih osobina i *SSR* lokusa pšenice ispitivanih u ovom radu, izvedena je u programu *TASSEL 2. 1* (Bradbury et al., 2007), koji uključuje primenu dva modela. Opšti linearni model (*GLM*), podrazumeva da se pored podataka molekularne i fenotipske evaluacije koristi i odabrana *Q* matrica, prethodno dobijena pomoću programa *STRUCTURE*. Mešoviti linearni model (*MLM*) predložen od strane Yu i sar. (2006) je nešto napredniji i podrazumeva primenu i matrica srodnosti (*kinship-Matrix*), koja je u ovom radu izračunata na osnovu podataka molekularne analize, u programu *TASSEL 2. 1*. Kod ovog modela korišćena je opcija proračuna heritabilnosti pojedinačno za svaki marker. Primenjen je *EMMA* metod (Kang et al. 2008), a *MLM* parametri su ostavljeni na početnom podešavanju iz *TASSEL*-a. Svaka osobina bila je predstavljena u vidu srednje vrednosti dobijene na osnovu pet ponavljanja.

Imajući u vidu broj ispitivanih godina i heritabilnost analiziranih osobina, veza marker-osobina smatrana je postojanom ukoliko se javljala u najmanje:

- četiri ispitivane godine za: visinu stabljike, vreme klasanja i vreme cvetanja,
- tri ispitivane godine za: masu 1000 zrna, broj zrna, dužinu klasa, broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, masu zrna po klasu, masu klasa i prinos.

Procena *LD* kao i nivoa značajnosti istog, za svaki par ispitivanih *SSR* lokusa, utvrđena je takođe u programu *TASSEL 2. 1*, na osnovu multifaktorijalne analize sa opcijom od 1000 permutacija. Parametar r^2 računat je zajedno za sve lokuse, odnosno za lokuse koji se nalaze na istom hromozomu, kao i za one sa različitih hromozoma. Posebno je analiziran *LD* u celoj populaciji i u svakoj od potpopulacija. Kao prag uzeta je vrednost $r^2 > 0,10$, a data veza bila je statistički značajna samo za $P < 0,0001$, imajući u vidu da je *LD* analiziran sa ograničenim brojem mikrosatelitskih markera.

6. REZULTATI I DISKUSIJA

6. 1. Molekularna evaluacija

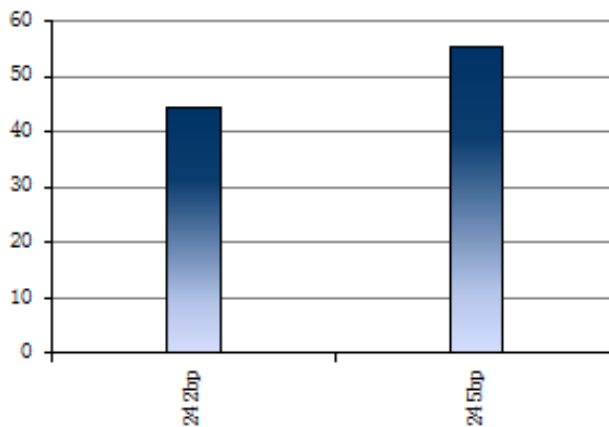
U ovom radu je za analizu veze marker-osobina odabrano 40 *SSR* markera. Po završetku optimizacije uslova lančane reakcije polimeraze, devet *SSR* markera je isključeno iz dalje analize. Od ovih 9 mikrosatelitskih markera, dva (*GWM484-2D* i *GWM113-4B*) su bila monomorfna za prvi set od 96 analiziranih genotipova. Kod preostalih sedam (*WMC278-1A*, *WMC304-1A*, *BARC86-3A*, *GWM397-4A*, *GDM109-5A*, *GWM332-7A* i *WMC364-7B*) je izostalo specifično vezivanje njihovih prajmer sekvenci, odnosno detektovani su monomorfni produkti gde dužina fragmenata nije odgovarala onoj navedenoj u referenci (<http://wheat.pw.usda.gov/>), dok su u preporučenom opsegu detektovani nedovoljno specifični produkti veoma niskog intenziteta fluorescencije. Treba napomenuti da su tokom optimizacije uslova *PCR*-a, kako bi se postigla sinteza specifičnog produkta za svaki analizirani mikrosatelitski lokus, sukcesivno menjani faktori koji utiču na odvijanja reakcije: temperatura vezivanja prajmer sekvenci, vreme trajanja ekstenzije, broj ciklusa, kao i količina pojedinih hemikalija koje ulaze u sastav smeše za *PCR*. Kada ni nakon toga nije dobijen specifičan fragment za prethodno navedene *SSR* lokuse, oni su izuzeti iz dalje analize pod pretpostavkom da se prajmer sekvence ne vezuju dovoljno specifično za određeni region genoma koji želimo da umnožimo, što može biti posledica neadekvatne sinteze prajmer sekvenci.

6. 1. 1. Polimorfnost ispitivanih *SSR* lokusa pšenice

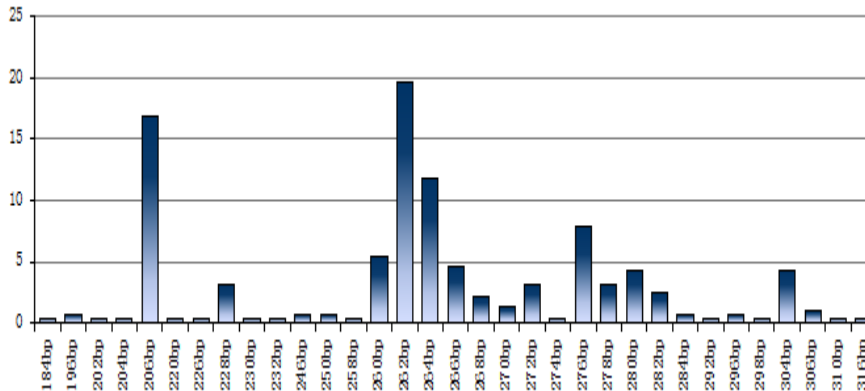
Molekularnom evaluacijom 31 odabranog mikrosatelitskog lokusa detektovano je ukupno 397 alela. Broj alela po lokusu varirao je od dva u lokusu *Xbarc1060* (graf. 1), do 33 u lokusu *Xwmc3* (graf. 2), sa prosečnim brojem od 12,41 (tab. 4).

U svim analiziranim mikrosatelitskim lokusima, primenom odgovarajućih prajmer sekvenci (tab. 3), fragmentnom analizom ustanovljeno je prisustvo po jednog

produkta umnožavanja, osim za marker *BARC1057* gde je skoro kod svih ispitivanih genotipova detektovano prisustvo dva oblika (sl. 4.), tako da se može pretpostaviti da je ovaj *SSR* marker raspoređen na dva lokusa (tab. 4).



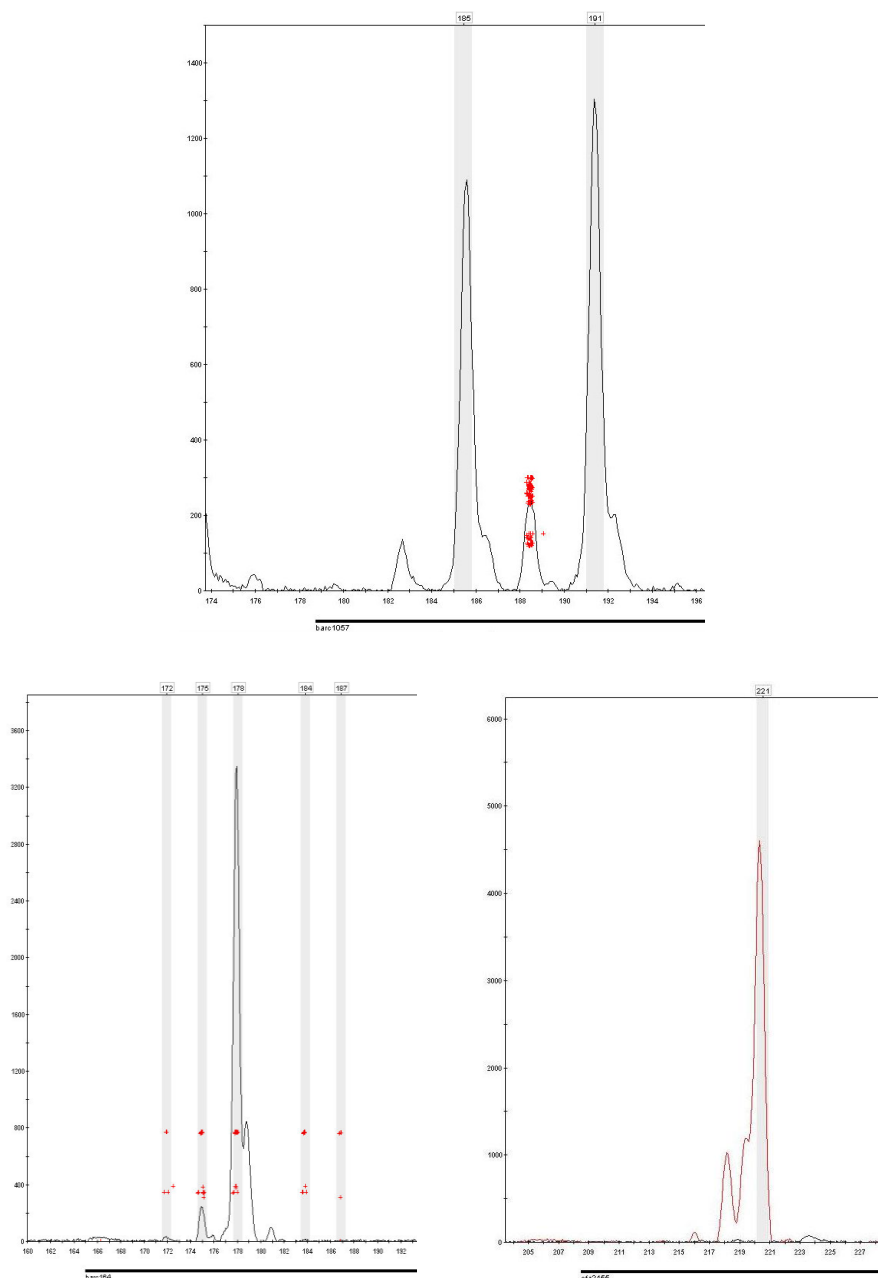
Grafikon 1. Učestalost alela u lokusu *Xbarc1060* kod analiziranih genotipova pšenice



Grafikon 2. Učestalost alela u lokusu *Xwmc3* kod analiziranih genotipova pšenice

Prema Quirin (2010) navedeni mikrosatelitski marker nalazi se na hromozomu 3A, dok određeni broj autora nije uspeo da odredi njegovu poziciju u genomu (Song et al., 2005; Liu, 2010). Ovaj marker je imao najmanju *PIC* vrednost, koja je iznosila 0,253 za lokus *Xbarc1057.1* i 0,080 za lokus *Xbarc1057.2*. U lokusu *Xbarc1057.2*. detektovano je prisustvo svega tri alelna oblika, od čega su dva imala učestalost manju

od 5 %, te se ovaj lokus može smatrati monomorfnim, zbog čega je izuzet iz daljih analiza u ovom radu. Najveću *PIC* vrednost imao je marker *WMC3* i iznosila je 0,891, dok se srednja vrednost kretala oko 0,672, ukazujući na visoku informativnost odabranih markera, kao i na izraziti diverzitet ispitivane kolekcije germplazme (tab. 4).



Slika 4. Elektroferogrami lokusa *Xbarc1057* (gore) sa dva produkta (alela) i lokusa *Xbarc164* (dole levo) i *Xcfa2155* (dole desno) sa po jednim produktom po lokusu

Aleli čija je učestalost u analiziranom materijalu bila manja od 5 % označeni su kao retki aleli i njihov broj po lokusu varirao je od 0 (*Xbarc1060*) do 28 (*Xwmc3*), dok je srednja vrednost iznosila 7,97. Ukupno je detektovano 255 retkih alela, tako da je njihova zastupljenost u ispitivanom materijalu iznosila 64,2 %. Slične rezultate, odnosno visok udeo retkih alela u ispitivanom materijalu, ustanovili su i drugi autori, pri čemu se može uočiti da je učestalost retkih alela bila u korelaciji sa geografskim diverzitetom genotipova. Tako su Fu i Somers (2011) analizirajući 78 sorti kanadske jare pšenice, odnosno materijal oplemenjivan na specifični agroklimatski region, detektovali 56,6 % retkih alela, a Hao i sar. (2011) kod 250 kineskih linija pšenice 65,8 % retkih alela. S druge strane, Roussel i sar. (2005) su kod 480 evropskih sorti pšenice, stvorenih u periodu od 1840. do 2000. godine, detektovali 73 % retkih alela, dok su Balfourier i sar. (2007) analizirajući 3942 linije pšenice poreklom iz 73 zemlje sveta, ustanovili prisustvo čak 80 % retkih alela.

Od ukupnog broja mikrosatelitskih markera analiziranih u ovom radu, dvadeset tri su imala dinukleotidne, sedam je imalo trinukleotidne, a samo jedan marker tetranukleotidne ponovke (tab. 3). Analizom alelne varijabilnosti ustanovljen je veći nivo polimorfnosti kod dinukleotidnih, u odnosu na trinukleotidne ponovke, pri čemu je srednja vrednost iznosila, redom, 13,4 i 10,6 alela po lokusu. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora, koji ističu izrazitu polimorfnost dinukleotidnih motiva u odnosu na druge tipove *SSR* markera (Samadi et al., 1998; Guyomarc'het al. 2002; Kalia et al., 2011).

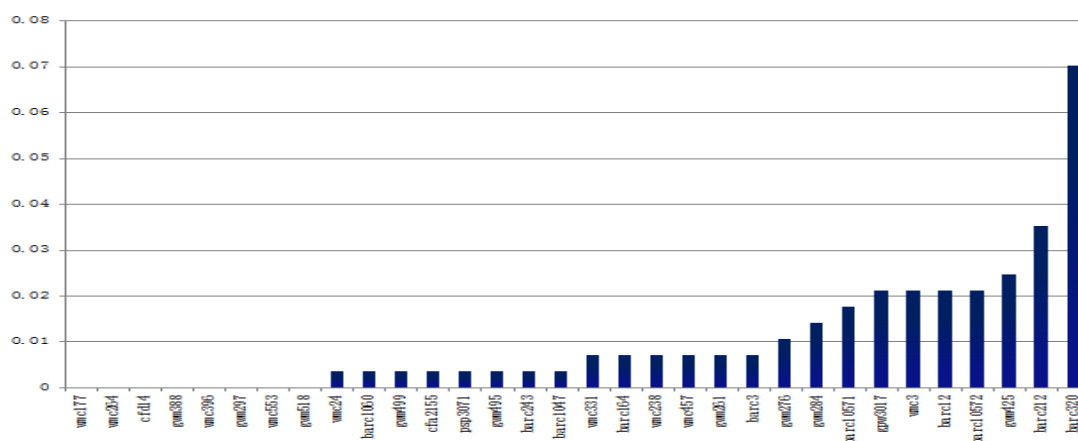
Sedamnaest lokusa pokazivalo je variranje u veličini fragmenata, koje je bilo u skladu sa brojem ponovaka koji je sadržao mikrosatelitski motiv. Kod preostalih markera postojala su odstupanja, gde su se pojedini aleli razlikovali i za jedan bp, pri čemu je najveća nepravilnost uočena kod markera *BARC1047*, gde su se aleli uglavnom razlikovali za dva bazna para, iako je motiv četvoronukleotidni. U par lokusa utvrđeni su razmaci među alelima veći od broja ponovaka koji sadrži određeni *SSR* motiv (graf. 10). Ovakvi rezultati potvrđuju ranije ustanovljeni dvofazni model mutacije *SSR* lokusa (Di Rienzo et al., 1994), koji pretpostavlja da je većina mutacionih promena posledica porasta ili smanjenja za jednu ponavljajuću jedinicu, odnosno da se veliki razmaci javljaju retko.

Tabela 4. Analizirani mikrosatelitski lokusi pšenice, njihova pozicija na hromozomu, broj detektovanih alela i *PIC* vrednost

SSR lokus	Hromozom	Ukupan broj alela	Retki aleli	Opseg veličine alela (bp)	Najučestaliji alel (bp)	<i>PIC</i> vrednost
Xwmc24	1A	10	6	115-156	138	0,676
Xwmc177	2A	12	5	173-200	190	0,836
Xbarc212	2A	24	17	183-232	223	0,885
Xgwm425	2A	13	7	122-156	136	0,797
Xgwm388	2B	13	8	156-184	164	0,771
Xgwm261	2D	15	12	160-212	193	0,670
Xwmc264	3A	9	5	120-142	128	0,708
Xbarc1060	3A	2	0	242-245	245	0,372
Xbarc12	3A	18	12	142-230	156	0,853
Xbarc164	3B	12	8	169-214	175	0,730
Xgwm284	3B	16	12	84-130	114	0,764
Xwmc3	3B	33	28	184-316	262	0,891
Xbarc1047	4A	14	9	150-198	166	0,648
Xwmc238	4B	9	2	218-234	220	0,818
Xgwm495	4B	17	13	148-194	174	0,573
Xgpw3017	4B	14	12	265-329	289	0,593
Xwmc331	4D	7	3	122-134	126	0,592
Xwmc457	4D	7	4	153-165	157	0,543
Xcfa2155	5A	5	1	211-221	219	0,677
Xgwm499	5B	21	18	91-154	124	0,584
Xbarc243	5B	13	8	192-226	207	0,672
Xbarc320	5D	7	4	175-202	199	0,364
Xwmc553	6A	13	5	337-361	359	0,861
Xbarc3	6A	15	10	159-232	196	0,803
Xpsp3071	6A	12	7	147-175	163	0,802
Xgwm518	6B	6	3	119-139	121	0,629
Xgwm276	7A	20	15	55-103	65	0,756
Xgwm297	7B	15	8	133-173	151	0,839
Xwmc396	7B	13	8	142-175	152	0,762
Xcfd14	7D	5	1	112-120	120	0,697
Xbarc1057.1		4	2	182-188	188	0,253
Xbarc1057.2		3	2	191-200	191	0,080
Srednja vrednost		12,41	7,97			0,672

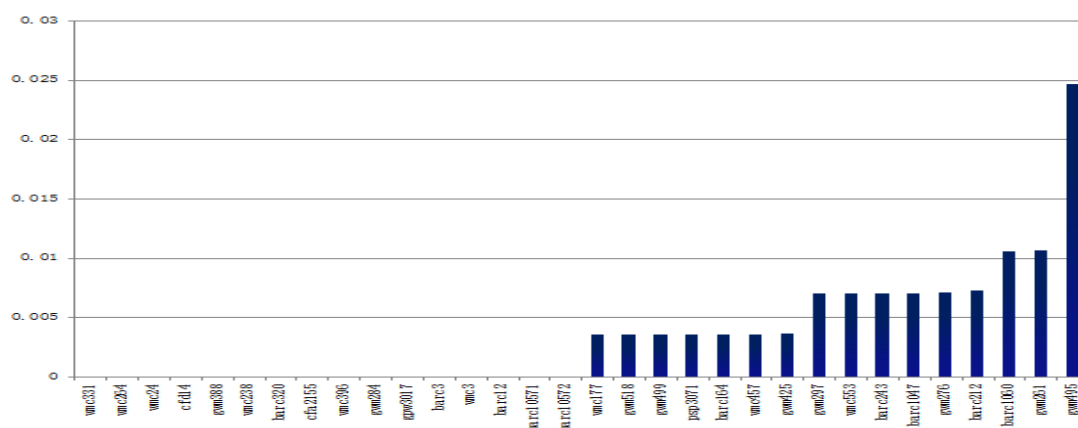
U lokusima *Xbarc1060* i *Xwmc3* zabeleženi su, redom, najmanji (3 bp) i najveći (132 bp) opsezi za veličinu produkata. Kod 26, od ukupno 32 analizirana *SSR* lokusa, veličina fragmenta varirala je u opsegu do 50 bp, kod 5 u opsegu do 100 bp, a samo je kod markera *WMC3* bila preko 100 bp (tab. 4). Veliki raspon variranja veličine alela kod markera *WMC3* zabeležen je i u bazi podataka za *SSR* markere pšenice (<http://wheatssr.lab.nig.ac.jp/markerdb/markers/show/wmc003>) gde se kod 32 sorte heksaploidne pšenice, veličina *WMC3* fragmenata kretala od 102,7 do 306,6 bp, pri čemu je kod 9 genotipova ustanovljeno prisustvo dva, a kod jednog tri alelna oblika po lokusu. Prema Zhang i sar. (2011a) i Yuan i sar. (2012) ovaj marker mapiran je na 3B hromozomu, dok Shahzad i sar. (2012) nisu uspeali da utvrde tačnu poziciju ovog markera u genomu.

U 24 ispitivana lokusa detektovano je prisustvo nultih alela. Najveći broj nultih alela detektovan je u lokusu *Xbarc320*, gde je kod 20 ispitivanih sorti, odnosno 7% ispitivanog materijala, izostalo umnožavanje datog mikrosatelitskog fragmenta (graf. 3). U ovom radu je kao kriterijum za definisanje prisustva nultog alela, uzet izostanak produkata amplifikacije nakon tri ponovljena *PCR*-a. Prema Devos i sar. (1995) nulti aleli su relativno uobičajeni za genom pšenice i javljaju se kao posledica tačkastih mutacija ili delecija u jednom ili oba mesta vezivanja prajmera.



Grafikon 3. Učestalost nultih alela po ispitivanom *SSR* markeru

Iako je pšenica samooplodna biljka, evidentno je postojanje unutrašnje heterogenosti, definisano kao identifikacija više od jednog alela za određeni marker kod pojedinačne sorte (Röder et al., 2002). U ovom radu, heterozigotnost je ustanovljena kod 50 % ispitivanih *SSR* markera, pri čemu je najveća učestalost, od 2,46 %, zabeležena u lokusu *Xgwm495* (graf. 4). Heterogenost se javljala u jednom, ređe dva ispitivana lokusa, kod 9,8 % ispitivanih genotipova.



Grafikon 4. Učestalost heterozigotnih individua po ispitivanom *SSR* lokusu

Röder i sar. (2002) su analizirajući 502 sorte pšenice poreklom iz evropskih oplemenjivačkih centara, u cilju utvrđivanja njihovog diverziteta i stvaranja baze podataka, ustanovili heterogenost kod preko 25 % sorti, pri čemu je najviši nivo ustanovljen kod materijala poreklom iz Jugoistočne Evrope. Roussel i sar. (2005) su postojanje više od jednog alela po lokusu unutar genotipa, prilikom proučavanja varijabilnosti tretirali kao nepostojeći podatak jer je prilikom izolacije DNK uzimano više zrna, tako da je bilo teško utvrditi da li se radi o heterogenosti sorte ili eksperimentalnoj grešci (kao što je mešanje semena prilikom uzorkovanja). Pomenuti autori su na taj način ustanovili da je udeo podataka koji nedostaju, bio niži od 5 % i nije bio u vezi sa geografskim poreklom genotipa. U ovom radu je takođe ustanovljeno da ne postoji veza između porekla neke sorte i njene heterogenosti.

Ukoliko se posebno analizira polimorfnost svakog od genoma heksaploidne pšenice, može se zaključiti da su markeri sa A genoma bili najinformativniji, sa *PIC* vrednošću od 0,744. Iako je B genom imao nešto nižu *PIC* vrednost, što je posledica većeg broja retkih alela, ovde je detektovana najveća srednja vrednost za broj alela po lokusu (tab. 5). Treba napomenuti da su iz ove analize izuzeti aleli markera *BARC1057* jer u dosadašnjim istraživanjima nije ustanovljena tačna pozicija ovog markera u genomu pšenice.

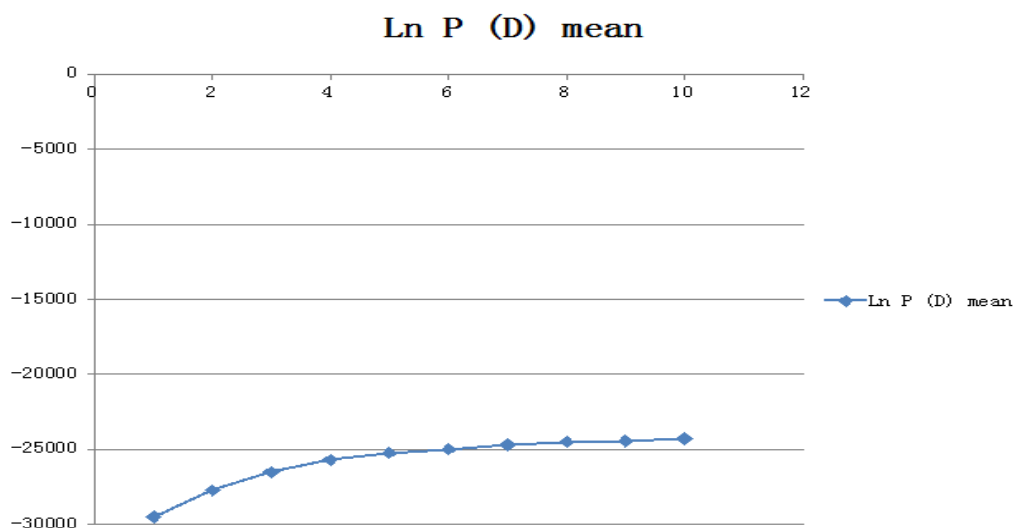
Tabela 5. Broj alela detektovanih po genomima pšenice

Genom	A	B	D
Broj markera	13	12	5
Ukupan broj alela (retki aleli)	167 (99)	182 (128)	41 (24)
Prosečan broj alela po lokusu	12,85	15,17	8,20
Prosečna <i>PIC</i> vrednost	0,744	0,719	0,573

Huang i sar. (2002) su analizirajući varijabilnost kod 998 genotipova heksaploidne pšenice poreklom iz 68 zemalja sveta, primenom seta od 24 *SSR* markera, takođe ustanovili najveću varijabilnost mikrosatelitskih lokusa B genoma, dok je za D genom detektovana najmanja varijabilnost. Manji diverzitet D genoma, ustanovljen je i primenom drugih tehnika molekularnih markera. Würschum i sar. (2013) su poređenjem 313 *SNP* markera sa jedinstvenom pozicijom na mapi, ustanovili da su A i B genomi sa, redom, 143 i 142 markera, bili podjednako zastupljeni, dok je D genom sa svega 18 markera bio nedovoljno zastupljen, ukazujući na njegovu malu polimorfnost. Isto tako, Nielsen i sar. (2014) su od 4750 informativnih *DarT* markera, 48 % mapirali na B genomu, 33 % na A, a svega 19 % na D genomu. Prema Breiman i Graur (1995) manja varijabilnost D genoma može biti posledica njegovog najskorijeg uvođenja u heksaploidni genom pšenice, kao posledica ukrštanja između amfiploida AABB i donora D genoma, *Aegilops tauschii*, pri čemu se pretpostavlja da se proces hibridizacije odvijao između ograničenog broja predstavnika obe vrste.

6. 1. 2. Struktura ispitivane populacije pšenice

U ovom radu je za utvrđivanja broja potpopulacija (K) primenjen softver *STRUCTURE* 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Kao rezultat dobijene su vrednosti parametra $LnP(D)$ i nakon toga je računat prosek na osnovu pet nezavisnih analiza za svaku od 10 K vrednosti koliko je zadato na početku analize. Na osnovu grafikona prosečnih vrednosti za $LnP(D)$ (graf. 5) ustanovljeno je da je plato vrednost dostignuta pri $K=6$, odnosno da se proučavani materijal sastoji iz šest potpopulacija.

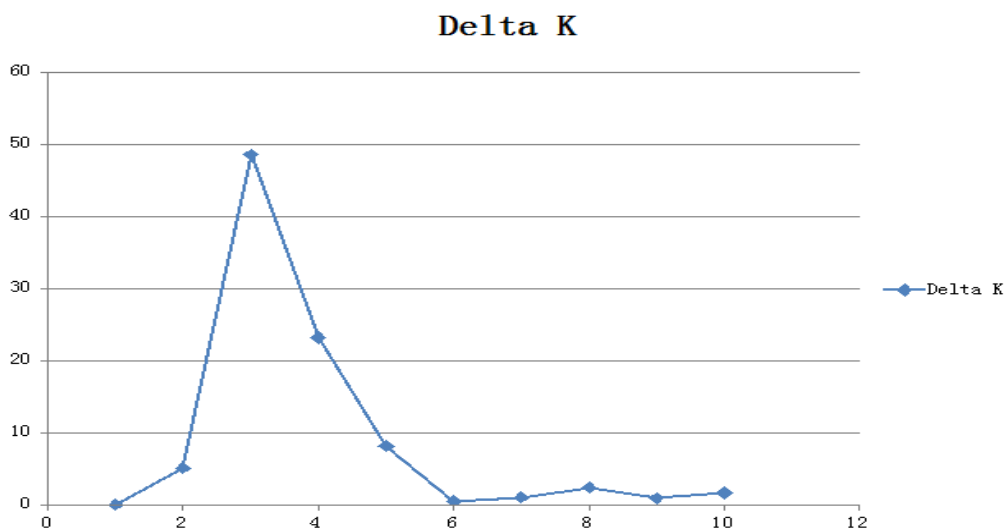


Grafikon 5. Prosečne vrednosti za $LnP(D)$ utvrđene za K parametar pri opsegu od 1 do 10

Evanno i sar. (2005) su uočili da u većini slučajeva kada se dostigne plato, $LnP(D)$ pri višim vrednostima za K i dalje ostaje u nivou platoa ili nastavlja neznatno da raste, kao i da se varijanse između pojedinačnih analiza (*run-ova*) povećavaju. U cilju validnijeg određivanja broja potpopulacija, navedeni autori su predložili da se broj potpopulacija određuje na osnovu vrednosti ΔK .

Pri primeni metoda predloženog od strane Evanno i sar. (2005), ΔK dostiže maksimalnu vrednost kada je K jednako tri (graf. 6), odnosno svi genotipovi analizirani

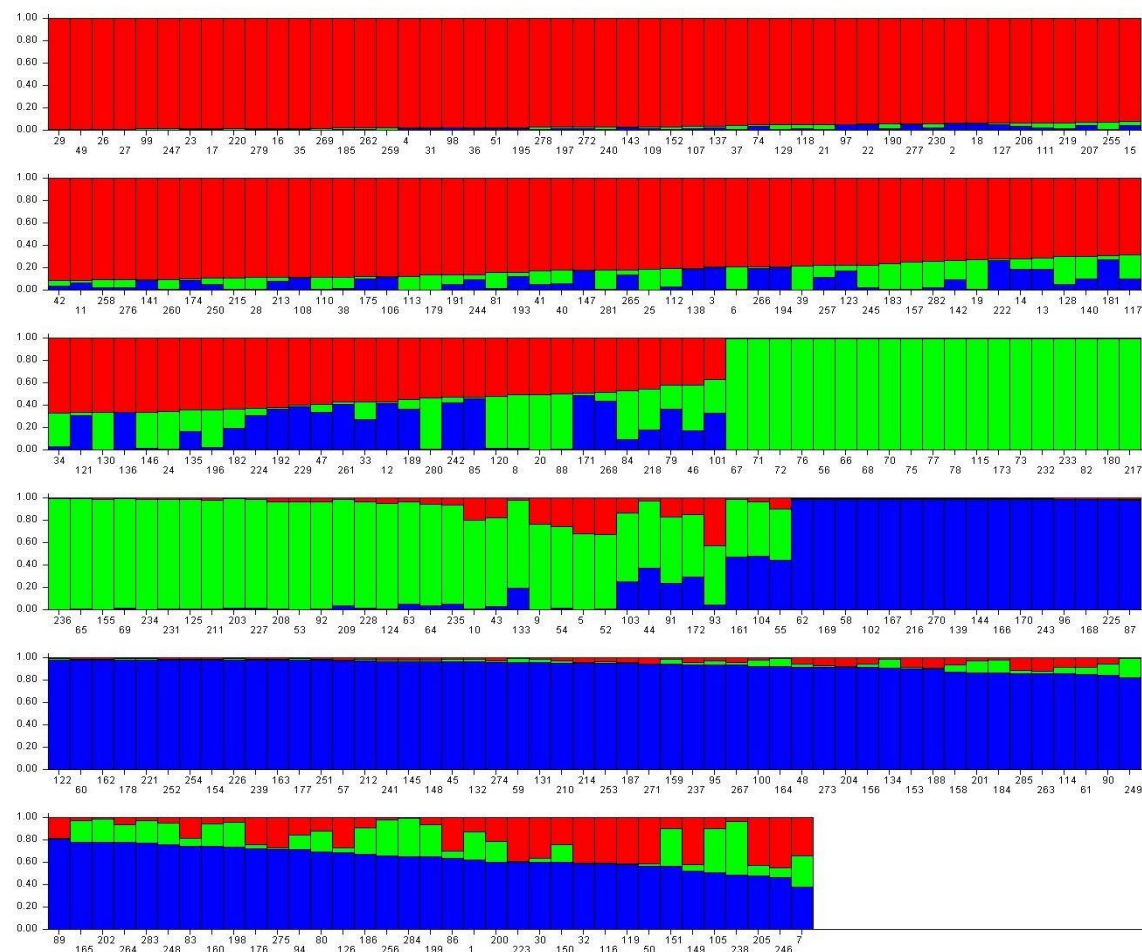
u ovom radu mogli su se podeliti u tri grupe, u odnosu na šest grupa ustanovljenih na osnovu prosečnih vrednosti za $LnP(D)$.



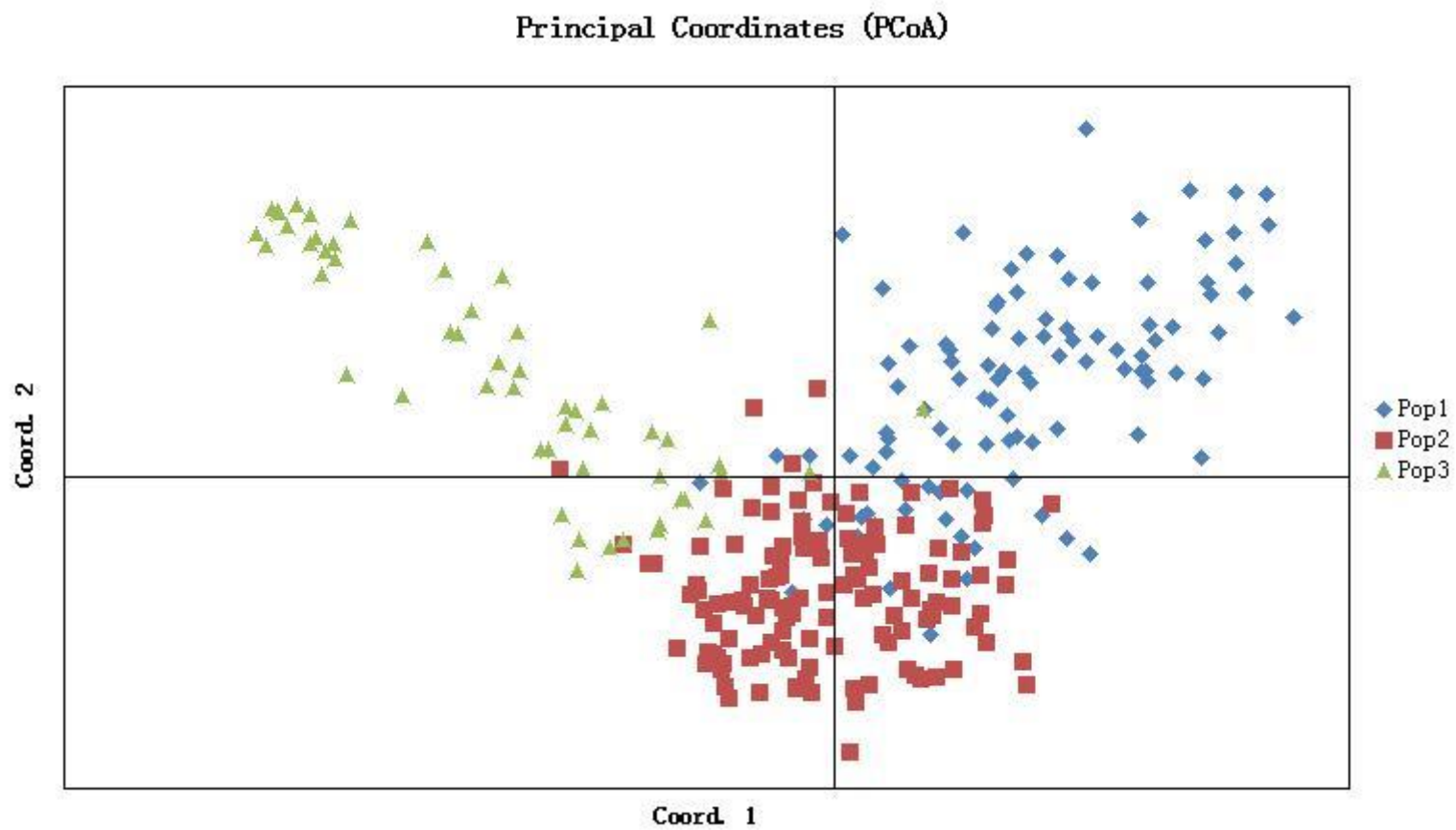
Grafikon 6. Delta K vrednost za K parametar pri opsegu od 1 do 10

Iako je metod Evanno i sar. (2005) prihvaćen od pojedinih grupa autora (Neumman et al., 2011; Nielsen et al., 2014), u literaturi se skoro podjednako primenjuje i parametar $LnP(D)$ pri određivanju strukture populacije (Zhang et al., 2010; Surlan-Momirovic et al., 2013). Međutim, u ovom radu je na osnovu analize Q matrica, koje se dobijaju u programu *STRUCTURE*, ustanovljeno da se genotipovi znatno jasnije raspoređuju u grupe pri vrednosti $K=3$, nego pri vrednosti $K=6$, te je prihvaćen metod prema Evanno i sar. (2005).

Najveći broj genotipova bio je raspoređen u potpopulaciji 2 (Q_2), označenoj crvenom bojom na grafikonu 7, ukupno 127 genotipova. Potpopulacija 1, obeležena plavom bojom, brojala je 101 genotip, dok je grupa 3 (zelena boja) imala najmanji broj individua, ukupno 54 (graf. 7).



Grafikon 7. Tri potpopulacije pšenice određene analizom u programu *STRUCTURE*. Vertikalne koordinate ukazuju na koeficijent pripadnosti pojedinačnog genotipa određenoj potpopulaciji, dok horizontalne koordinate predstavljaju oznaku genotipa navedenu u tab. 20.



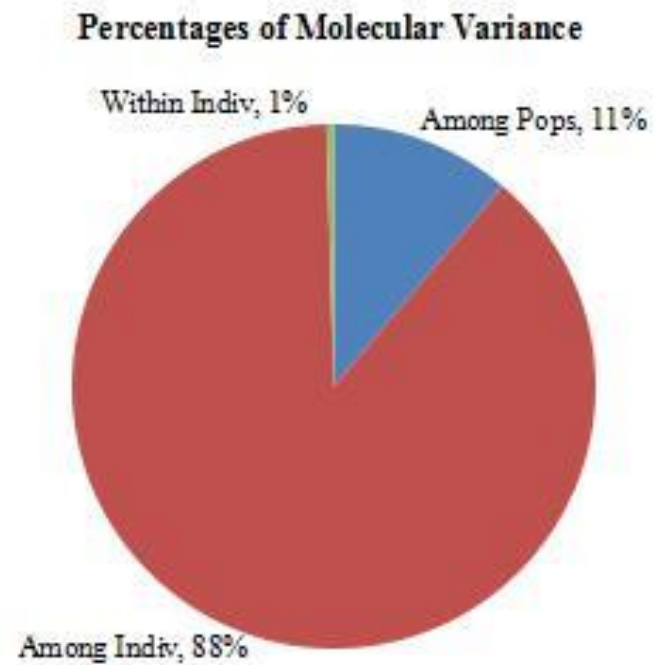
Grafikon 8. Analiza glavnih koordinata kod 282 genotipa pšenice. Različitim bojama i simbolima predstavljene su tri potpopulacije dobijene analizom u programu *STRUCTURE*.

Raspored ispitivanog materijala u potpopulacije, utvrđen je i analizom glavnih koordinata, primenom softvera *GenAIEx 6.5* (Peakall and Smouse 2006, 2012). Na grafikonu 8. predstavljen je raspored tri potpopulacije na osnovu utvrđene genetičke distance, pri čemu je pripadnost svakog genotipa datoj potpopulaciji prethodno definisana analizom u programu *STRUCTURE*. Ispitivani genotipovi su, radi bolje preglednosti prikazani šematski, bez oznake genotipa, a grupe su predstavljene istim bojama kao i na grafikonu 7. Poređenjem grafikona 7. i 8, ustanovljen je identičan raspored ispitivanih genotipova u potpopulacije, odnosno da je pripadnost pojedinih genotipova jednoj od grupa jasno definisana dok se određeni genotipovi nalaze na prelazu grupa. Prva koordinata razdvojila je potpopulaciju 1 i potpopulaciju 3, dok je druga koordinata razdvojila potpopulaciju 2 od preostale dve.

Analizom molekularne varijanse, ustanovljeno je da varijabilnost između individua ima najveći udeo u ukupnoj genetičkoj varijabilnosti (88 %), dok su se potpopulacije međusobno razlikovale za oko 11 % (graf. 9). Veća genetička varijabilnost između genotipova, u odnosu na varijabilnost između potpopulacija, u skladu je sa prethodno objavljenim radovima (Zhang et al., 2010; Nielsen et al., 2014).

Na osnovu dosadašnjih istraživanja, uočeno je da se raspored sorata u grupe prema softveru *STRUCTURE*, uglavnom poklapao sa njihovim geografskim poreklom i pedigreom (Zhang et al., 2010; Hao et al., 2011; Neumann et al., 2011; Chen et al., 2012; Dodig et al., 2012; Nielsen et al., 2014). Kako bi se ustanovio trend na osnovu kog su se sorte grupisale u ovom radu, analizirano je geografsko poreklo genotipova u svakoj od potpopulacija, a pored toga ustanovljen je i pedigre, na osnovu dostupnih podataka (PRILOG, tab. 20).

Ukoliko se posmatra geografsko poreklo analiziranih genotipova, uočava se izvesna pravilnost prilikom njihovog grupisanja. U prvoj potpopulaciji nalazi se većina sorti stvorenih u Srbiji, 56 od ukupno 72 sorte, kao i veći deo ruskih sorti, 8 od 11, sve rumunske sorte, ukupno 6 i svega 7 sorti poreklom iz SAD-a. Većina američkih genotipova, 52 od 63 ispitivanih, pripadala je drugoj grupi, gde se rasporedila i većina australijskih sorti, 11 od 21 ispitane, skoro sve hrvatske, 11 od 12, sve četiri mađarske sorte, kao i 9 sorti stvorenih u Srbiji.



Grafikon 9. Analiza molekularne varijanse ispitivane germplazme pšenice na osnovu matrice genetičke distance

Treća potpopulacija, koja je bila najmalobrojnija, obuhvatala je sve sorte poreklom iz Velike Britanije, većinu francuskih i nemačkih genotipova, kao i sedam novosadskih i četiri američke sorte (tab. 20).

Na osnovu uvida u pedigree ispitivanog materijala, ustanovljeno je da se u svakoj grupi izdvajaju određene sorte koje su dominantno prisutne u porodičnom stablu (<http://genbank.vurv.cz/wheat/pedigree/pedigree.asp>). U prvoj grupi (Q_1), većina genotipova kao jednog od roditelja ima sortu Bezostaya 1 ili neki od genotipova koji vodi poreklo od ove sorte (Kavkaz, Avropa, Balkan, Žitnica, NS 14-33, Novosadska Rana 2). Pored toga, značajan udeo u predačkim linijama ove potpopulacije imaju i sorte poreklom iz programa italijanskog oplemenjivača *Nazareno Strampelli*-a, pri čemu se izdvaja sorta Damiano sa sortama potomcima (Mara i Fortunato), a zatim i San Pastore i Ardito. Genotip Heines-VII poreklom iz Nemačke, bio je zastupljen u porodičnom stablu kod dvadesetak sorti, kao i američka sorta Redcoat, dok su linije nastale ukrštanjem japanske sorte Norin-10 i američke sorte Brevor, nastale u *CIMMYT*-u, imale znatno manji udeo.

U drugoj potpopulaciji, gde je raspoređena većina sorti poreklom iz SAD-a, u pedigreeima se najčešće javlja kanadska sorta Marquis, direktno ili preko potomaka (Hope, Tenmarq, Arthur), kao i sorte koje u porodičnom stablu imaju linije nastale iz ukrštanja Norin-10/Brevor (meksičke sorte Lerma Rojo 64, Sonora 64, Pitic 62 i Penjamo 62). Kineska sorta Chinese Spring takođe je učestala u predačkim linijama ove grupe, kao i brazilska sorta Frontana. Unutar ove grupe nalaze se i hrvatske sorte koje karakteriše razgranat tip klasa, osobina koja potiče od roditelja Granata, nepoznatog porekla, tako da se ne može precizirati njihova pripadnost ovoj potpopulaciji. Jedino se kod sorti ZG 1008 i ZG 1011 javlja genotip Slavenka, koji u svom pedigreeu ima sorte Marquis, Ardito i Fultz, široko rasprostranjene u pedigreeima grupe Q_2 (tab. 20).

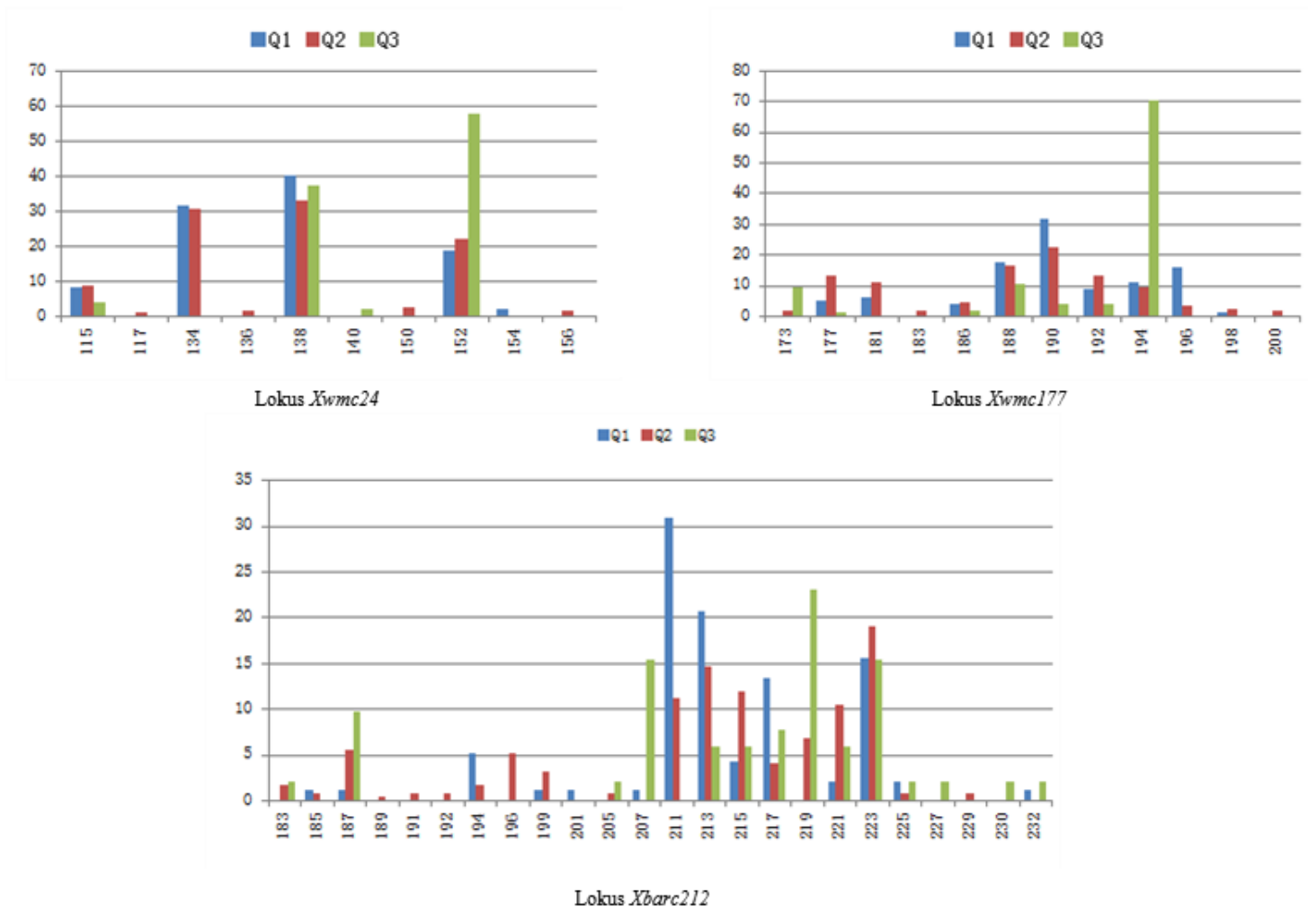
U pedigreeima treće potpopulacije najčešće se javljala sorta Cappelle Desprez i njeni potomci (Caribo, Perseus, Maris-Huntsman, Maris-Ploughman, Hobbit) kao i sorte čijim ukrštanjem je nastala, Vilmorin-27 i Hybride De Joncquois. Kanadska sorta Marquis bila je u takođe prisutna ovoj grupi, ali znatno ređe. Kod sorti britanskog porekla se pored navedenih, javljala još i sorta Viking, kao i genotip Squarehead (tab. 20).

Na osnovu grafikona dobijenih u programima *STRUCTURE* (graf. 7) i *GenAlEx* (graf. 8), može se uočiti da se određeni broj analiziranih genotipova nalazio na prelazima između grupa, odnosno verovatnoća pripadnosti datim potpopulacijama bila je oko 0,5. Dobijeni rezultati mogu se objasniti na osnovu pedigrea ispitivanog materijala jer su se sledeći genotipovi sa većom ili manjom učestalošću, javljali u porodičnim stablima sve tri potpopulacije: Bezostaya 1, Bezostaya 4, San Pastore, Mara, Fortunato, Redcoat, Gabo, Heiness VII, Norin 10 i Brevor (tab. 20). Navedeni genotipovi su nosioci određenih gena koji su u vezi sa visokim genetičkim potencijalom za prinos i/ili otpornošću na prevalentne bolesti (McIntosh et al., 2012), te su imali značajnu ulogu u oplemenjivačkim programima širom sveta.

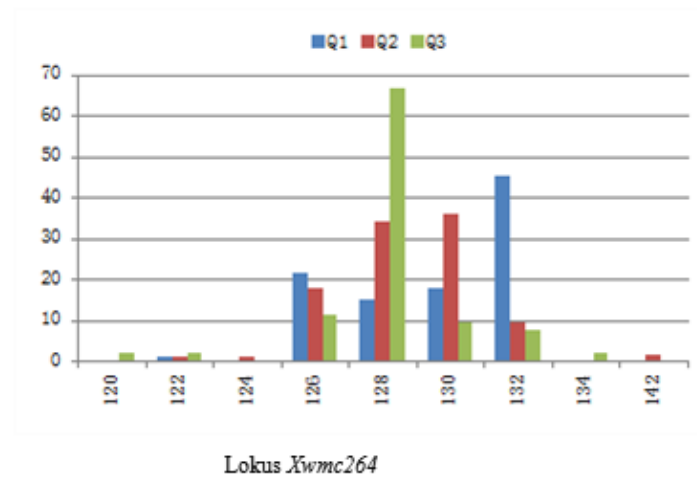
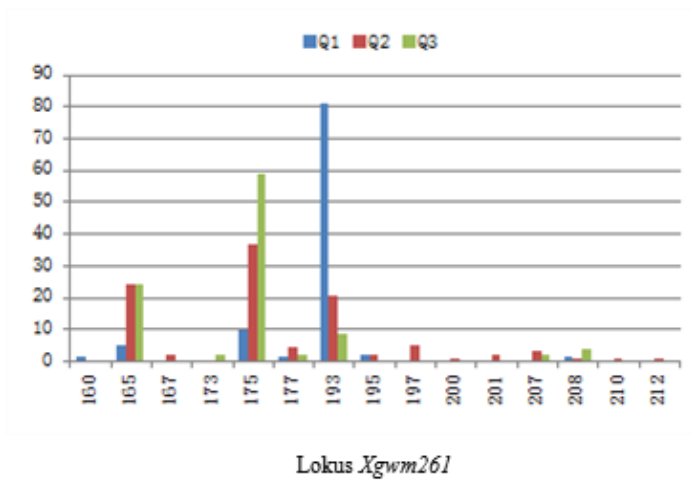
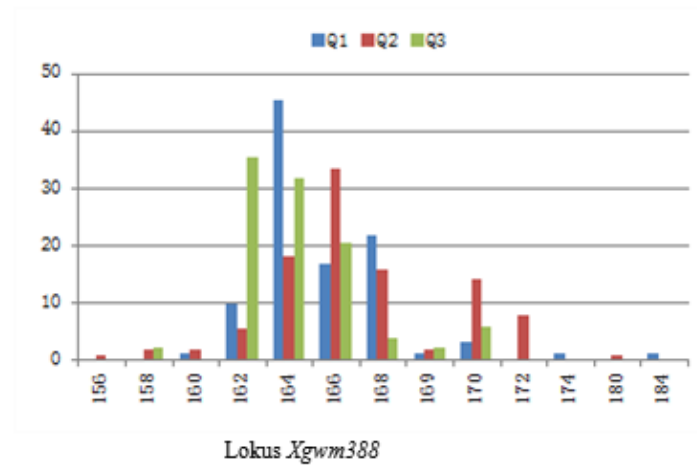
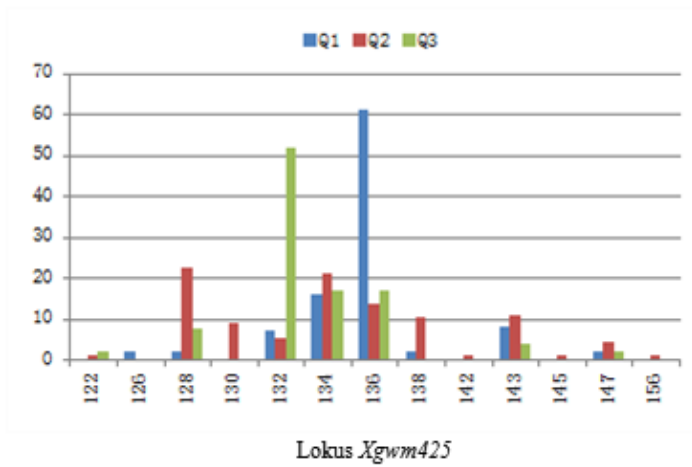
U ovom radu je struktura populacije ispitivane germplazme, utvrđena na osnovu molekularne evaluacije 31 mikrosatelitskog lokusa. U radu Neumann i sar. (2011), analizirana je struktura populacije na setu od 96 sorti pšenice poreklom iz 21 zemlje sveta, pri čemu su korišćeni rezultati genotipizacije primenom 219 *DarT* markera i utvrđeno je postojanje dve grupe. Oko 70 sorti analiziranih u radu navedenih autora, bile su deo materijala ispitivanog u ovoj doktorskoj disertaciji. Poređenjem rezultata, ustanovljeno je da su se podudarni genotipovi nedvosmisleno rasporedili u dve grupe, odnosno da su rezultati ove disertacije u skladu sa nalazima Neumann i sar. (2011), što čini odabrane *SSR* markere informativnim za utvrđivanje strukture populacije.

6. 1. 3. Alelna varijabilnost u potpopulacijama pšenice

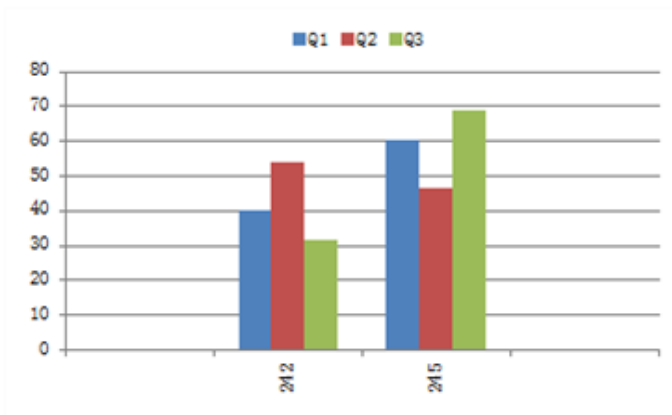
Ukoliko se analizira alelna varijabilnost u okviru potpopulacija, mogu se uočiti razlike u polimorfnosti, kao i u distribuciji frekvencija za pojedine alele kod svih ispitivanih *SSR* markera. U svega 7 od 32 ispitivana lokusa (*Xbarc1047*, *Xgwm495*, *Xgwm499*, *Xbarc243*, *Xbarc320*, *Xbarc1057.1* i *Xbarc1057.2*) utvrđeno je da je isti alelni oblik bio najučestaliji u sve tri grupe, dok su se za 11 analiziranih mikrosatelita (*BARC212*, *GWM425*, *GWM388*, *WMC264*, *BARC12*, *WMC238*, *WMC553*, *BARC3*, *PSP3071*, *GWM297* i *CFD14*) potpopulacije u potpunosti razlikovale u pogledu alela sa maksimalnom frekvencijom. U potpopulaciji dva, koja je brojala najveći broj individua, ustanovljena je i najveća alelna varijabilnost u većini ispitivanih *SSR* lokusa (graf. 10).



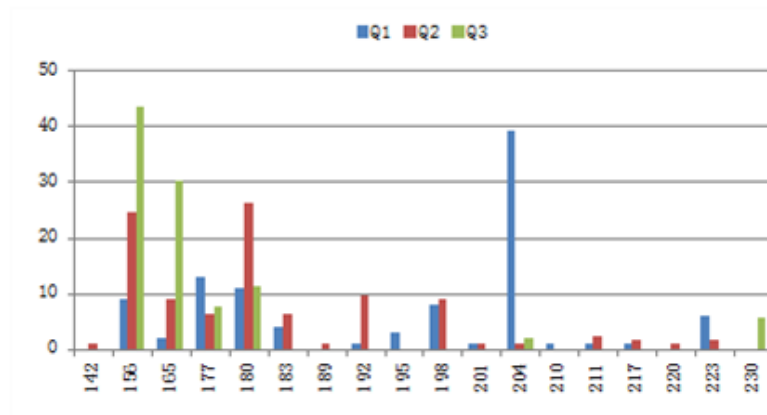
Grafikon 10. Distribucija alela u potpopulacijama u ispitivanim *SSR* lokusima pšenice



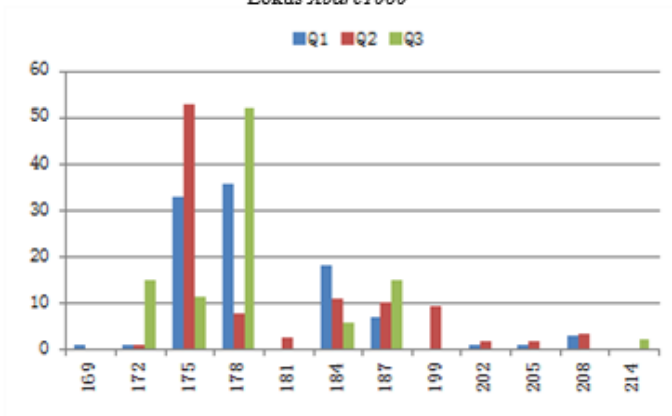
Grafikon 10. (nastavak)



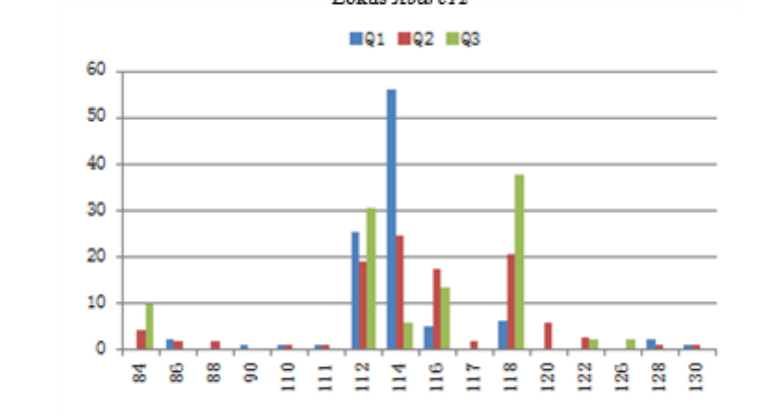
Lokus *Xbarc1060*



Lokus *Xbarc12*

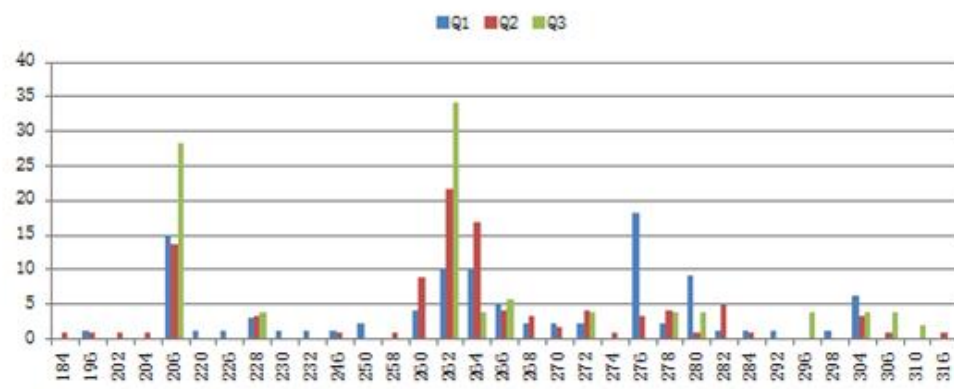


Lokus *Xbarc164*

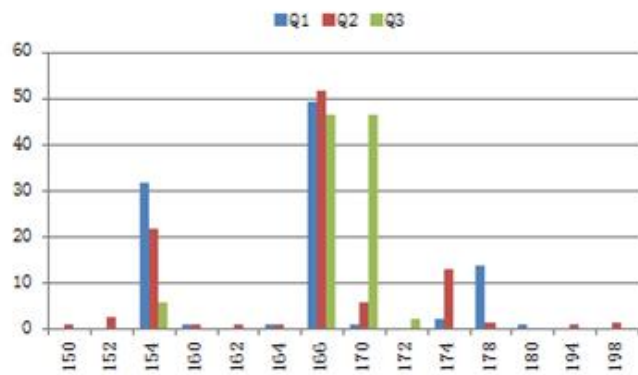


Lokus *Xgwm284*

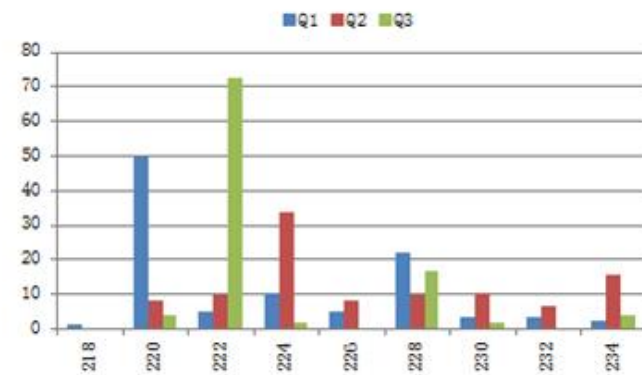
Grafikon 10. (nastavak)



Lokus *Xwmc3*

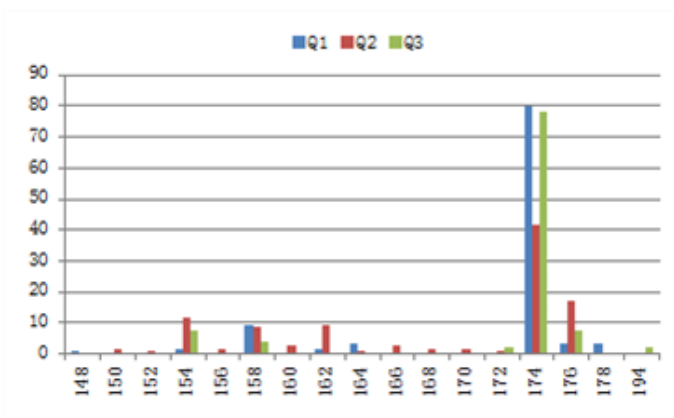


Lokus *Xbarc1047*

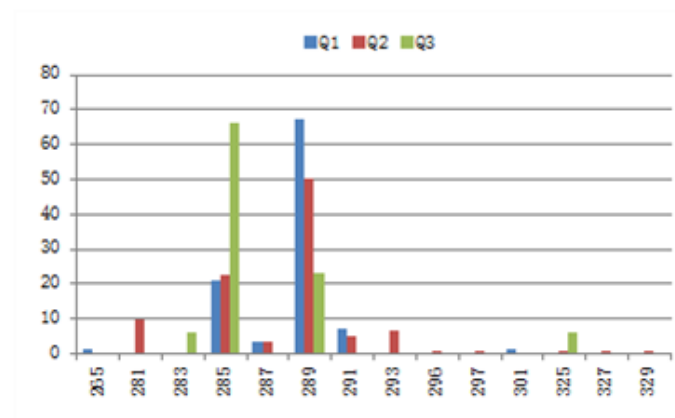


Lokus *Xwmc238*

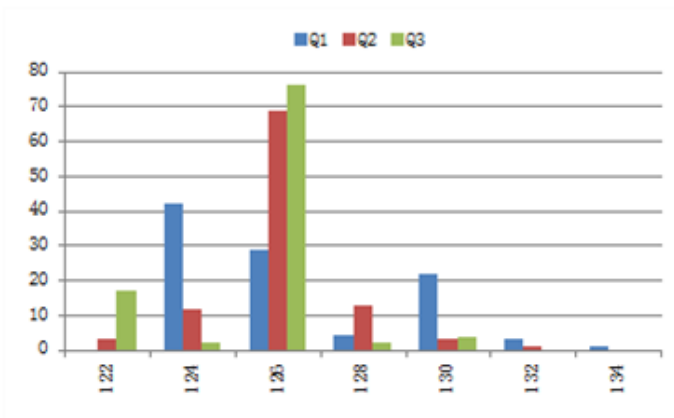
Grafikon 10. (nastavak)



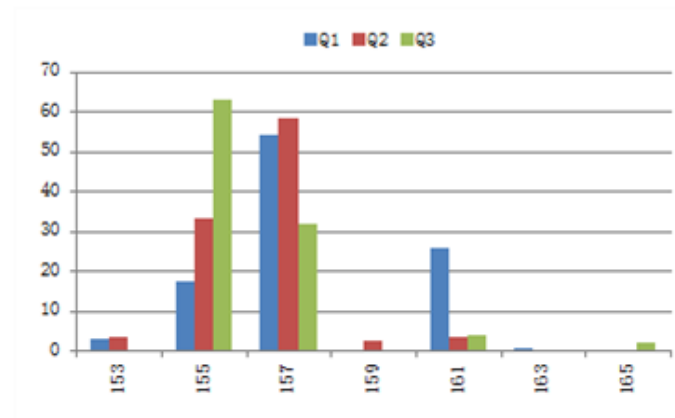
Lokus *Xgwm495*



Lokus *Xgwm3017*

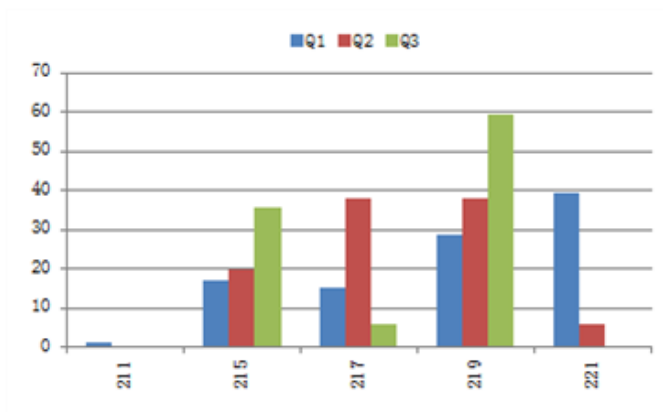


Lokus *Xwmc331*

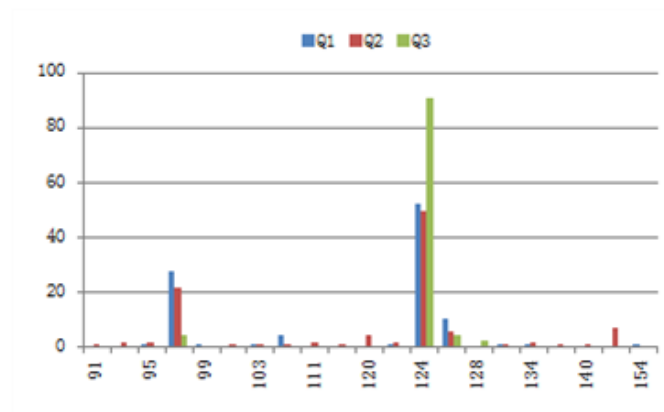


Lokus *Xwmc457*

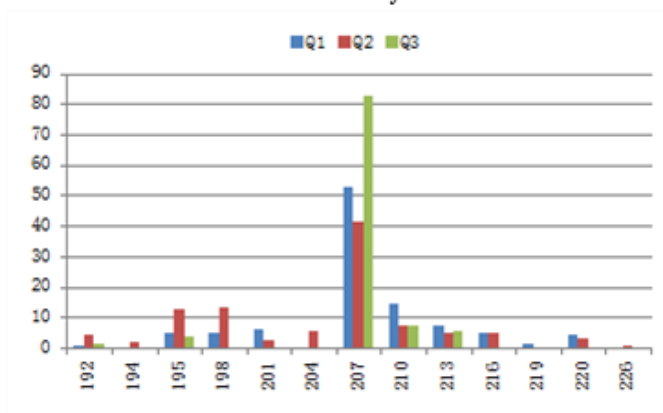
Grafikon 10. (nastavak)



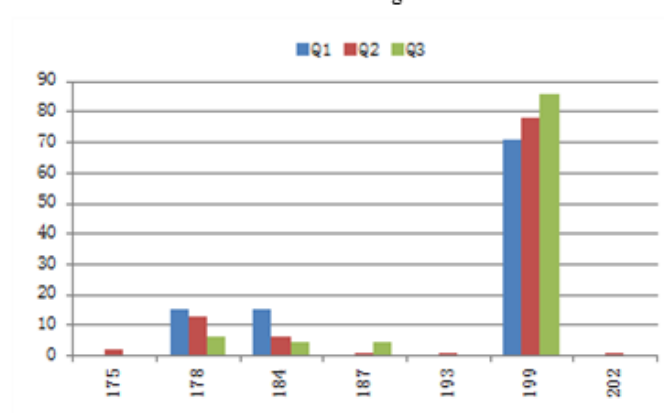
Lokus *Xcfa2155*



Lokus *Xgwm499*

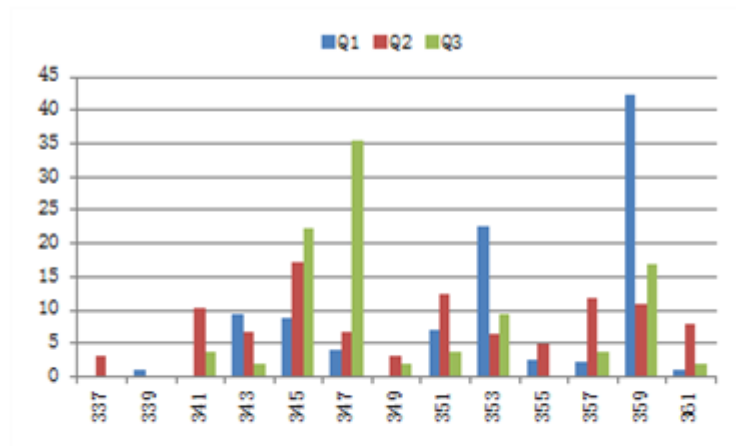


Lokus *Xbarc243*

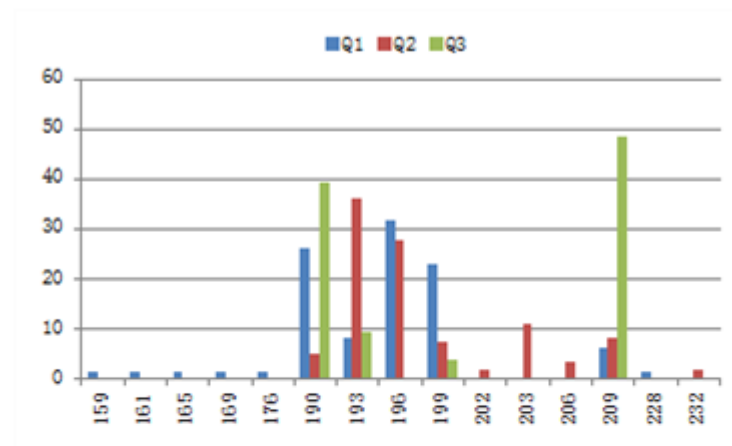


Lokus *Xbarc320*

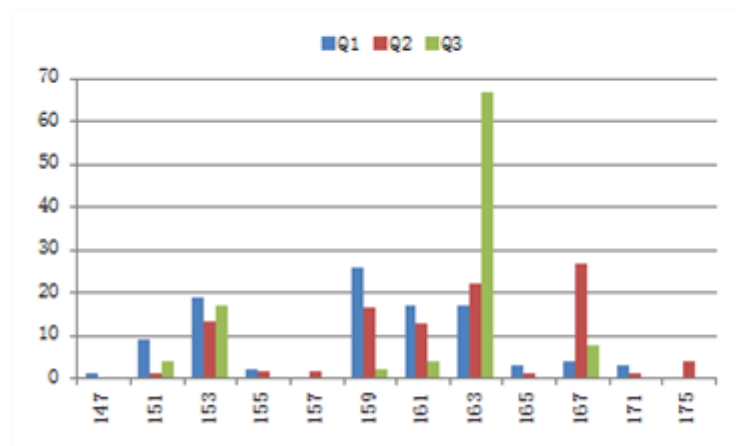
Grafikon 10. (nastavak)



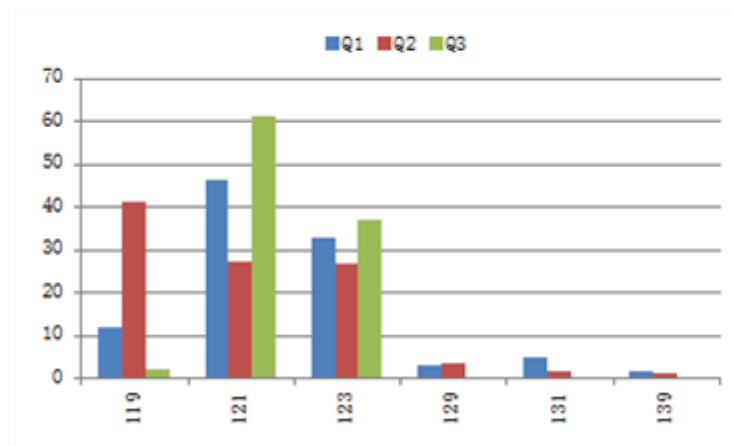
Lokus *Xwmc553*



Lokus *Xbarc3*

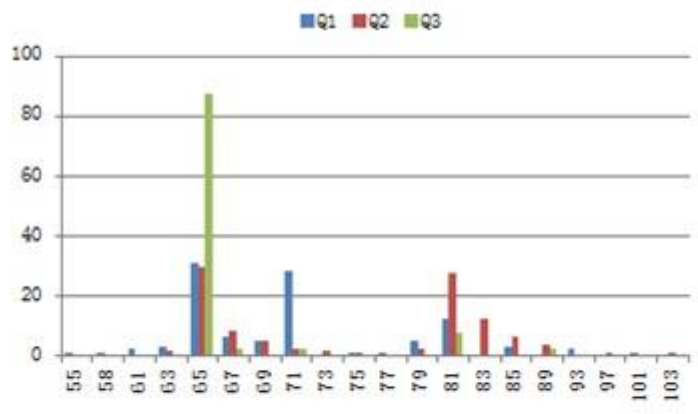


Lokus *Xpsp3071*

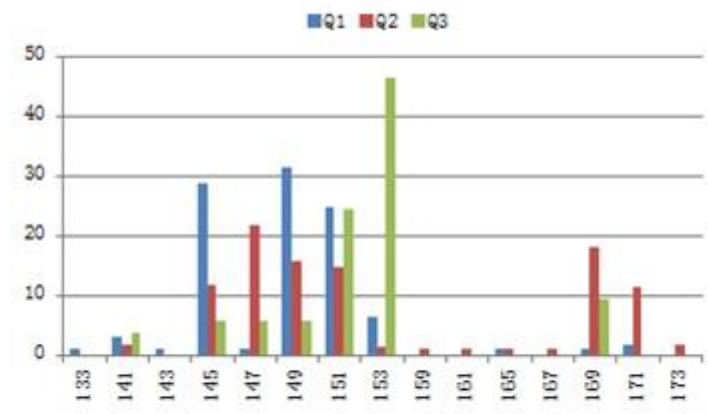


Lokus *Xgwm518*

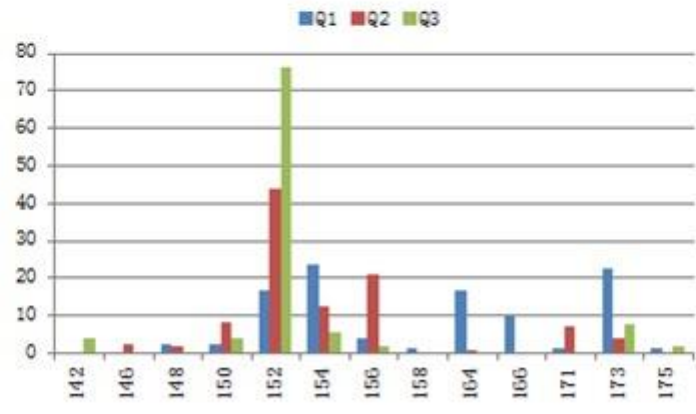
Grafikon 10. (nastavak)



Lokus Xgwm276

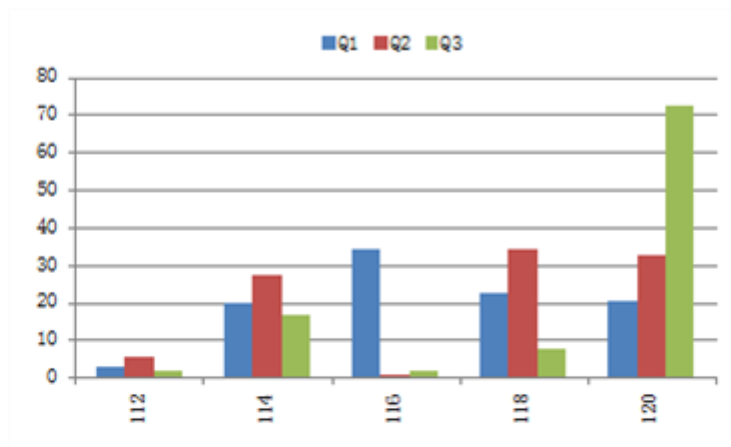


Lokus Xgwm297

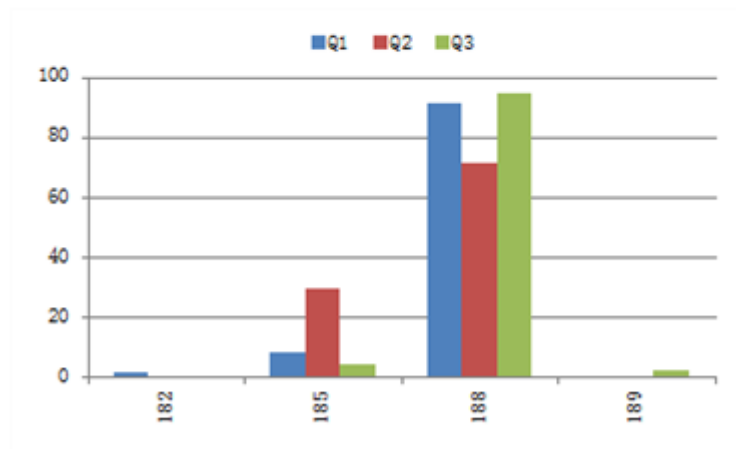


Lokus Xwmc396

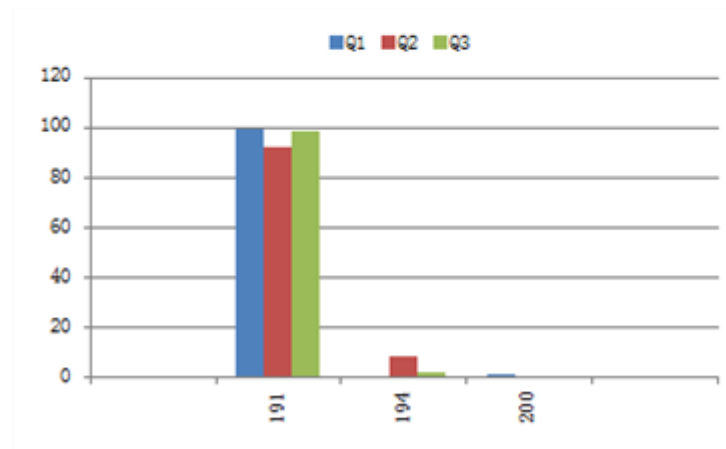
Grafikon 10. (nastavak)



Lokus *Xcfd14*



Lokus *Xbarc1057.1*



Lokus *Xbarc1057.2*

Grafikon 10. (nastavak)

6. 2. Fenotipska evaluacija

U ovom radu korišćeni su podaci fenotipske analize koja se odvijala u petogodišnjem periodu, od 1995. do 1999. godine. U prethodno navedenom periodu, kod 282 sorte pšenice zabeleženi su: visina stabljike, vreme klasanja, vreme cvetanja, dužina klasa, broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, broj zrna po klasu, masa klasa, masa zrna po klasu, masa hiljadu zrna i prinos.

6. 2. 1. Deskriptivni statistički parametri

Za svaku od 11 agronomski značajnih osobina pšenice, utvrđeni su deskriptivni statistički parametri primenom programa *StatSoft*, verzija 12.0 (tab. 6).

Tabela 6. Deskriptivni statistički parametri za 11 agronomskih osobina pšenice

	VS	VK	VC	DK	BK	BSK	BZ	MK	MZ	MHZ	PR
Minimum	19,0	114,0	123,0	4,0	13,0	0,0	13,9	0,36	0,22	16,60	0,91
Maksimum	141,0	150,0	155,0	18,3	78,0	17,7	83,5	5,60	4,08	56,70	11,77
Srednja vrednost	85,1	133,8	138,7	9,9	21,0	2,2	43,0	2,07	1,58	37,66	6,38
Varijansa	372,9	37,9	28,9	2,5	32,8	2,4	85,9	0,22	0,14	50,43	3,05

Na osnovu utvrđenih minimalnih i maksimalnih vrednosti za ispitivane osobine (tab. 6), može se zaključiti da je odabrani materijal bio fenotipski veoma varijabilan u pogledu svih osobina od značaja za oplemenjivače. Visina stabljike je varirala od 19 cm zabeleženih kod patuljaste sorte Tibet Dwarf 1998. godine, do 141 cm izmerenog kod genotipa Purdue 5392 iste godine. Najranije vreme klasanja i cvetanja zabeleženo je kod kineske sorte Al-Kan-Tzao, redom 114 i 123 dana za 1999. godinu, dok je najkasnije sazrevala argentinska sorta Magnif 41, 150 odnosno 155 dana u toku 1995. godine.

Kod hrvatske linije ZGK 238/82, 1999. godine izmeren je klas od 18,3 cm, a najkraći klas, dužine svega 4 cm zabeležen je 1998. godine kod *Triticum compactum*

var. *Humboldt*, podvrste koju karakteriše zbijeniji tip klasa, odnosno kraće vreteno klasa koje se javlja kao posledica mutacije *C lokusa* (Johnson et al., 2008). Najmanju prosečnu vrednost za broj klasića po klasu imala je italijanska sorta Concordia, samo 13,0 ustanovljenih 1997. godine, dok je kod hrvatske linije koju karakteriše razgranat tip klasa, ZG K T 159/82 u toku 1999. godine zabeležena maksimalna vrednost od 78,0 klasića. Kod hrvatskih sorti granatog tipa klasa, zabeležena je ujedno i najveća vrednost za broj sterilnih klasića po klasu, 17,7 kod genotipa ZG K 176/82, 1995. godine, a sorta Kenya Gala je u proseku imala najfertilnije klasove, sa vrednošću od 0,0 za navedeni parametar u toku 1999. godine.

Kod argentinske sorte Magnif 41, koja je najkasnije sazrevala, zabeležen je i najmanji broj zrna po klasu, 13,9 u toku 1997. godine, kao i najmanja masa klasa i masa zrna po klasu, redom 0,36 i 0,22 izmereni 1995. godine. Najveće srednje vrednosti za broj zrna po klasu, masu klasa i masu zrna po klasu, ustanovljene su kod meksičke linije Mex. 17bb i iznosile su, redom, 83,5 (1999. godine), 5,60 g i 4,08 g (obe u toku 1996. godine).

Materijal koji je odabran za analizu u ovom radu karakterisao je veliki raspon varijabilnosti i u pogledu mase 1000 zrna i prinosa. Tako je najmanja prosečna vrednost za MHZ varirala od 16,6 g utvrđenih kod američke sorte Tom Thumb 1999. godine, do 56,7 g izmerenih 1997. godine kod linije W 52. Australijska sorta Sun 25 1 imala je najmanju vrednost za prinos, 0,91 t/ha za 1996. godinu, dok se novosadska linija NS 559 pokazala kao najprinosnija, sa 11,77 t/ha utvrđenih 1997. godine (tab. 6).

Među ispitivanim osobinama najveća varijansa je zabeležena za visinu, 372,9, a najmanja za masu zrna po klasu, 0,14 (tab. 6).

6. 2. 2. Analiza varijanse

Analizom varijanse ustanovljeno je da se svih pet godina statistički veoma značajno razlikovalo ($P < 0,01$) u pogledu ispitivanih osobina (tab. 7). Testiranje veze marker-osobina tokom godina, odnosno sezona koje se statistički značajno razlikuju, predstavlja važan preduslov za detekciju stabilnih *QTL*-a.

Tabela 7. Analiza varijanse za ispitivane godine (1995-1999) kod 11 agronomski značajnih osobina pšenice

Osobina	Izvori varijacije	Suma kvadrata SS	Stepeni slobode df	Sredina kvadrata MS	F
VS	Godina	100089	4	25022	82,94**
	Greška	428375	1420	302	
VK	Godina	16926	4	4232	162,4**
	Greška	36993	1420	26	
VC	Godina	8531	4	2133	93**
	Greška	32506	1420	23	
DK	Godina	233,7	4	58,4	24,93**
	Greška	3328,0	1420	2,3	
BK	Godina	937,3	4	234,3	7,33**
	Greška	45378,7	1420	32,0	
BSK	Godina	205,798	4	51,450	23,125**
	Greška	3159,236	1420	2,225	
BZ	Godina	13810	4	3452	43,65**
	Greška	112324	1420	79	
MK	Godina	25,961	4	6,490	32,84**
	Greška	280,607	1420	0,198	
MZ	Godina	19,606	4	4,902	39,34**
	Greška	176,921	1420	0,125	
MHZ	Godina	6920	4	1730	38,20**
	Greška	64301	1420	45	
PR	Godina	887,44	4	221,86	91,13**
	Greška	3456,89	1420	2,43	

** $P < 0,01$

Tabela 8. Analiza varijanse potpopulacija pšenice za sve ispitivane osobine u petogodišnjem periodu

Osobina	Izvori varijacije	Suma kvadrata SS	Stepeni slobode df	Sredina kvadrata MS	F
VS	Grupa	23243	2	11621	32,56**
	Greška	502172	1407	357	
VK	Grupa	8562	2	4281	134,1**
	Greška	44904	1407	32	
VC	Grupa	7181	2	3591	150**
	Greška	33603	1407	24	
DK	Grupa	65,2	2	32,6	13,23**
	Greška	3466,9	1407	2,5	
BK	Grupa	788,8	2	394,4	12,21**
	Greška	45448,5	1407	32,3	
BSK	Grupa	211,420	2	105,710	47,375**
	Greška	3139,472	1407	2,231	
BZ	Grupa	233	2	117	1,32
	Greška	124337	1407	88	
MK	Grupa	7,569	2	3,784	17,98**
	Greška	296,198	1407	0,211	
MZ	Grupa	8,602	2	4,301	32,56**
	Greška	185,853	1407	0,132	
MHZ	Grupa	3708	2	1854	38,73**
	Greška	67354	1407	48	
PR	Grupa	216,42	2	108,21	37,25**
	Greška	4087,04	1407	2,90	

** $P < 0,01$

Analiza varijanse potpopulacija, pri čemu su korišćene prosečne vrednosti za pet ispitivanih godina, pokazala je statistički veoma značajne razlike ($P < 0,01$) među potpopulacijama za sve analizirane osobine, osim za broj zrna po klasu (tab. 8).

6. 2. 3. Korelacije među ispitivanim osobinama pšenice

Agronomski značajne osobine pšenice mogu biti međusobno u negativnoj ili pozitivnoj korelaciji. Sam pravac korelacije zavisi od ciljeva oplemenjivanja i može se menjati u zavisnosti od agroekoloških uslova sredine u kojoj se biljka gaji, što treba uzeti u obzir prilikom tumačenja rezultata. Tako npr. ukoliko su prinos i vreme sazrevanja u pozitivnoj vezi, to je nepoželjno u sredini gde postoji terminalni abiotički stres kao što su ekstremne temperature i suša (De Pauw et al., 1981; an Ginkel et al., 1998). Sa druge strane ovakva zavisnost je poželjna u predelima gde ne vladaju ovako surovi uslovi spoljašnje sredine, kao i u područjima gde postoje uslovi za sprovođenje melioracije (De Pauw et al., 2007).

U ovom radu, kako bi se utvrdilo postojanje veze između jedanaest ispitivanih osobina, izračunat je Pirsonov koeficijent korelacije, a podaci su prikazani u tabeli 9. Utvrđena je veoma slaba negativna korelacija između prinosa i vremena klasanja i cvetanja, za nivo značajnosti od, redom, 0,01 i 0,001. Drugim rečima, u našem agroklimatskom regionu, u ispitivanom petogodišnjem periodu sorte koje su ranije sazrevale, ostvarivale su više prinose. Pored toga, prinos je bio u veoma slaboj negativnoj korelaciji sa dužinom klasa, brojem klasića po klasu, brojem sterilnih klasića po klasu, kao i brojem zrna po klasu, dok je korelacija sa masom zrna po klasu i masom hiljadu zrna bila pozitivna, veoma slaba, odnosno slaba.

Masa hiljadu zrna bila je u veoma slaboj negativnoj vezi sa vremenom klasanja, dužinom klasa i brojem sterilnih klasića po klasu, kao i u slaboj negativnoj korelaciji sa vremenom cvetanja, brojem klasića po klasu i brojem zrna po klasu. U pogledu ove osobine, prednost je kao i kod prinosa data ranim sortama, koje imaju kraći i plodniji klas. Slaba pozitivna korelacija utvrđena je između MHZ i mase klasa, dok je sa masom zrna veza bila pozitivna, srednje jačine (tab. 9).

Tabela 9. Statistički značajne korelacije fenotipskih osobina pšenice za pet ispitivanih godina

	VS	VK	VC	DK	BK	BSK	BZ	MK	MZ	MHZ	PR
VS	1										
VK		1									
VC		0,960***	1								
DK	0,180***	0,165***	0,229***	1							
BK	0,152***	0,184***	0,242***	0,470***	1						
BSK	0,232***	0,262***	0,305***	0,401***	0,734***	1					
BZ	-0,139***			0,366***	0,421***		1				
MK		-0,082**	-0,064*	0,360***	0,293***		0,691***	1			
MZ		-0,163***	-0,161***	0,220***	0,183***	-0,111***	0,604***	0,947***	1		
MHZ	0,130***	-0,145***	-0,209***	-0,112***	-0,250***	-0,169***	-0,336***	0,334***	0,468***	1	
PR		-0,074**	-0,140***	-0,143***	-0,161***	-0,137***	-0,164***		0,143***	0,327***	1

Nivoi značajnosti predstavljeni su pomoću zvezdica na sledeći način: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ i *** $P < 0,001$

Veza visine stabljike sa dužinom klasa, brojem klasića po klasu i MHZ bila je pozitivna, ali veoma slaba. Ustanovljena je i slaba pozitivna korelacija sa brojem sterilnih klasića po klasu, kao i veoma slaba negativna veza sa brojem zrna po klasu, što bi značilo da je u ispitivanom periodu sa porastom visine rastao i broj sterilnih klasića, a smanjivao se broj zrna po klasu (tab. 9).

Vreme klasanja i cvetanja bilo je međusobno u veoma jakoj korelaciji ($r = 0,960$), tako da se njihova veza sa ostalim osobinama nalazila u istom pravcu. Pozitivna veoma slaba, odnosno slaba korelacija, zabeležena je sa DK, BK i BSK, dok je veoma slaba negativna veza utvrđena sa MK i MZ (tab. 9).

Dužina klasa bila je u pozitivnoj korelaciji sa ostalim osobinama klasa, pri čemu je veza sa brojem klasića po klasu i brojem sterilnih klasića po klasu bila srednjeg intenziteta, a sa preostalim osobinama slaba. Jaka pozitivna veza utvrđena je između BK i BSK, a u istom pravcu bila je i korelacija sa BZ (srednja jačina), MK (slaba jačina) i MZ (veoma slab intenzitet). Veza između mase klasa i mase zrna po klasu bila je veoma jaka i pozitivna, a obe osobine bile su u jakoj korelaciji sa brojem zrna po klasu (tab. 9).

Neumann i sar. (2011) su analizirali fenotipske korelacije za 20 morfoloških i agronomski značajnih osobina na setu od 96 genotipova poreklom iz različitih svetskih oplemenjivačkih centara, pri čemu je oko 70 genotipova bilo zajedničko i ogled je bio postavljen na istom lokalitetu kao i u ovom radu, Rimskim Šančevima, u periodu od 1993. do 2001. godine. Rezultati navedenih autora su u skladu sa rezultatima dobijenim u ovom radu, gde je ustanovljeno da ranije sorte ostvaruju nešto više prinose, s tom razlikom što su oni utvrdili i veoma slabu pozitivnu korelaciju između visine stabljike i prinosa, kao i slabu pozitivnu korelaciju mase klasa i prinosa.

Analizirajući komponente prinosa pšenice kod dve mapirajuće populacije, na tri lokaliteta u Indiji, u periodu između 2000. i 2002. godine, Kumar i sar. (2007) su dobili drugačije rezultate. Prema njihovim podacima, prinos je bio u veoma jakoj pozitivnoj korelaciji sa dužinom klasa i brojem klasića po klasu u jednoj od dve ispitivane populacije, dok je veza prinosa i broja zrna po klasu bila statistički veoma značajna u obe populacije (r od 0,78 i 0,64). Veza između DK i BK, bila je statistički veoma

značajna u obe populacije, a između BZ i DK, odnosno BZ i BK, samo u prvoj populaciji i bila je pozitivna, što je u skladu sa rezultatima ove disertacije.

Wang i sar. (2011) su u toku 2007. godine prikupljali podatke fenotipske analize za određene komponente prinosa na tri lokaliteta u Kini za $F_{2:3}$ potomstvo nastalo ukrštanjem linija 3228 i Jing 4839, odnosno na primeru mapirajuće populacije. Navedeni autori su utvrdili statistički veoma značajne pozitivne veze između dužine klasa i broja klasića, odnosno zrna po klasu, kao i između broja klasića po klasu i broja zrna po klasu, što je u skladu sa rezultatima prethodno navedenih radova. Pored toga, ovde je takođe ustanovljena slaba negativna korelacija MHZ sa BZ, odnosno što je veći broj zrna po klasu, ona su sitnija pa daju manju masu hiljadu zrna.

U uslovima kasne setve, gde su biljke izložene toplotnom stresu na kraju sezone, u uzorku mapirajuće populacije nastale ukrštanjem roditelja ekstremnih u pogledu tolerantnosti na visoke temperature, Mason i sar. (2013) su, kao i u ovoj disertaciji, ustanovili postojanje negativne korelacije između vremena sazrevanja i prinosa, kao i određenih komponenti prinosa (BZ, MHZ). Navedeni autori su zabeležili i pozitivnu vezu između visine stabljike i vremena klasanja, kao i negativne veze visine stabljike sa prinosom i komponentama prinosa, dok je u ovom radu korelacija između VS i BZ bila negativna, a između VS i MHZ pozitivna.

Na osnovu prethodno navedenih istraživanja, može se uočiti da pravac korelacije, kao i jačina korelacije među određenim agronomski važnim osobinama, predstavljaju izvesne smernice oplemenjivačima prilikom stvaranja sorti visokog genetičkog potencijala za prinos. Međutim, detekcija lokusa koji su u vezi sa poželjnim osobinama, ima za cilj da pruži znatno jasniju sliku o genetičkoj osnovi veze među određenim osobinama i tako ukaže na moguće pravce oplemenjivanja, kako bi se stvorila sorta koja poseduje visok genetički potencijal za prinos u određenom agroklimatskom regionu.

6. 3. Asocijativna analiza

Primenom programa za asocijativnu analizu (*TASEL 2.1*) ispitana je veza između 31 odabranog mikrosatelitskog lokusa i 11 agronomski važnih osobina, kako bi se ustanovio značaj datih *SSR* markera za oplemenjivanje pšenice, odnosno stvaranje genotipova koje odlikuje visok potencijal za prinos u našem agroklimatskom regionu. Pored toga analizirano je i postojanje gametske neravnoteže u ispitivanoj germplazmi.

6. 3. 1. Gametska neravnoteža

U radu je analiziran *LD* za sve lokuse zajedno, odnosno kako za lokuse sa istih, tako i za one sa različitih hromozoma. Imajući u vidu da je genetički materijal kod heksaploidne pšenice izuzetno kompleksan i raspoređen u tri homeologna genoma, u radovima različitih autora, može se uočiti da jedan isti mikrosatelitski marker pripada drugim linkidž grupama, tako da se njihova pozicija u okviru genoma treba posmatrati sa rezervom. Pored toga, za neke markere se u literaturi može naći da imaju jedinstvene produkte, dok se u praksi, analizom znatno raznovrsnijeg genetičkog materijala, kasnije pokaže da umnožavaju ne jedan, nego dva ili tri lokusa. Kao primer za obe pojave može se uzeti marker iz ovog rada, *BARC1057*. Kao što je napred u radu navedeno, dati *SSR* lokus je prema Li i sar. (2009) mapiran na 1B hromozomu, prema Quirin (2010) na 3A, dok autori Song i sar. (2005) i Liu (2010) nisu uspeli da odrede njegovu tačnu poziciju u genomu. Isto tako, niko od navedenih autora ne navodi prisustvo dva *SSR* produkta u tom lokusu, što je utvrđeno u ovoj disertaciji.

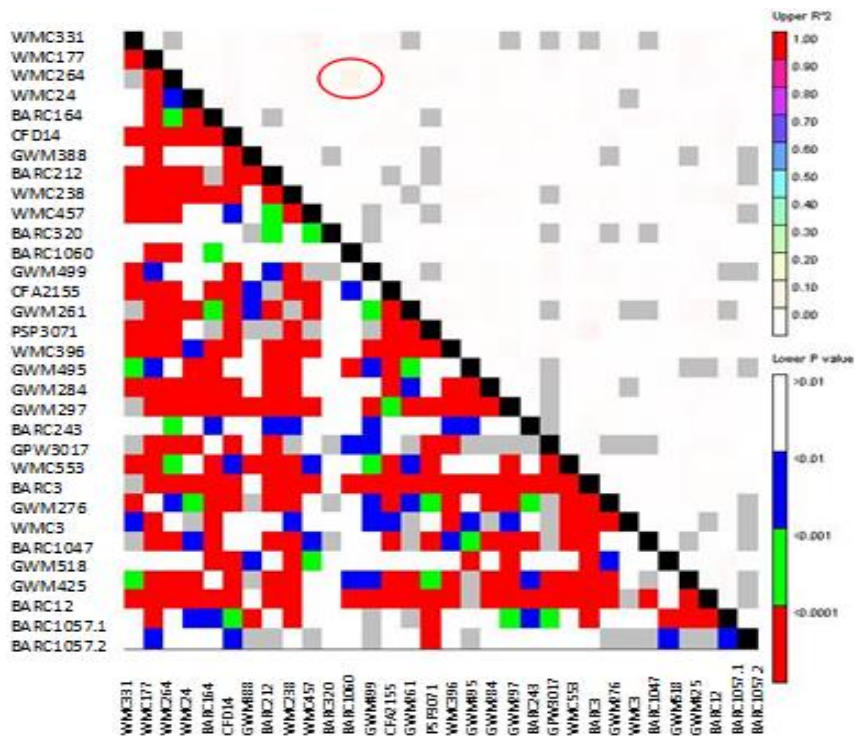
Postojanje *LD* analizirano je posebno za celu populaciju, kao i za tri potpopulacije prethodno definisane u programu *STRUCTURE*. Ranije je ustanovljeno da se prilikom stvaranja panela za asocijativno mapiranje, mešanjem individua koje vode poreklo od različitih predaka i samim tim imaju različite frekvencije alela, stvara lažni *LD* (Balding, 2006; Slatkin, 2008). Pored toga i u populacijama koje broje mali broj individua, znatno je ograničen broj postojećih haplotipova, a *LD* je automatski povećan (Soto-Cerda et al., 2012).

Na osnovu analize *LD* u programu *TASSEL 2.1* dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 10. i na slikama od 5. do 8., a za procenu vezanosti dva lokusa korišćen je parametar r^2 . Na slikama je ispod dijagonale šematski prikazana statistička značajnost *LD*, a iznad dijagonale vrednost r^2 . Sa desne strane svakog dijagrama date su skale za prethodno navedene parametre, gde su vrednosti označene različitim bojama. Imajući u vidu da su boje kojima su predstavljene vrednosti za r^2 svetlih nijansi, utvrđeni statistički značajni *LD* dodatno je obeležen crvenim krugom.

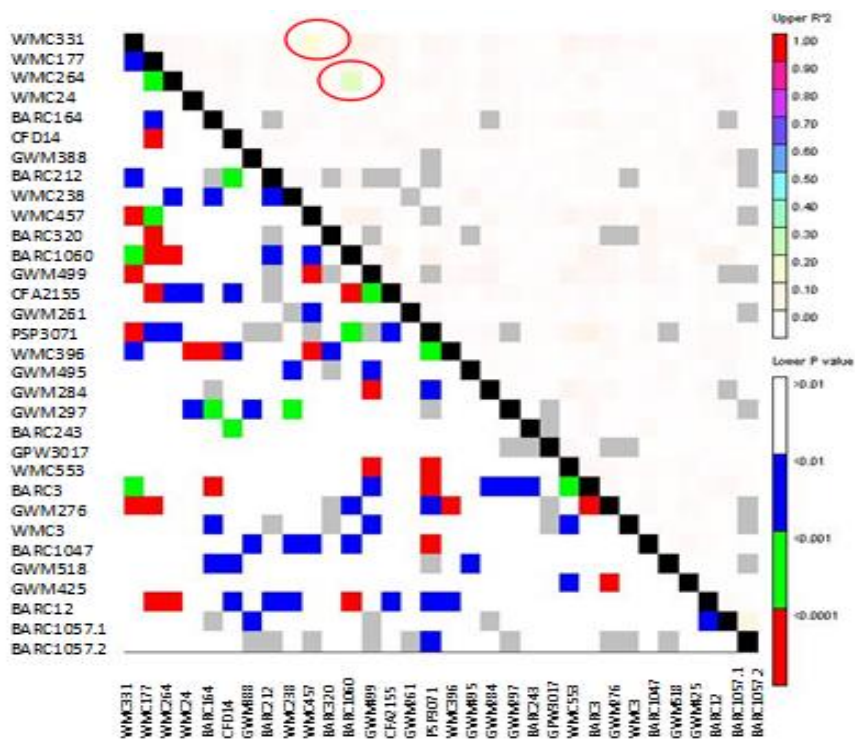
Tabela 10. *LD* u ispitivanom materijalu pšenice

	Vezani lokusi			
	potpopulacija 1	potpopulacija 2	potpopulacija 3	Cela populacija
$r^2 > 0,10$	2	1	36	1
$P < 0,0001$	2	1	17	1
$r^2 > 0,10, P < 0,0001$	2	1	17	1
$r^2 > 0,20, P < 0,0001$	1	0	5	0

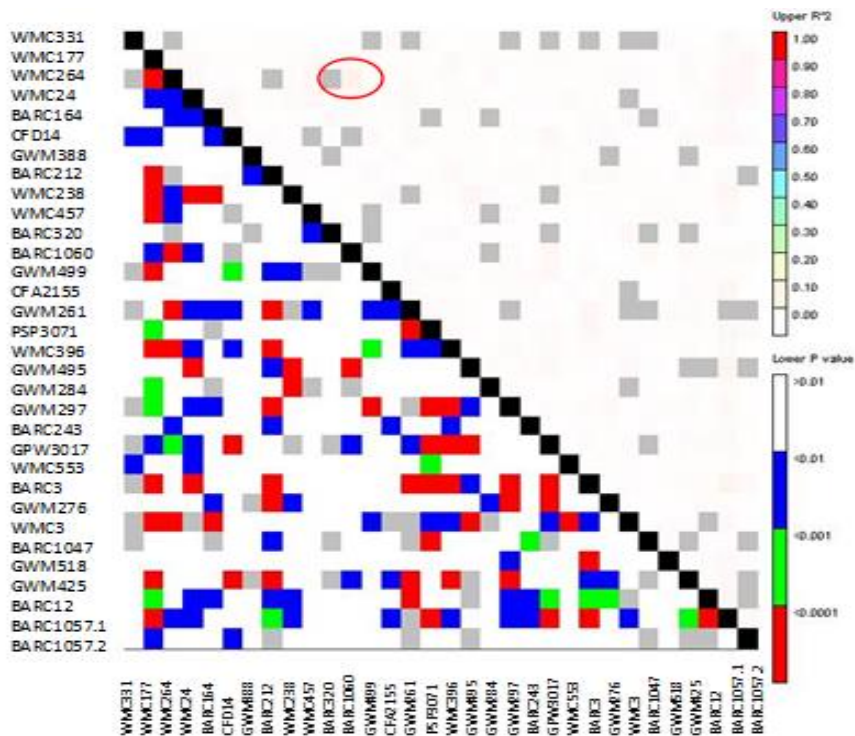
U okviru cele populacije, odnosno 282 genotipa analizirana u ovom radu, vrednost r^2 veća od 0,10, za P manje od 0,0001, utvrđena je za samo jedan par *SSR* lokusa, *Xbarc1060* i *Xwmc264*, sa 3A hromozoma (tab 10., sl. 5). U potpopulaciji 1, gde je svrstana 101 sorta, ovaj par markera je takođe bio u *LD*, ali je koeficijent determinacije imao vrednost od 0,24. Pored toga, u ovoj grupi ustanovljena je vezanost još jednog para lokusa, *Xwmc457* i *Xwmc331* sa 4D hromozoma, pri čemu je r^2 iznosila 0,17 (sl. 6). U najvećoj potpopulaciji označenoj brojem 2, koja je brojala 127 sorti, veza je, kao i u celoj populaciji, detektovana samo između lokusa *Xbarc1060* i *Xwmc264* (sl. 7). Najveći broj statistički značajnih veza detektovan je u grupi 3 sa svega 54 sorte. Ovde je *LD*, za vrednost r^2 veću od 0,10 detektovan kod 17 parova *SSR* markera (tab. 10). Imajući u vidu da se radi o potpopulaciji sa malim brojem individua, gde su alelna polimorfnost, kao i broj haplotipova ograničeni, razmatrane su samo r^2 vrednosti jednake ili veće od 0,20.



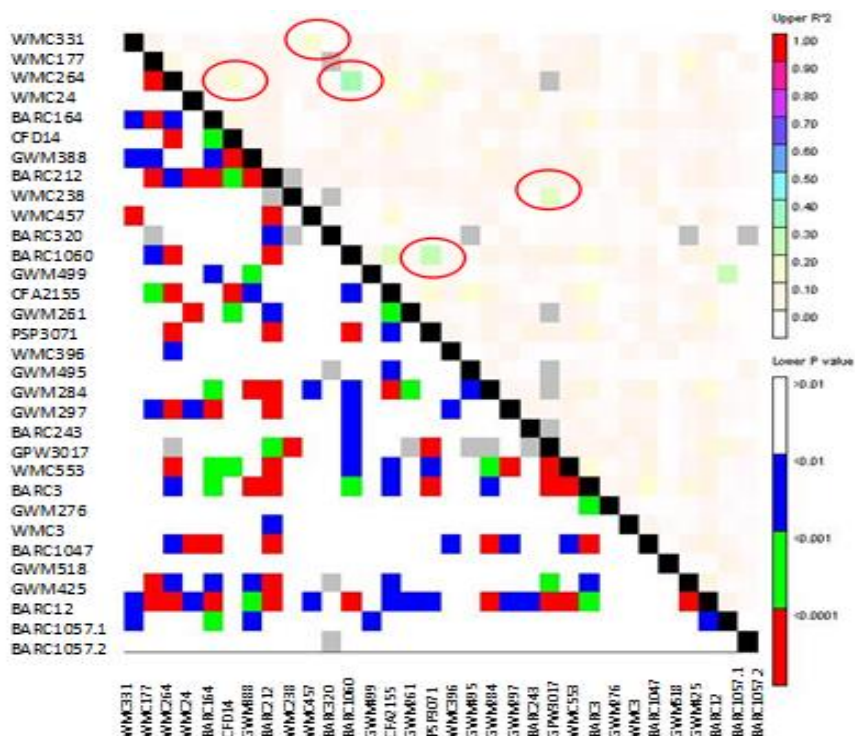
Slika 5. Šematski prikaz *LD-a* u celjoj populaciji pšenice



Slika 6. Šematski prikaz *LD-a* u potpopulaciji 1



Slika 7. Šematski prikaz LD-a u potpopulaciji 2



Slika 8. Šematski prikaz LD-a u potpopulaciji 3

Pored napred pomenutih parova markera, *Xbarc1060-Xwmc264* i *Xwmc457-Xwmc331*, u ovoj grupi *LD* je ustanovljen i za lokuse *Xgpw3017* i *Xwmc238* sa 4B hromozoma, kao i za dva para lokusa sa različitih hromozoma, *Xcfd14* (7D) i *Xwmc264* (3A), kao i za *Xpsp3071* (6A) i *Xbarc1060* (3A), pri čemu je r^2 vrednost iznosila, redom, 0,24, 0,20 i 0,29 (sl. 8).

Interhromozomski *LD* je uobičajena pojava kod većine biljnih kultura (Soto-Cerda and Cloutier, 2012) jer se prilikom formiranja linkidž mapa, pozicija određenog markera određuje na osnovu njegovog procenta rekombinacije sa drugim marker lokusima (Jones et al., 1997). Tako je marker *WMC264*, koji je u ovoj disertaciji bio u *LD* sa markerima *BARC1060* sa 3A i *CFD14* sa 7D hromozoma, u ranije objavljenim radovima (Zhang et al., 2008; Wang et al., 2009b; Maccaferri et al., 2011) mapiran na 3A hromozomu, dok se u radu novijeg datuma, autora Cui i sar. (2014) navodi da se dati *SSR* marker nalazi na 7DL kraku hromozoma. Međutim, vrednosti parametra r^2 su, u proseku, znatno niže za interhromozomski, nego za intrahromozomski *LD* (Neumann et al., 2011), što je potvrđeno i u ovoj disertaciji (sl.8).

6. 3. 2. Veza marker-osobina - poređenje *GLM* i *MLM*

Prilikom asocijativne analize korišćena su dva modela, *GLM* i *MLM*, kako bi se poredila njihova statistička moć pri detekciji veza marker-osobina. Iz analize su isključeni tzv. retki aleli, odnosno aleli čija je učestalost bila manja od 5 %, zbog njihovog uticaja na pojavu lažno-pozitivnih veza marker-osobina.

Primenom *GLM*, ustanovljeno je ukupno 662, u odnosu na 114 statistički značajnih veza između analiziranih *SSR* markera i agronomski značajnih osobina pšenice, utvrđenih pomoću *MLM*, za *P* vrednost manju od 0,05. To znači da se primenom matrice srodnosti među ispitivanim genotipovima, koju podrazumeva *MLM*, broj statistički značajnih asocijacija smanjio više od 5 puta. Od ukupnog broja veza marker-osobina, 548 je bilo jedinstveno za *GLM*, 2 za *MLM*, dok je 112 bilo zajedničko za oba modela. Jedinstvene asocijacije, detektovane na osnovu *MLM*, zabeležene su samo za dve ispitivane osobine: visinu stabljike i vreme klasanja (tab. 11). Pri tome su *P*

vrednosti za navedene osobine kod *GLM* bile manje od 0,1. Pored toga, još 83 veze marker-osobina koje su na osnovu *GLM* bile značajne za *P* manje od 0,05, kod *MLM* imale su *P* manje od 0,1. Najveći broj statistički značajnih veza marker-osobina kod oba modela ustanovljen je za broj klasića po klasu (tab. 11).

Tabela 11. Broj statistički značajnih veza marker-osobina kod ispitivanih sorti pšenice utvrđenih primenom *GLM* i *MLM*

Osobina	GLM P<0,05	MLM P<0,05	GLM i MLM P<0,05	Jedinstvene za GLM P<0,05	Jedinstvene za MLM P<0,05	GLM P<0,05, MLM P<0,1	MLM P<0,05, GLM P<0,1
VS	72	6	5	66	1	7	1
VK	66	10	9	56	1	6	1
VC	56	10	10	46	0	5	0
DK	63	14	14	49	0	7	0
BK	86	15	15	71	0	6	0
BSK	70	14	14	56	0	9	0
BZ	71	8	8	63	0	11	0
MK	45	8	8	37	0	9	0
MZ	39	10	10	29	0	5	0
MHZ	50	9	9	41	0	10	0
PR	44	10	10	34	0	8	0
Ukupno	662	114	112	548	2	83	2

Neumann i sar. (2011) su takođe ustanovili drastične razlike u broju detektovanih asocijacija primenom *GLM* i *MLM* pristupa. Oni navode da se broj statistički značajnih veza marker-osobina primenom *MLM* modela smanjio za 60 %.

Imajući u vidu da je sa uključivanjem matrica srodnosti genotipova u asocijativnu analizu, broj statistički značajnih veza marker-osobina veoma redukovan, u radu su dalje razmatrane samo one veze *SSR* marker-osobina, koje su utvrđene na osnovu oba modela, pri *P* vrednostima manjim od 0,05. Pored toga, komentarisane su i veze koje su kod *GLM* ustanovljene u najmanje četiri ispitivane godine za visinu stabljike, vreme klasanja i cvetanja, odnosno tri godine za ostale osobine, pri čemu su kod *MLM*, u navedenom periodu *P* vrednosti bile manje od 0,1.

6. 3. 3. Analiza veze marker-osobina

U ovom radu je za analizu veze marker-osobina odabran 31 *SSR* marker (tab. 3), za koje je na osnovu ranijih istraživanja utvrđeno da su bili u vezi sa agronomski važnim osobinama pšenice (PRILOG, tab. 19). Kod jedog markera, *BARC1057*, detektovano je prisustvo po dva produkta po lokusu i dati markeri su dalje označavani kao *BARC1057.1* i *BARC1057.2*. Imajući u vidu da je u *SSR* lokusu *BARC1057.2* utvrđena veoma niska *PIC* vrednost (tab. 4), on je izuzet iz analize u programu *TASSEL 2.1*.

Rezultati asocijativne analize prikazani su tabelarno. U tabelama od 12. do 16. prikazane su detektovane veze marker-osobina po ispitivanim godinama. Broj ustanovljenih asocijacija varirao je po ispitivanoj godini. Najveći broj statistički značajnih veza marker-osobina utvrđen je na osnovu podataka za 1997. godinu, ukupno 26 (tab. 14), dok je analizom podataka za 1999. godinu ustanovljeno svega 18 (tab. 16). Ono što je zajedničko za sve ispitivane godine, jeste da je *P* vrednost ustanovljena za *GLM*, u proseku, bila manja od *P* vrednosti utvrđene primenom *MLM*, redom, 0,002 i 0,017.

Radi bolje preglednosti, rezultati detektovanih veza marker-osobina prikazani su sumarno u tabeli 17, kako bi se ukazalo na postojanost ili nepostojanost ustanovljene asocijacije tokom ispitivanih godina.

Tabela 12. Veza marker-osobina između 31 *SSR* markera i 11 agronomski važnih osobina pšenice primenom *GLM* i *MLM* za 1995. godinu ($P < 0,05$)

Hrom.	Lokus	Osobina	GLM			MLM	
			F Mark.	P Mark.	R ² Mark. %	F Mark.	P Mark.
1A	Xwmc24	MHZ	6,2686	0,000	6,25	3,4838	0,016
2A	Xbarc212	VK	4,994	0,000	10,03	4,0733	0,001
		DK	5,3847	0,000	13,57	2,4484	0,026
		BK	10,8944	0,000	23,14	2,2633	0,039
		BSK	7,4686	0,000	16,55	2,2041	0,044
		PR	6,3955	0,000	15,29	3,699	0,002
2A	Xwmc177	VS	2,9903	0,005	7,46	2,4552	0,019
		DK	7,0007	0,000	16,38	3,2383	0,003
		BSK	8,6881	0,000	18,30	2,2418	0,032
		BZ	4,3735	0,000	10,80	2,0905	0,045
		MZ	3,153	0,003	7,79	3,0762	0,004
2D	Xgwm261	VK	7,7928	0,000	8,02	3,826	0,005
3A	Xbarc12	BK	5,2806	0,000	10,23	2,6045	0,026
		BZ	7,754	0,000	14,80	3,9655	0,002
3B	Xbarc164	BZ	2,496	0,044	3,99	2,4574	0,046
4B	Xwmc238	DK	2,5144	0,022	5,39	2,3462	0,032
		BSK	3,8046	0,001	7,45	2,2706	0,037
		BZ	4,6696	0,000	9,50	3,2	0,005
6A	Xwmc553	VS	6,0652	0,000	16,07	2,8104	0,005
7B	Xgwm297	BK	13,691	0,000	26,21	5,0964	0,000
		MZ	2,4878	0,017	5,95	2,4876	0,017
-	Xbarc1057.1	PR	18,6241	0,000	5,93	6,9374	0,009

Tabela 13. Veza marker-osobina između 31 SSR markera i 11 agronomski važnih osobina pšenice primenom *GLM* i *MLM* za 1996. godinu ($P < 0,05$)

Hrom.	Lokus	Osobina	GLM			MLM	
			F Mark.	P Mark.	R ² Mark. %	F Mark.	P Mark.
1A	Xwmc24	MHZ	6,9483	0,000	7,35	2,9585	0,033
2A	Xbarc212	VK	4,8253	0,000	9,94	3,6533	0,002
		VC	5,844	0,000	12,02	3,6175	0,002
		BK	10,0225	0,000	22,39	2,2751	0,038
2A	Xwmc177	BK	14,306	0,000	28,39	2,2826	0,029
		BSK	7,8385	0,000	16,47	2,1899	0,036
		MK	5,5623	0,000	13,54	3,7095	0,001
		MZ	4,5768	0,000	10,97	3,8469	0,001
2D	Xgwm261	VK	7,1331	0,000	7,38	3,5871	0,007
		VC	7,7591	0,000	8,24	4,6005	0,001
		DK	7,4965	0,000	9,85	4,5194	0,002
		MHZ	4,1082	0,003	6,29	2,6315	0,035
3A	Xbarc12	DK	5,0837	0,000	9,58	2,8404	0,017
		BK	5,7962	0,000	11,44	2,5298	0,030
3B	Xwmc3	PR	7,9585	0,000	15,71	4,57	0,002
4B	Xwmc238	VS	7,3371	0,000	13,23	2,98	0,008
7A	Xgwm276	MHZ	3,8521	0,005	6,37	2,5106	0,043
7B	Xgwm297	BK	9,7737	0,000	20,69	2,958	0,005
		MK	3,8365	0,001	9,38	2,491	0,017
		MZ	3,7535	0,001	8,82	3,7532	0,001
7B	Xwmc396	MK	6,2133	0,000	9,73	2,9284	0,022
-	Xbarc1057.1	VC	4,8408	0,029	1,32	3,9633	0,048
		DK	11,9287	0,001	3,86	5,2547	0,023
		PR	45,9844	0,000	13,86	14,1962	0,000

Tabela 14. Veza marker-osobina između 31 *SSR* markera i 11 agronomski važnih osobina pšenice primenom *GLM* i *MLM* za 1997. godinu ($P < 0,05$)

Hrom.	Lokus	Osobina	GLM			MLM	
			F Mark.	P Mark.	R ² Mark. %	F Mark.	PMark.
2A	Xbarc212	VK	4,3238	0,000	8,71	3,6317	0,002
		VC	4,4692	0,000	9,59	3,2118	0,005
		BK	11,8418	0,000	25,11	3,4942	0,003
		BSK	5,0554	0,000	11,85	2,5812	0,020
2A	Xgwm425	BSK	3,4387	0,003	7,52	3,1644	0,005
2A	Xwmc177	VS	2,9682	0,005	7,38	2,689	0,011
		DK	8,3587	0,000	18,88	3,1771	0,003
		BK	12,5951	0,000	25,82	2,4916	0,017
		BSK	5,6383	0,000	13,00	2,6063	0,013
		MK	6,4659	0,000	14,46	2,9129	0,006
		MZ	6,3803	0,000	13,73	3,0924	0,004
2D	Xgwm261	VC	6,4409	0,000	6,81	4,208	0,003
		PR	2,8179	0,026	3,93	2,8179	0,026
3A	Xbarc12	BK	5,6702	0,000	11,14	2,4853	0,033
4B	Xgpw3017	MHZ	7,0769	0,008	2,93	4,3959	0,037
4B	Xwmc238	VS	5,985	0,000	11,44	3,1188	0,006
		DK	3,338	0,004	7,04	2,2178	0,042
		BZ	4,6018	0,000	9,21	2,8799	0,010
		MK	3,8388	0,001	7,45	2,9677	0,008
		MZ	3,6618	0,002	6,79	3,0822	0,006
5B	Xgwm499	BSK	6,0991	0,003	4,74	3,0629	0,049
5D	Xbarc320	PR	3,0478	0,049	2,13	3,0475	0,049
7B	Xgwm297	BK	12,677	0,000	25,35	5,8276	0,000
		BZ	5,2432	0,000	11,96	2,2665	0,030
		MK	6,089	0,000	12,89	3,5809	0,001
		MZ	6,42	0,000	12,84	3,9658	0,000

Tabela 15. Veza marker-osobina između 31 SSR markera i 11 agronomski važnih osobina pšenice primenom *GLM* i *MLM* za 1998. godinu ($P < 0,05$)

Hrom.	Lokus	Osobina	GLM			MLM	
			F Mark.	P Mark.	R ² Mark. %	F Mark.	P Mark.
1A	Xwmc24	MHZ	6,3239	3,71E-04	6,25	2,7377	0,0439
2A	Xbarc212	VK	5,0756	7,03E-05	9,55	4,0499	7,37E-04
		VC	5,5792	2,22E-05	10,89	4,3999	3,31E-04
2A	Xwmc177	DK	6,1131	1,33E-06	14,66	2,6715	0,0111
		BSK	10,8017	6,92E-12	20,65	2,2784	0,0289
		MK	4,9045	3,32E-05	11,62	2,9436	0,0056
		MZ	4,1689	2,33E-04	9,79	2,7815	0,0084
2D	Xgwm261	VK	7,2204	1,66E-05	6,86	3,9609	0,0039
		VC	6,736	3,73E-05	6,82	4,2168	0,0026
3A	Xbarc12	MHZ	9,7459	2,04E-08	17,43	5,0934	1,94E-04
4B	Xgwm495	PR	5,2471	1,37E-04	9,34	2,7803	0,0184
4B	Xwmc238	BSK	4,4109	2,88E-04	8,02	2,3875	0,0291
6A	Xwmc553	BZ	2,6925	0,0074	8,12	2,3435	0,0192
		PR	2,7974	0,0056	7,84	2,111	0,0354
7B	Xgwm297	BK	12,4909	8,80E-14	24,34	2,7971	0,008
		BSK	6,842	1,82E-07	13,64	2,0562	0,0487
		MZ	3,8854	4,83E-04	8,83	2,3025	0,0272
7B	Xwmc396	SL	8,0796	4,09E-06	12,19	2,551	0,0399
7D	Xcfd14	BSK	11,7496	2,96E-07	10,13	3,6094	0,0139
-	Xbarc1057.1	VC	5,1416	0,0241	1,33	5,0278	0,0257
		DK	20,7184	8,01E-06	7,03	7,9449	0,0052
		PR	16,7273	5,68E-05	5,34	6,3942	0,012

Tabela 16. Veza marker-osobina između 31 *SSR* markera i 11 agronomski važnih osobina pšenice primenom *GLM* i *MLM* za 1999. godinu ($P < 0,05$)

Hrom.	Lokus	Osobina	GLM			MLM	
			F Mark.	P Mark.	R ² Mark. %	F Mark.	P Mark.
2A	Xbarc212	VK	4,2071	0,001	8,56	3,2738	0,004
		VC	4,3751	0,000	8,70	2,9735	0,008
		BK	10,8457	0,000	23,46	2,2268	0,042
		MHZ	5,7479	0,000	13,80	2,7113	0,015
		PR	5,7132	0,000	12,60	3,9437	0,001
	Xwmc177	DK	4,7082	0,000	11,49	2,1396	0,040
		BK	13,8216	0,000	27,51	2,0548	0,049
		BSK	9,7134	0,000	19,43	2,7608	0,009
		MK	5,5679	0,000	13,25	2,9403	0,006
		MZ	3,6437	0,001	8,74	2,4614	0,019
2D	Xgwm261	VK	7,8147	0,000	7,78	3,6751	0,006
		VC	10,5845	0,000	10,02	4,6426	0,001
		DK	4,9391	0,001	7,29	3,2042	0,014
3A	Xbarc12	BZ	4,7576	0,000	9,80	2,5941	0,027
		MHZ	8,9072	0,000	16,21	2,4542	0,035
4B	Xwmc238	BSK	4,4039	0,000	8,22	2,3057	0,035
7B	Xgwm297	BK	12,9337	0,000	25,57	4,0199	0,000
-	Xbarc1057.1	DK	9,4978	0,002	3,29	4,9662	0,027

Tabela 17. Sumarni prikaz veza marker-osobina za 11 ispitivanih agronomski važnih osobina pšenice za petogodišnji period, pri $P < 0,05$ (1995-1999. godine)

Osobina	Hromozom	Lokus	Godina
VS	2A	Xwmc177	1995, 1997
	4B	Xwmc238	1996, 1997
	6A	Xwmc553	1995
VK	2A	Xbarc212	1995, 1996, 1997, 1998, 1999
	2D	Xgwm261	1995, 1996, 1998, 1999
VC	2A	Xbarc212	1996, 1997, 1998, 1999
	2D	Xgwm261	1996, 1997, 1998, 1999
		Xbarc1057.1	1996, 1998
DK	2A	Xbarc212	1995
		Xwmc177	1995, 1997, 1998, 1999
	2D	Xgwm261	1996, 1999
	3A	Xbarc12	1996
	4B	Xwmc238	1995, 1997
	7B	Xwmc396	1998
	Xbarc1057.1	1996, 1998, 1999	
BK	2A	Xbarc212	1995, 1996, 1997, 1999
		Xwmc177	1996, 1997, 1999
	3A	Xbarc12	1995, 1996, 1997
	7B	Xgwm297	1995, 1996, 1997, 1998, 1999
BSK	2A	Xbarc212	1995, 1997
		Xgwm425	1997
		Xwmc177	1995, 1996, 1997, 1998, 1999
	4B	Xwmc238	1995, 1998, 1999
	5B	Xgwm499	1997
	7B	Xgwm297	1998
	7D	Xcfd14	1998
BZ	2A	Xwmc177	1995
	3A	Xbarc12	1995, 1999
	3B	Xbarc164	1995
	4B	Xwmc238	1995, 1997
	6A	Xwmc553	1998
	7B	Xgwm297	1997
MK	2A	Xwmc177	1996, 1997, 1998, 1999
	4B	Xwmc238	1997
	7B	Xgwm297	1996, 1997
		Xwmc396	1996
MZ	2A	Xwmc177	1995, 1996, 1997, 1998, 1999
	4B	Xwmc238	1997
	7B	Xgwm297	1995, 1996, 1997, 1998
MHZ	1A	Xwmc24	1995, 1996, 1998
	2A	Xbarc212	1999
	2D	Xgwm261	1996
	3A	Xbarc12	1998, 1999
	4B	Xgpw3017	1997
	7A	Xgwm276	1996
PR	2A	Xbarc212	1995, 1999
	2D	Xgwm261	1997
	3B	Xwmc3	1996
	4B	Xgwm495	1998
	5D	Xbarc320	1997
	6A	Xwmc553	1998
	-	Xbarc1057.1	1995, 1996, 1998,

Visina stabljike pšenice

U ovoj disertaciji primenom *MLM*, za *P* vrednost manju od 0,05 nije detektovan nijedan stabilan *QTL* za visinu stabljike. Markeri *WMC177* i *WMC238* bili su u vezi sa visinom stabljike samo u dve od pet ispitivanih godina, a *SSR* marker *WMC553* samo u jednoj godini, za *P* vrednost manju od 0,05 (tab. 17). Na osnovu *GLM*, lokusi *Xwmc238* sa 4B i *Xwmc553* sa 6A hromozoma, bili su u statistički značajnoj asocijaciji sa navedenim osobinama u svih pet ispitivanih godina pri *P* vrednosti manjoj od 0,01, a *Xwmc177* u tri ispitivane godine pri *P* manjoj od 0,05. Udeo u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti za visinu stabljike za marker *WMC238*, varirao je u rasponu od 12,12 do 21,26 %, sa prosečnom vrednosti od 16,24 %, kod markera *WMC553* od 15,53 do 23,06 %, sa prosekom od 19,45 %, dok je marker *WMC177* imao najmanju prosečnu R^2 vrednost, 6,57 %. Za *P* vrednost manju od 0,1, kod *MLM*, sva tri *SSR* lokusa, *Xwmc177*, *Xwmc238* i *Xwmc553*, bila su u vezi sa *QTL*-om za visinu stabljike u 4 od 5 ispitivanih godina.

Jia i sar. (2013) su na primeru *RIL* (*Recombinant Inbred Line*) populacije, primenom intervalnog mapiranja u regionu *Xwmc238-Xgwm495* detektovali *QTL* za visinu stabljike koji je bio stabilan u četiri ispitivane sredine, sa prosečnom R^2 vrednosti od 10,08 %. Pored toga ustanovili su i vezu između *SSR* lokusa *Xwmc24* i navedene osobine. Međutim, na osnovu rezultata ove doktorske disertacije, markeri *WMC24* sa 1A i *GWM495* sa 4B bili su u vezi sa visinom stabljike u svim ispitivanim godinama, ali samo primenom opšteg linearnog modela, dok je kod mešovitog linearnog modela *P* vrednost u svim ispitivanim godinama bila veća od 0,1.

Korzun i sar. (1998) su prvi ustanovili postojanje veze (0,6 cM) između *Rht8* gena i mikrosatelitskog lokusa *Xgwm261*. Na osnovu fenotipske evaluacije linija heksaploidne pšenice, koje su u mikrosatelitskom lokusu *Xgwm261* posedovale najčešće zastupljene alele od 192, 174 ili 165 bp, utvrđeno je da alel od 192 bp redukuje visinu stabljike za 7 do 8 cm u odnosu na alel od 174 bp, a da alel od 165 bp povećava visinu stabljike za 3 cm, u odnosu na alel od 174 bp. Nakon toga, objavljen je niz radova u kojima su analizirane sorte na prisustvo *Rht8* gena, gde je kao dijagnostički marker za ovaj gen korišćen *GWM261*-192 bp alel, sa ciljem da se utvrdi zastupljenost *Rht8* gena u određenoj gerplazmi (Chebotar et al., 2001; Worland et al., 2001; Röder et al. 2002;

Kobiljski et al., 2006; Asplund et al., 2012) ili da se ustanovi efekat navedenog gena na neke agronomске karakteristike (Bai et al., 2004; Ma et al., 2007; Nalam et al., 2007; Chen et al., 2010; Mao et al., 2010).

Imajući u vidu visoku zastupljenost *Rht8* gena među sortama stvorenim u oplemenjivačkim centrima u Srbiji (73,6 % prema Kobiljski i sar. 2006), marker *GWM261* odabran je u ovoj disertaciji, kako bi se ustanovio njegov značaj pri oplemenjivanju na visinu stabljike u našem agroklimatskom regionu. Međutim, na osnovu dobijenih rezultata, primenom *MLM* nije ustanovljena statistički značajna veza između ovog *SSR* markera i visine stabljike, ni za *P* manju od 0,1, dok je primenom *GLM* metoda veza bila signifikantna u četiri ispitivane godine, za *P* vrednost manju od 0,05. Dobijeni rezultati se mogu objasniti na osnovu rada Ellis i sar. (2007), koji su analizom određenog broja sorti i mapirajućih populacija, koje su u lokusu *Xgwm261* posedovale različite alelne oblike, ustanovili da alel od 192 bp nije uvek vezan za redukciju visine stabljike povezanu sa *Rht8* genom. Oni navode da sorta Norin 10, takođe nosi alel od 192 bp u *SSR* lokusu *Xgwm261*, koji nije vezan za *Rht8*. Usled njene široke primene u oplemenjivačkim centrima širom sveta, Norin 10 predstavlja sekundarni izvor ovog alela u internacionalnoj germplazmi. Međutim, prisustvo alela od 192 bp, može biti dijagnostičko za *Rht8* gen samo kod genotipova pšenice, koji vode poreklo od sorte Akakomugi. Kasnije su njihove rezultate potvrdili i Šip i sar. (2010). Na osnovu analize pedigrea sorti ispitivanih u ovoj doktorskoj disertaciji (tab. 20), ustanovljena je skoro podjednaka zastupljenost sorti potomaka Norin 10 i Akakomugi, što može biti uzrok izostanka statistički značajne veze između markera *GWM261* i visine stabljike.

Vreme klasanja i cvetanja pšenice

U ovoj doktorskoj disertaciji primenom *GLM* i *MLM*, detektovana su dva *QTL-a*, koja su bila u statistički značajnoj vezi kako sa vremenom klasanja, tako i sa vremenom cvetanja. *SSR* lokus *Xbarc212* sa 2A hromozoma, bio je u vezi sa vremenom klasanja u svih pet ispitivanih godina, dok je za vreme cvetanja u toku 1995. godine izostala statistički značajna veza pri *P* vrednosti manjoj od 0,05 (tab. 12). Prosečna vrednost

udela navedenog lokusa u fenotipskoj varijabilnosti za vreme klasanja iznosila je 9,36 % (tab. 12. do 16), a za vreme cvetanja 10,3 % (tab. 13. do 16). Mikrosatelitski marker *GWM261* bio je u statistički značajnoj asocijaciji sa vremenom klasanja u svim godinama osim u 1997., a za vreme cvetanja u svim osim u 1995. godini. Najveći udeo u fenotipskoj varijabilnosti za vreme klasanja *Xgwm261* lokus imao je na osnovu podataka za 1995. godinu, 8,02 %, a za vreme cvetanja u toku 1999. godine, 10,02 % (tab. 12. do 16).

Veza *SSR* markera *GWM261* sa vremenom klasanja i cvetanja, ustanovljena na osnovu rezultata ove doktorske disertacije može se objasniti na osnovu ranije objavljenih radova. Worland i sar. (1998) su mapirali *Ppd-D1* gen na kratkom kraku hromozoma 2D, 20,9 cM proksimalno od *Rht8* gena, koji se prema Korzun i sar. (1998) nalazi na 0,6 cM od *Xgwm261* lokusa. Kasnije je veliki broj autora potvrdio vezu između markera *GWM261* i vremena sazrevanja pšenice u različitim agroklimatskim regionima i različitoj germplazmi (Xu et al., 2005a; Narasimhamoorthy et al., 2006; Trkulja i sar., 2011; Chen et al., 2010; Manickavelu et al., 2010; Jia et al., 2013).

Na osnovu rezultata Maccaferri i sar. (2011) marker *BARC212* mapiran je na kratkom kraku hromozoma 2A na 5,8 cM od markera *Xgwm636*, za koji su navedeni autori ustanovili da je u vezi sa vremenom klasanja. Na osnovu rezultata navedenih autora, sam *SSR* lokus *Xbarc212* nije bio u direktnoj vezi sa vremenom sazrevanja pšenice, već sa nekim drugim agronomski značajnim osobinama o kojima će kasnije biti reči.

U ovoj disertaciji nije potvrđeno postojanje veze između vremena klasanja i pojedinih mikrosatelitskih lokusa, ustanovljenih na osnovu ranije objavljenih radova, kao što su *Xwmc177* sa 2A (Maccaferri et al., 2008; Maccaferri et al., 2011), *Xgwm499* sa 5B (Hanocq et al., 2007; Manickavelu et al., 2010) i *Xcfa2155* sa 5A hromozoma (Hanocq et al., 2007; Chu et al., 2008; Griffiths et al., 2009). Marker *CFA2155* bio je u statistički značajnoj vezi sa vremenom klasanja, pri *P* vrednosti manjoj od 0,01, u svih pet ispitivanih godina, ali samo primenom *GLM*, dok je na osnovu *MLM* *P* vrednost bila veća od 0,1.

Prinos i komponente prinosa pšenice

Dužina klasa, broj klasića po klasu i broj sterilnih klasića po klasu

U ovoj doktorskoj disertaciji, od 31 ispitivanog *SSR* lokusa, samo je *Xwmc177* sa 2A hromozoma bio u statistički značajnoj vezi kako sa dužinom klasa, tako i sa brojem klasića po klasu i brojem sterilnih klasića po klasu. Ovaj marker bio je stabilan u četiri ispitivane godine za DK, tri za BK i svih pet godina za BSK (tab. 12. do 16). Najveći udeo u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti ovaj marker imao je za broj klasića po klasu, sa srednjom vrednosti od 27,24 %, a zatim za broj sterilnih klasića po klasu (17,57 %) i dužinu klasa (15,35 %) (tab. 12. do 16).

Za dužinu klasa detektovan je još jedan *QTL* u tri ispitivane godine u blizini markera *Xbarc1057.1*, koji je objašnjavao, u proseku, oko 4,73 % fenotipske varijabilnosti za ovu osobinu. Mikrosatelitski markeri *BARC212* sa 2A hromozoma, *GWM261* sa 2D i *WMC238* sa 4B hromozoma su takođe bili u vezi sa DK, ali samo u dve ispitivane godine za *P* vrednost manju od 0,1, prema *MLM* analizi, pa se ne može govoriti o stabilnom *QTL*-u. Prema *GLM*, lokusi *Xgwm261* i *Xbarc212* bili su u vezi sa navedenom osobinom u svih pet, a *Xwmc238* u četiri od pet ispitivanih godina.

U ovom radu, na osnovu *GLM* i *MLM*, detektovana su još tri *SSR* lokusa koja su bila u statistički značajnoj vezi sa brojem klasića po klasu. *GWM297* sa 7B hromozoma bio je stabilan u svih pet ispitivanih godina i determinisao u proseku 24,43 % fenotipske varijabilnosti za navedenu osobinu. Mikrosatelitski marker *BARC212* (2A) bio je u vezi sa brojem klasića po klasu u četiri ispitivane godine i imao, u proseku, udela u 23,53 % varijabilnosti, a *BARC12* (3A) u tri godine, sa najmanjim prosečnim udelom, od 10,94 % (tab. 12. do 16).

U blizini lokusa *Xwmc238* na 4B hromozomu, detektovan je još jedan *QTL* koji je imao udela u fenotipskoj varijabilnosti za broj sterilnih klasića po klasu, sa prosekom od 7,90 % u tri analizirane godine, 1995., 1998. i 1999. (tab. 12., 15. i 16).

Veza između *SSR* markera *WMC177* i dužine klasa, kao i broja klasića po klasu ustanovljena je u ranije objavljenim radovima, a potvrđena i u radovima novijeg datuma. Tako su Jing i sar. (2007) analizirajući kolekciju od 30 genotipova vrste *T. monococcum*

divergentnog geografskog porekla, ustanovili vezu između markera *WMC177* i dužine klasa. Isti marker je prema Yao i sar. (2009), koji su analizirali 108 sorti heksaploidne pšenice poreklom iz Kine, bio u vezi i sa brojem klasića po klasu, dok je u radu gde je analizirana 121 linija dobijena povratnim ukrštanjem durum i spelta pšenice, bio u vezi sa obe napred navedene osobine (Ma et al., 2013). U ovoj disertaciji gde su ispitivana 282 genotipa pretežno hlebne pšenice, mikrosatelitski lokus *Xwmc177* bio je u vezi još i sa brojem sterilnih klasića po klasu, osobinom koja u ranije navedenim radovima nije posebno razmatrana. Imajući u vidu da je u prikazanoj literaturi analiziran veoma raznovrsan genetički materijal, može se zaključiti da je veza markera *WMC177* sa osobinama klasa bila stabilna u različitoj genetičkoj pozadini.

Mikrosatelitski lokus *Xgwm261* sa 2DS kraka hromozoma, je u ranije objavljenim radovima gde su analizirane različite mapirajuće populacije, bio u vezi kako sa DK, tako i sa BK i BSK. Ma i sar. (2007) su molekularnom genetičkom analizom na primeru rekombinantnih inbred linija i “besmrtno” (engl. *immortalized*) F_2 populacije u marker intervalu *Xgwm261-XRPP5* detektovali *QTL* koji je bio u vezi sa DK i kompaktnošću klasa. Kumar i sar. (2007) su utvrdili vezu između markera *GWM261* i dužine klasa, kao i broja klasića po klasu, ali samo u jednoj od dve ispitivane *RIL* populacije. U našem agroklimatskom regionu, navedeni *SSR* marker je prilikom evaluacije dihaploidne mapirajuće populacije nastale ukrštanjem dve sorte visokog genetičkog potencijala za prinos (Savana/Renesansa) bio u vezi sa dužinom klasa u svih šest, a sa brojem klasića i brojem sterilnih klasića po klasu u četiri od šest ispitivanih godina (Trkulja et al., 2012). U ovoj doktorskoj disertaciji, gde su analizirane sorte poreklom iz različitih oplemenjivačkih centara sveta, *Xgwm261* bio je u statistički značajnoj vezi sa DK i BK, ali samo na osnovu opšteg linearnog modela.

Broj zrna po klasu, masa klasa i masa zrna po klasu

Na osnovu rezultata ove doktorske disertacije ustanovljeno je da je masa klasa u veoma jakoj i statistički veoma značajnoj pozitivnoj korelaciji sa masom zrna po klasu, a da su obe osobine u statistički značajnoj jakoj korelaciji sa brojem zrna po klasu (tab. 9). Slične rezultate su dobili i Neumann i sar. (2011), gde su takođe korišćeni podaci

fenotipske evaluacije u našem agroklimatskom regionu. Međutim, asocijativnom analizom, primenom mešovitog linearnog metoda, u ovoj doktorskoj disertaciji nije ustanovljen stabilan *QTL* zajednički za sve tri osobine (tab. 17). Primenom navedenog modela nije detektovana asocijacija stabilna u najmanje tri godine, između broja zrna po klasu i *SSR* markera analiziranih u ovom radu, pri *P* vrednosti manjoj od 0,05. Sa druge strane, primenom opšteg linearnog modela, broj zrna po klasu bio je u statistički značajnoj vezi sa mikrosatelitskim lokusima *Xwmc177* (2A) i *Xbarc12* (3A) u svih pet, a sa *Xwmc238* (4B) i *Xgwm297* (7B) u četiri od pet ispitivanih godina. Pored toga, treba istaći da je marker *BARC12* prema mešovitom linearnom modelu pri pragu značajnosti od 0,1, bio u vezi sa ovom osobinom u svih pet ispitivanih godina. Navedeni marker je za podatke iz 1995. godine imao udela u 14,80 %, a za podatke iz 1999. godine u 9,80 % ukupne fenotipske varijabilnosti za BZ (tab. 12. i 16).

U blizini lokusa *Xwmc177*, primenom oba modela, detektovan je jedan *QTL* koji je bio u statistički značajnoj vezi sa masom klasa i masom zrna po klasu u četiri, odnosno pet analiziranih godina (tab. 17). Udeo ovog lokusa u ukupnoj fenotipskoj varijabilnosti za MK varirao je od 11,62 % do 14,46 %, a za MZ od 7,79 % do 13,73 % (tab. 12. do 16). Masa zrna po klasu bila je u statistički značajnoj vezi i sa *SSR* markerom *GWM297* sa 7B hromozoma u četiri ispitivane godine, pri prosečnoj R^2 vrednosti od 9,11 % (tab. 12. do 15). Navedeni mikrosatelitski marker prema *MLM* metodu bio je u statistički značajnoj vezi sa MK za *P* vrednost manju od 0,05 u 1996. i 1997., a za 1998. i 1999. godinu pri *P* vrednost manjoj od 0,1.

Wang i sar. (2011) su na primeru $F_{2:3}$ mapirajuće populacije, koja je u pedigreu imala tetraploidnu vrstu *Agropyron cristatum*, koju karakterišu krupni klasovi i veliki broj zrna po klasu, detektovali *QTL*-e koji su bili u vezi sa određenim komponentama prinosa pšenice. U marker intervalu *Xbarc20-Xwmc238* sa 4BL kraka hromozoma, ustanovili su prisustvo *QTL*-ova za broj cvetova po klasu, broj zrna po klasu i masu hiljadu zrna. U ovoj doktorskoj disertaciji u blizini markera *WMC238* detektovan je takođe *QTL* koji je bio u vezi sa BZ, ali samo primenom opšteg linearnog modela. Pored toga, isti marker je bio u vezi i sa brojem sterilnih klasića po klasu (tab. 17), što u radu Wang i sar. (2011) nije analizirano.

U marker intervalu *Xwmc238-Xgwm495* na 4B hromozomu, Jia i sar.(2013) su

takođe, na primeru *RIL* mapirajuće populacije, utvrdili prisustvo *QTL*-a za broj zrna po klasu, koji je bio stabilan u tri, a za masu zrna po klasu u jednoj ispitivanoj sredini. Veza između markera *GWM495* i *MZ*, ustanovljena je i ranije od strane Wang i sar. (2009b), dok je prema Cui i sar. (2013) i Cui i sar. (2014), ovaj marker bio u vezi i sa *BZ*. Međutim, u ovoj doktorskoj disertaciji *SSR* lokus *GWM495* bio je u vezi samo sa brojem zrna po klasu prema opštem linearnom modelu u tri ispitivane godine, dok je prema mešovitom modelu *P* vrednost u svim ispitivanim godinama bila preko 0,1.

Masa 1000 zrna i prinos

U ovoj doktorskoj disertaciji primenom mešovitog linearnog modela mapiran je samo jedan stabilan *QTL* u vezi sa *MHZ*, u blizini markera *WMC24* na 1A hromozomu. Ovaj marker objašnjavao je u proseku 6,62 % fenotipske varijabilnosti za navedenu osobinu za podatke iz 1995., 1996. i 1998. godine (tab. 12., 13. i 15). Na osnovu opšteg linearnog modela, navedeni *SSR* lokus bio je u vezi sa masom hiljadu zrna u svih pet ispitivanih godina za *P* vrednost manju od 0,01, dok su lokusi *Xbarc212* sa 2A i *Xbarc12* sa 3A hromozoma bili u statistički značajnoj vezi, takođe za svih pet godina, ali pri *P* vrednosti manjoj od 0,05. Ukoliko bi se za prag značajnosti uzela *P* vrednost manja od 0,1, tada bi prema *MLM* modelu marker *WMC24* bio u statistički značajnoj vezi sa *MHZ* u svih pet, marker *BARC12* u četiri, a *BARC212* u svega jednoj ispitivanoj godini.

Kumar i sar. (2006) su na osnovu složenog intervalnog mapiranja u blizini lokusa *Xwmc24* detektovali *QTL* u vezi sa masom hiljadu zrna, koji je bio stabilan u svim ispitivanim sredinama i objašnjavao je od 9,65 % do 12,8 % fenotipske varijabilnosti za ovu osobinu. Asocijaciju između mikrosatelitskog markera *WMC24* i mase hiljadu zrna ustanovili su i Ramaya i sar. (2010), kao i Mir i sar. (2012), ali samo u određenim ispitivanim sredinama, te nije smatrana statistički značajnom. Poslednji autori su analizirajući set od 230 elitnih sorti pšenice, stvorenih u periodu od 1910. do 2006. godine za komercijalno gajenje u različitim agroklimatskim regionima Indije, identifikovali i *QTL* u vezi sa masom hiljadu zrna u blizini markera *GWM297*. Navedeni mikrosatelitski marker je objašnjavao oko 10,49 % fenotipske varijabilnosti za *MHZ*.

Međutim, u ovoj doktorskoj disertaciji navedeni marker nije bio u statistički značajnoj asocijaciji sa MHZ, ali jeste sa MZ (tab. 17).

Crowley (2010) i Maccaferri i sar. (2011) su u blizini markera *BARC12* sa 3A hromozoma detektovli *QTL* u vezi sa masom hiljadu zrna, dok je u ovoj disertaciji veza sa MHZ bila statistički značajna samo na osnovu rezultata dobijenih primenom opšteg linearnog modela.

Quarrie i sar. (2003) su prvi detektovali *QTL* u vezi sa MHZ u blizini mikrosatelitskog markera *PSP3071*, pri čemu su ispitivanja vršena u uslovima suše. Kasnije su navedenu vezu marker-osobina potvrdili i Snape i sar. (2007) gajeći biljke u uslovima sa i bez navodnjavanja, kao i Zhang i sar. (2013) u sredinama koje su se razlikovale u nivou navodnjavanja i đubrenja. Poslednji autori su ustanovili da je *SSR* lokus *Xpsp3071* u vezi sa masom hiljadu zrna samo u specifičnim uslovima. U ovoj doktorskoj disertaciji, gde su biljke gajene u poljskom ogledu u uslovima uobičajenih agrotehničkih mera za naš agroklimatski region, nije ustanovljena statistički značajna veza između *SSR* lokusa *Xpsp3071* i MHZ, ni prema *GLM* ni prema *MLM*.

Simmonds i sar. (2014) su na 6A hromozomu identifikovali *QTL* u marker intervalu *Xgdm36-Xgwm570* u okviru kog je mapiran i *SSR* markera *PSP3071*, koji je pored mase hiljadu zrna, bio u vezi i sa prinosom. U ovoj doktorskoj disertaciji lokus *Xpsp3071* bio je u statistički značajnoj asocijaciji sa prinosom samo prema opštem linearnom modelu, u tri ispitivane godine, pri *P* vrednosti manjoj od 0,05. Pored ovog markera, prema *GLM* analizi, prinos je bio u statistički značajnoj vezi i sa markerima *BARC212* sa 2A i *GWM261* sa 2D hromozoma. Prema mešovitom linearnom modelu ukoliko se za prag uzme *P* vrednost manja od 0,1 tada su i markeri *BARC212* i *GWM261*, bili u vezi sa prinosom u tri ispitivane godine, dok je za marker *PSP3071* *P* vrednost u svih pet godina bila iznad 0,1. Veza između prinosa i markera *BARC212* i *GWM261*, ustanovljena je i u ranije objavljenim radovima (redom, Maccaferri et al., 2011. i Kumar et al., 2007).

6. 3. 4. Efekat alela

U programu *TASSEL 2. 1*, primenom mešovito linearog modela, izračunat je i efekat alela, detektovanih u ispitivanim mikrosatelitskim lokusima, na svaku od analiziranih osobina. U tabeli 18. je dat sumarni prikaz efekata alela za *SSR* lokuse koji su bili u statistički značajnoj vezi sa određenim agronomski značajnim osobinama pšenice. U obzir su uzeti i lokusi gde je prema opštem linearnom modelu *P* vrednost bila manja od 0,05, a prema mešovitom linearnom modelu manja od 0,1, u najmanje tri ispitivane godine.

Xwmc24. U mikrosatelitskom lokusu *Xwmc24* detektovana su dva alela sa značajnim efektom na masu hiljadu zrna, pri čemu je alel od 115 bp, bio u vezi sa povećanjem vrednosti MHZ za, u proseku, 1,845 g, a alel od 152 bp sa smanjenjem za 2,702 g (tab. 18).

Xbarc212. Marker *BARC212* je na osnovu rezultata ove doktorske disertacije bio u vezi sa četiri ispitivane agronomski značajne osobine: vremenom klasanja, vremenom cvetanja, brojem klasića po klasu i prinosom. Pri tome se izdvajaju dve alelne forme koje imaju suprotno dejstvo na navedene osobine. Alel od 215 bp bio je u vezi sa kasnijim sazrevanjem, u proseku 3,23 dana za VK i 3,045 dana za VC, većim BK za 5,505 klasića, ali i prinosom nižim za 0,200 t/ha. S druge strane, alel od 219 bp imao je uticaja na ranije klasanje i cvetanje za, redom 3,422 i 3,408 dana, manji broj klasića za 3,189, ali i veći prinos za 0,949 t/ha (tab. 18). Dobijeni podaci su u skladu sa rezultatima fenotipskih korelacija jer su u ovoj disertaciji ustanovljene pozitivne statistički značajne korelacije između VK, VC i BK, kao i negativne veze između navedenih osobina i PR (tab. 9).

Xwmc177. U lokusu *Xwmc177* izdvajaju se tri alela sa značajnim efektom na ispitivane osobine. Pri tome je alelna forma od 177 bp bila u vezi sa većom prosečnom vrednosti kod šest ispitivanih osobina: VS, DK, BK, BSK, MK i MZ (tab. 18). Ono što treba izdvojiti, jeste uticaj ovog alela na veću dužinu klasa, broj klasića po klasu, ali i veći broj sterilnih klasića po klasu. Odnosno, iako je ovaj alel u vezi sa povećanjem DK za 1,231 cm i BK za 5,649 klasića, on istovremeno utiče i na veći broj BSK za 1,450 (tab. 18). Ovakvi rezultati su u skladu sa korelacijama utvrđenim u ovoj disertaciji gde

je ustanovljena srednje jaka veza između DK i BK, odnosno BSK, kao i jaka veza između BK i BSK (tab. 9).

Alel veličine 196 bp je, kao i fragment od 177 bp, takođe determinisao više stabljike i veću dužinu klasa, dok je alelna forma od 186 bp imala suprotan efekat na navedene osobine (tab. 18). Ovakvi rezultati su u skladu sa slabim pozitivnim korelacijama između VS i DK, ustanovljenim u ovom radu, kao i prethodno u radu drugih autora (Hristov i sar., 2008; Neumann et al., 2011).

Xgwm261. U lokusu *Xgwm261*, alel od 193 bp imao je značajan efekat na tri analizirane osobine. Determinisao je ranije klasanje i cvetanje za, redom, 2,859 i 3,198 dana i prinos veći za 0,735 t/ha. Ova alelna forma ekvivalentna je dijagnostičkom alelu za *Rht8* gen od 192 bp, koji je ustanovljen u ranije objavljenim radovima (Korzun et al., 1998; Worland et al., 2001; Kobiljski et al., 2006), a razlike od jednog bp mogu biti rezultat primene različitih tehnika pri određivanju veličine fragmenata (Röder et al., 2002). Uticaj ovog alela na VK, VC i PR može se objasniti na osnovu ranije objavljenih radova gde je ustanovljena veza između *Rht8* gena i *Ppd-D1* gena (Worland et al., 1998), kao i plejotropni efekat *Ppd-D1* gena, koji u evropskom regionu utiče na ranije sazrevanje, manju visinu stabljike, kraći klas, ali i veću fertilnost klasića, što za posledicu ima veći prinos (Worland et al., 1996; Snape et al., 2001). Alel od 165 bp takođe je imao efekta na ranije sazrevanje (tab. 18).

Xbarc12. Marker *BARC12* sa 3A hromozoma je, na osnovu rezultata ove doktorske disertacije, bio u vezi sa brojem klasića po klasu i masom hiljadu zrna (tab. 17). U ovom lokusu se izdvaja čak pet alela sa značajnim efektom na jednu ili obe navedene osobine. Ono što se može uočiti jeste da je alel koji je imao negativan efekat na BK imao pozitivan efekat na MHZ. Tako je fragment od 198 bp bio u vezi sa manjim brojem klasića po klasu za 2,435, ali i sa većom masom hiljadu zrna za 1,571 g (tab. 18). Na osnovu fenotipskih korelacija, ustanovljenih u ovom radu, masa hiljadu zrna bila je u statistički značajnoj slaboj negativnoj vezi sa brojem klasića po klasu (tab. 9).

Crovley (2010) u svom radu navodi statistički značajnu vezu između markera *BARC12* i MHZ, pri čemu je aditivni efekat bio negativan (-1,43 g). Navedeni autor je

ispitivao vezu marker-osobina na primeru *RIL* populacije nastale ukrštanjem dva roditelja, pa su i rezultati zasnovani na svega dve alelne forme.

Tabela 18. Efekat alela na ispitivane agronomski značajne osobine pšenice

Lokus	Hromozom	Alel (bp)	Frekvencija alela (%)	Osobina	Srednja vrednost osobine	Efekat alela (srednja vrednost)		
Xwmc24	1A	115	7,39	MHZ	37,66	1,845		
		152	27,46	MHZ	37,66	-2,702		
Xbarc212	2A	215	8,00	VK	133,8	3,230		
				VC	138,7	3,045		
				BK	21,0	5,505		
		219	7,45	PR	6,38	-0,200		
				VK	133,8	-3,422		
				VC	138,7	-3,408		
				BK	21,0	-3,189		
PR	6,38	0,949						
Xwmc177	2A	177	7,89	VS	85,1	9,368		
				DK	9,9	1,231		
				BK	21,0	5,649		
				BSK	2,2	1,450		
				MK	2,07	0,343		
		181	7,02	VS	85,1	-9,499		
				DK	9,9	-0,485		
				196	7,02	VS	85,1	8,002
						DK	9,9	0,472
				Xgwm261	2D	165	17,14	VK
VC	138,7	-2,732						
193	39,75	VK	133,8			-2,859		
		VC	138,7			-3,198		
		PR	6,38			0,735		
Xbarc12	3A	156	22,8	MHZ	37,66	2,606		
		165	10,39	MHZ	37,66	-2,699		
		177	8,96	BK	21,0	-1,286		
		180	17,92	BK	21,0	2,772		
		198	6,81	BK	21,0	-2,435		
Xwmc238	4B	224	19,08	MHZ	37,66	1,571		
				VS	85,1	0,714		
				VS	85,1	-5,713		
				VS	85,1	6,978		
		226	5,30	VS	85,1	-11,246		
228	15,19	VS	85,1	-0,576				
234	8,48	BSK	2,2					
Xwmc553	6A	341	5,26	VS	85,1	16,131		
		357	6,67	VS	85,1	-6,842		
		359	23,16	VS	85,1	-6,513		
Xgwm297	7B	147	11,23	BK	21,0	-3,112		
				MK	2,07	-0,187		
				MZ	1,58	-0,148		
		171	5,61	BK	21,0	4,800		
				MK	2,07	0,242		
				MZ	1,58	0,180		
Xbarc1057.1		185	16,79	DK	9,9	-0,417		
				PR	6,38	0,380		
		188	82,50	DK	9,9	0,417		
				PR	6,38	-0,380		

Xwmc238. U SSR lokusu *Xwmc238* izdvajaju se tri alela koja su imala značajan efekat na visinu stabljike. Alelne forme od 226 bp i 234 bp imale su redukujući efekat na VS, pri čemu je uticaj drugog alela bio izraženiji. S druge strane, alel od 228 bp bio je u vezi sa višom stabljikom, u proseku za 6,978 cm (tab. 18).

Alel od 234 bp je pored redukujućeg efekta na visinu stabljike, bio u vezi i sa manjim brojem sterilnih klasića po klasu (tab. 18), što je u skladu sa korelacijama ustanovljenim u ovoj doktorskoj disertaciji (tab. 9).

Xwmc553. U lokusu *Xwmc553* izdvajaju se tri alela sa značajnim efektom na visinu stabljike. Alel od 341 bp determinisao je stabljike više od srednje vrednosti za datu osobinu, za, u proseku 16,131 cm, dok su aleli od 357 bp i 359 bp imali redukujući efekat za, redom, 6,842 i 6,513 cm (tab. 18).

Xgwm297. Dve alelne forme markera *GWM297* imale su značajan efekat na broj klasića po klasu, masu klasa i masu zrna po klasu. Alel od 147 bp imao je redukujući, a alel od 171 bp pozitivan efekat na navedene osobine (tab. 18). Ovakvi rezultati su u skladu sa pravcem korelacija koje su ustanovljene za date osobine u ovoj doktorskoj disertaciji (tab. 9).

Xbarc1057.1. Marker *BARC1057.1* je na osnovu rezultata ove doktorske disertacije imao nizak nivo polimorfnosti jer su detektovane svega tri alelne forme, pri čemu je jedna imala frekvenciju manju od 5 % (tab. 4). Preostala dva alela imala su značajan i suprotan efekat na dužinu klasa i prinos. Međutim, imajući u vidu velike razlike u učestalosti datih alela u populaciji (tab. 18) pa tako i ustanovljenu nisku *PIC* vrednost (tab. 4), može se zaključiti da dati SSR marker nije dovoljno informativan za asocijativnu analizu u genetičkom materijalu ispitivanom u ovoj doktorskoj disertaciji.

6. 3. 5. Značaj rezultata asocijativne analize pšenice

U ovoj doktorskoj disertaciji se, na osnovu rezultata asocijativne analize između 31 mikrosatelitskog markera i 282 sorte pšenice, koje predstavljaju deo genetičke kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, a poreklom su iz 26 zemalja

sveta, izdvaja nekoliko lokusa koji su bili u vezi sa većim brojem osobina, prema opštem i mešovitom linearnom modelu, u većem broju ispitivanih godina (tab. 17). Naročito su značajni mikrosatelitski lokusi sa hromozoma grupe 2.

Marker *BARC212* sa 2A hromozoma je prema oba modela bio u statistički značajnoj vezi sa vremenom klasanja, vremenom cvetanja i brojem klasića po klasu (tab. 17), dok je prema *GLM* bio još i u asocijaciji sa dužinom klasa, brojem sterilnih klasića po klasu, masom hiljadu zrna i prinosom. U lokusu *Xwmc177*, takođe na 2A hromozomu, detektovani su aleli sa značajnim efektom na dužinu klasa, broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, masu klasa i masu zrna po klasu, kako prema *GLM*, tako i prema *MLM*, dok je prema *GLM* navedeni lokus bio još i u vezi sa visinom stabljike i brojem zrna po klasu. U literaturi se mogu naći različiti podaci o položaju ovih markera na genetičkoj mapi pšenice, u zavisnosti od vrste mapirajuće populacije, njene veličine, kao i broja markera korišćenih pri analizi. Prema Somers i sar. (2004) oba navedena markera mapirana su na kratkom kraku hromozoma 2A, *Xbarc212* na 18 cM, a *Xwmc177* na 28 cM. Na osnovu mape durum pšenice (Maccaferri et al., 2011), *BARC212* nalazi se na 33,7 cM distalno od markera *WMC177* koji je mapiran na 4,4 cM od gena za osetljivost na fotoperiod *Ppd-A1*, dok je na osnovu *Composite Wheat Map* (<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/maps/markerMap.jsp?chromosome=2>), rastojanje među markerima *BARC212* i *WMC177* manje i iznosi 6,24 cM.

SSR lokus *Xbarc212* je na osnovu ranije objavljenih radova bio u vezi sa brojem zrna po klasu, kao i masom klasa (Yao et al., 2009; Cui et al., 2013), što u ovoj disertaciji nije potvrđeno, ali su ustanovljene veze sa nekim drugim agronomski značajnim osobinama, što je navedeno napred u radu. Isto tako i *Xwmc177* je prema Yao i sar. (2009) bio u vezi sa *MHZ*, a prema Maccaferri i sar. (2011) pored *MHZ*, još i sa *VK* i *PR*, ali navedene asocijacije nisu potvrđene u ovoj disertaciji. S druge strane, aleli markera *WMC177* imali su značajan efekat na *BSK*, *MK* i *MZ* (tab. 18), što u dostupnoj literaturi nije utvrđeno (PRILOG, tab. 19).

Još jedan *SSR* lokus mapiran na hromozomu grupe 2, *Xgwm261* sa 2D hromozoma, je na osnovu rezultata ove doktorske disertacije, bio u vezi sa većim brojem agronomski značajnih osobina. Alelne forme markera *GWM261* ispoljavale su značajan efekat na vreme klasanja, vreme cvetanja (tab. 17), a prema *GLM* pristupu još i

na dužinu klasa i prinos. Plejotropni efekat ovog markera, kao što je već napred navedeno u ovom radu, može biti posledica veze sa *Ppd-D1* genom (Worland et al., 1996; Korzun et al., 1998; Snape et al., 2001). Na osnovu ranije objavljenih radova *Xgwm261* bio je u vezi i sa BZ i BK (Kumar et al., 2007), ali to u ovoj doktorskoj disertaciji nije potvrđeno.

Pored markera iz hromozomske grupe 2, na osnovu rezultata asocijativne analize ove doktorske disertacije, izdvajaju se i dva markera sa B genoma, *WMC238* i *GWM297*. *Xwmc238* je prema Somers i sar. (2004) mapiran na 4BL kraku hromozoma, na poziciji 34 cM, a prema Jia i sar. (2013) na 4BS. Na osnovu *GLM* i *MLM*, ovaj lokus bio je u vezi sa BSK (tab. 17), a samo prema *GLM* još i sa VS, BZ i DK. Na osnovu ranije objavljenih istraživanja, *WMC238* bio je u vezi još i sa MHZ (Wang et al., 2011; Jia et al., 2013), ali to u ovoj disertaciji nije potvrđeno.

Xgwm297 mapiran u regionu centromere na 7B hromozomu (Somers et al., 2004;) u ovoj doktorskoj disertaciji bio je u statistički značajnoj vezi sa BK, MK i MZ (tab. 17). Na osnovu ranije objavljenih rezultata, ovaj marker je bio u vezi sa MHZ (Mir et al., 2012), što u ovoj disertaciji nije potvrđeno.

Iako su u ovoj doktorskoj disertaciji za asocijativnu analizu korišćeni mikrosatelitski markeri, za koje je na osnovu ranijih istraživanja već ustanovljeno da su u vezi sa određenim agronomski važnim osobinama pšenice, dobijeni rezultati mogu biti značajni sa više aspekata. Kao prvo, u ovom radu su potvrđene određene veze marker-osobina dobijene ranije ispitivanjem u nekim drugim agroklimatskim regionima i genetičkom materijalu, te se može pretpostaviti da se oni nalaze u blizini stabilnog *QTL*-a za datu osobina. Kao drugo, detektovane su nove veze marker-osobina, koje nisu ustanovljene u ranije objavljenim radovima, dok značaj nekih od odabranih markera za MAS u našem agroklimatskom regionu nije potvrđen. Collard i Mackill (2008), kao jedan od razloga za još uvek nedovoljno visok nivo značajnosti MAS, navode mali broj objavljenih radova gde je izvršena verifikacija ranije detektovanih *QTL*-a.

7. ZAKLJUČAK

U ovoj doktorskoj disertaciji molekularnom evaluacijom 31 odabranog mikrosatelitskog lokusa kod 282 genotipa pšenice poreklom iz 26 zemalja sveta detektovano je ukupno 397 alela. Prosečna *PIC* vrednost iznosila je 0,672, ukazujući na značajan diverzitet ispitivane kolekcije germplazme. A genom, sa *PIC* vrednošću od 0,744 bio je najinformativniji, dok je D genom sa *PIC* od 0,573 bio najmanje polimorfan.

Analizom strukture populacije ustanovljeno da se ispitivani genotipovi mogu podeliti u tri potpopulacije. Genotipovi su se grupisali u skladu sa pedigreeom i geografskim poreklom. U potpopulaciji dva, koja je brojala najveći broj genotipova (127) ustanovljena je najveća alelna varijabilnost u većini ispitivanih *SSR* lokusa.

Fenotipskom evaluacijom, na osnovu deskriptivnih statističkih parametara, utvrđeno je da je odabrani materijal bio veoma varijabilan u pogledu svih osobina od značaja za oplemenjivače. Među ispitivanim osobinama najveća varijansa je zabeležena za visinu stabljike (372,9), a najmanja za masu zrna po klasu (0,14).

Analizom varijanse ustanovljeno je da se svih pet ispitivanih godina statistički veoma značajno razlikovalo ($P < 0,01$) u pogledu svih ispitivanih osobina, dok su na nivou potpopulacija izostale statistički značajne razlike za broj zrna po klasu.

Na osnovu Pirsonovog koeficijenta korelacije utvrđena je veoma slaba negativna korelacija između prinosa i: vremena sazrevanja, dužine klasa, broja klasića po klasu, broja sterilnih klasića po klasu, broja zrna po klasu. S druge strane, korelacija između prinosa i mase zrna po klasu, kao i mase hiljadu zrna bila je pozitivna, veoma slaba, odnosno slaba.

Primenom opšteg linearnog modela ustanovljeno je ukupno 662, a na osnovu mešovito linearnog modela 114 statistički značajnih veza marker-osobina. To znači da se primenom matrice srodnosti među ispitivanim genotipovima, koju podrazumeva *MLM*, broj statistički značajnih asocijacija smanjio više od 5 puta.

Dva lokusa sa hromozoma 2AS, *Xbarc212* i *Xwmc177* bila su u vezi sa najvećim brojem agronomski značajnih osobina. *Xbarc212* bio je u vezi sa VK, VC i BK, prema *MLM* i *GLM*, a samo prema *GLM* još i sa DK, BSK, MHZ i PR . U okviru ovog lokusa alel od 215 bp determinisao je kasnije sazrevanje i veći broj klasića po klasu, dok je alel od 219 bp imao suprotan efekat na navedene osobine. Za *SSR* marker *WMC177* ustanovljena je asocijacija sa dužinom klasa, brojem klasića po klasu, brojem sterilnih klasića po klasu, masom klasa i masom zrna po klasu, kako prema *GLM*, tako i prema *MLM*, dok je prema *GLM* navedeni lokus bio još i u vezi sa visinom stabljike i brojem zrna po klasu. Alel od 177 bp, detektovan u ovom lokusu, imao je pozitivan efekat na VS, DK, BK, BSK, MK i MZ.

Na osnovu rezultata asocijativne analize, markeri *WMC24* (1A), *GWM261* (2D), *BARC12* (3A), *WMC238* (4B), *WMC553* (6A) i *GWM297* (7B), su takođe bili u asocijaciji sa određenim osobinama ispitivanim u ovom radu, te se mogu koristiti pri MAS u našem agroklimatskom regionu.

8. LITERATURA

- Ahmad M (2002): Assessment of genomic diversity among wheat genotypes as determined by simple sequence repeats. *Genome*. 45:646–651.
- Akhunov ED, Akhunova AR, Anderson OD, Anderson JA, Blake N et al. (2010): Nucleotide diversity maps reveal variation in diversity among wheat genomes and chromosomes. *BMC Genomics*. 11:702.
- Akhunov ED, Goodyear AW, Geng S et al. (2003): The organization and rate of evolution of wheat genomes are correlated with recombination rates along chromosome arms. *Genome Res*. 13:753-763.
- An D, Su J, Liu Q, Zhu Y, Tong Y, Li J, Jing R, Li B, Li Z (2006): Mapping QTLs for nitrogen uptake in relation to the early growth of wheat (*Triticum aestivum* L). *Plant and Soil*. 284:73–84.
- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, Sorrells ME (1993): Optimising parental selection for genetic linkage. *Genome*. 36:181-186.
- Asplund L, Leino MW, Hagenblad J (2012): Allelic variation at the Rht8 locus in a 19th century wheat collection. *The Scientific World Journal*. vol 2012, Article ID 385610, 6 pages doi:101100/2012/385610.
- Arumuganathan K, Earle ED (1991): Nuclear DNA content of some important plant species *Plant Molecular Biology Reporter* 9(3):208-218.
- Babu R, Nair SK, Prasanna BM, Gupta HS (2004): Integrating marker-assisted selection in crop breeding – Prospects and challenges. *Current Science*. 87:607-619.
- Bai GH, Das MK, Carver BF, Xiangyang X, Krenzer EG (2004): Covariation for microsatellite marker alleles associated with Rht8 and coleoptile length in winter wheat. *Crop Sci*. 44:1187–1194.
- Balding D (2006): A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nature Review Genetics*. 7:781-791.
- Balfourier F, Roussel V, Strelchenko P, Exbrayat-Vinson F, Sourdille P, Boutet G, Koenig J, Ravel C, Mitrofanova O, Beckert M, Charmet G (2007): A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. *Theor Appl Genet*. 114:1265–1275.

- Bao JS, Corke H, Sun M (2002): Microsatellites in starch synthesizing genes in relation to starch physicochemical properties in waxy rice (*Oryza sativa* L). *Theor Appl Genet.* 105:898–905.
- Borlaug NE (2007): Sixty-two years of fighting hunger: personal recollections. *Euphytica.* 157:287–297.
- Borojević Katarina, Borojević Ksenija (2005): Historic role of the wheat variety Akakomugi in Southern and Central European wheat breeding programs. *Breeding Science.* 55:253-256.
- Börner A, Schumann E, Fürste A, Cöster H, Leithold B, Röder MS, Weber WE (2002): Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet.* 105:921–936.
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES (2007): TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics.* 23:2633-2635.
- Breiman A, Graur D (1995): Wheat evolution. *Israel J Plant Sci.*43:85–98.
- Brenchley R, Spannagl M, Pfeifer M et al. (2012): Analysis of bread wheat genome using whole genome shotgun sequencing. *Nature.* 491:705-710.
- Breseghele F, Sorrells ME (2006): Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Sci.* 46:1323-1330.
- Buerstmayr H, Ban T, Anderson JA (2009): QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed.*128:1–26.
- Cardon LR, Palmer LJ (2003): Population stratification and spurious allelic association. *Lancet.* 361:598–604.
- Carter HA, Garland-Campbell K, Kidwell KK (2011): Genetic mapping of quantitative trait loci associated with important agronomic traits in the spring wheat (*Triticum aestivum* L) cross 'Louise' × 'Penawawa'. *Crop Science.* 51:84-95.
- Chebotar GA, Chebotar SV, Sivolap YM (2012): Della mutations in plants with special emphasis on wheat. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 16:170-177.
- Chebotar SV, Korzun VN, Sibolap YM (2001): Allele distribution at locus WMS261 marking the dwarfing gene *Rht8* in common wheat cultivars of Southern Ukraine. *Russ J Genetics.* 37: 894-898.

- Chen L, Phillips AL, Condon AG, Parry MAJ, Hu Y-G (2013): GA-Responsive dwarfing gene *Rht12* affects the developmental and agronomic traits in common bread wheat. *PLoS ONE* 8(4): e62285. doi:10.1371/journal.pone.0062285.
- Chen S, Gao R, Wang H, Wen M, Xiao J, Bian N, Zhang R, Hu W, Cheng S, Bie T, Wang X (2014): Characterization of a novel reduced height gene (*Rht23*) regulating panicle morphology and plant architecture in bread wheat. *Euphytica*. DOI 10.1007/s10681-014-1275-1.
- Chen X, Min D, Yasir TA, Hu Y-G (2012): Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite Chinese winter wheat investigated with SSR markers. *PLoS ONE* 7(9): e44510 doi:10.1371/journal.pone.0044510.
- Chen Y, Carver BF, Wang S, Cao S, Yan L (2010): Genetic regulation of developmental phases in winter wheat. *Mol Breeding*. 26:573–582.
- Chu C-G, Xu SS, Friesen TL, Faris JD (2008): Whole genome mapping in a wheat doubled haploid population using SSRs and TRAPs and the identification of QTL for agronomic traits. *Mol Breeding*. 22:251–266.
- Chung AM, Staub JE, Chen JF (2006): Molecular phylogeny of *Cucumis* species as revealed by consensus chloroplast SSR marker length and sequence variation. *Genome*. 49:219–229.
- Collard BCY, Mackill DJ (2008): Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 363:557-572.
- Crowley NA (2010): Quantitative trait loci for agronomic and end-use quality performance and the effect of oilborne wheat mosaic virus in a hard winter wheat population in Nebraska. University of Nebraska - Lincoln, Theses, Dissertations, and Student Research in Agronomy and Horticulture. Paper 8. <http://digitalcommons.unl.edu/agronhortdiss/8>.
- Cui F, Ding A, Li J, Zhao C, 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.
- Cui F, Ding A, Li J, Zhao C, Wang L, Wang X, Qi X, Li X, Li G, Gao J, Wang H (2012): QTL detection of seven spike-related traits and their genetic correlations in wheat using two related RIL populations. *Euphytica*. 186:177-192.

- Cui F, Fan X, Zhao C, Zhang W, Chen M, Ji J, Li J (2014): A novel genetic map of wheat: utility for mapping QTL for yield under different nitrogen treatments. *BMC Genetics*. 15:57.
- Cui F, Zhao C, Li J, Ding A, Li X, Bao Y, Li J, Ji J, Wang H (2013): Kernel weight per spike: what contributes to it at the individual QTL level. *Mol Breeding*. 31:265–278.
- Curtis BC (2002): Wheat in the world. In: Bread Wheat Improvement and production. Curtis BC, Rajaram S and Macpherson Ht (eds). FAO Plant Production and Protection Series. No.30. Italy.
- Cuthbert JL, Somers DJ, Brûlé-Babel AL, Brown PD, Crow GH (2008): Molecular mapping of quantitative trait loci for yield and yield components in spring wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet*. 117:595–608.
- Daoura BG, Chen L, Hu Y-G (2013): Agronomic traits affected by dwarfing gene Rht-5 in common wheat (*Triticum aestivum* L). *AJCS* 7:1270-1276.
- Dawson E, Abecasis G, Bumpstead S, Chen Y, Hunt S, Beare D, Pabial J, Dibling T, Tinsley E, Kirby S, Carter D, Papaspyridonos M, Livingstone S, Ganske R, Löhmußaar E, Zernant J, Tõnisson N, Remm M, Mägi R, Puurand T, Vilo J, Kurg A, Rice K, Deloukas P, Mott R, Metspalu A, Bentley D, Cardon L, Dunham I (2002): A first-generation linkage disequilibrium map of human chromosome 22. *Nature*. 418:544-548.
- Delseny M, Laroche M, Penon P (1983): Detection of sequences with Z-DNA forming potential in higher plants. *Biochem Biophys Res Commun*. 116:113–120.
- Deng S, Wu X, Wu Y, Zhou R, Wang H, Jia J, Liu S (2011): Characterization and precise mapping of a QTL increasing spike number with pleiotropic effects in wheat. *Theor Appl Genet*. 122:281-289.
- De Pauw RM, Faris DG, Williams CJ (1981): Genotype– environment interaction of yield in cereal crops in northwestern Canada. *Can J Plant Sci*. 61:255–263.
- De Pauw RM, Knox RE, Clarke FR, Wang H, Fernandez MR, Clarke JM, McCaig TN (2007): Shifting undesirable correlations. *Euphytica*. 157:409–415.
- Devlin B, Roeder K (1999): Genomic control for association studies. *BIOMETRICS*. 55:997-1004.

- Devos KM, Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P, Gale MD (1995): Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. *Theor Appl Genet.* 90:241–252.
- Di Rienzo A, Peterson AC, Garza JC, Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB (1994): Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 91:3166–3170.
- Dodig D, Zorić M, Kandić V, Perović D, Šurlan-Momirović G (2012): Comparison of responses to drought stress of 100 wheat accessions and landraces to identify opportunities for improving wheat drought resistance. *Plant Breeding.* 131:369–379.
- Donald CM, Hamblin J (1976): The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Adv. Agron.* 28:361-405.
- Doyle JJ, Doyle JL (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12:13–15.
- Dresselhaus T, Cordts S, Heuer S, Sauter M, Lorz H, Kranz E (1999): Novel ribosomal genes from maize are differentially expressed in the zygotic and somatic cell cycles. *Mol Gen Genet.* 261:416–427.
- Eathington SR, Crosbie TM, Edwards MD, Reiter RS, Bull J K (2007): Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Science.* 47:S154-s163.
- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet.* 49:746–756.
- Ellis MH, Bonnett DG, Rebetzke GJ (2007): Borlaug, Strampelli and the worldwide distribution of Rht8 In: HT Buck et al (eds), *Wheat production in stressed environments*, Springer, Netherlands, pp. 787–791.
- Ellis MH, Rebetzke GJ, Azanza F, Richards RA, Spielmeier W (2005): Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat. *Theor Appl Genet.* 111:423–430.
- Ersoz ES, Yu J, Buckler ES (2007): Applications of linkage disequilibrium and association mapping in crop plants. RK Varshney and R Tuberosa (eds), *Genomics-assisted crop improvement: Vol. 1: Genomics approaches and platforms*, Springer, Netherlands, pp. 97–119.

- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005): Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol.* 14:2611-2620.
- Evans JD (1996): *Straightforward statistics for the behavioral sciences.* Pacifics Grove, CA: Brooks/Cole Publishing.
- Faris JD, Fellers JP, Brooks SA, Gill BS (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 JD, Gill BS (2002): Genomic targeting and high-resolution mapping of the domestication gene Q in wheat. *Genome.* 45:706–718.
- Faris JD, Zhang Z, Garvin DF, Xu SS (2014): Molecular and comparative mapping of genes governing spike compactness from wild emmer wheat. *Mol Genet Genomics.* 289:641–651.
- Feldman M, Liu B, Segal G, Abbo S, Levy AA, Vega JM (1997): Rapid elimination of low-copy DNA sequences in polyploid wheat: a possible mechanism for differentiation of homoeologous chromosomes. *Genetics.* 147:1381–1387.
- Ferreira A, da Silva MF, da Costa e Silva L, Cruz CD (2006): Estimating the effects of population size and type on the accuracy of genetic maps. *Genet Mol Biol.* 29:182-192.
- Flint-Garcia S, Thornsberry J, Bukler E (2003): Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annual Review Plant Biology.* 54:357-374.
- Fu Y-B, Peterson GW, Richards KW, Somers D, DePauw RM, Clarke JM (2005): Allelic reduction and genetic shift in the Canadian hard red spring wheat germplasm released from 1845–2004. *Theor Appl Genet.* 110:1505–1516.
- Fu Y-B, Somers D (2011): Allelic changes in bread wheat cultivars were associated with long-term wheat trait improvements. *Euphytica.* 179:209–225.
- Gale MD, Youssefian S (1985): Dwarfing genes in wheat. In: *Progress in plant breeding* (Russell GE, ed). London, Butterworth, pp. 1–35.
- Ganal MW, Röder MS (2007): Microsatellite and SNP markers in wheat breeding In: Varshney RK and Tuberosa R (eds), *Genomics assisted crop improvement: Vol 2: Genomics applications in crops*, Springer, Netherlands, pp.1-24.

- Gao IF, Jing RL, Huo NX, Li Y, Li XP, Zhou RH, Chang XP, Tang JF, Ma ZY, Jia JZ (2004): One hundred and one new microsatellite loci derived from ESTs (EST-SSRs) in bread wheat. *Theor Appl Genet.* 108:1392–1400.
- Gaynor RC (2010): Quantitative trait loci mapping of yield, its related traits, and spike morphology factors in winter wheat (*Triticum aestivum* L) Master of Science thesis, Oregon State University, pp. 85
- Gegas VC, Nazari A, Griffiths S, Simmonds J, Fish L, Orford S, Sayers L, Doonan JH, Snape JW (2010): A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *Plant Cell.* 22:1046–1056.
- Gill KS, Gill BS (1994): Mapping in the realm of polyploidy: the wheat model. *Bioessays.* 16:841-846.
- Gill KS, Gill BS, Endo TR, Boyko EV (1996a): Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosomes of group 5 of wheat. *Genetics.* 143:1001–1012.
- Gill KS, Gill BS, Endo TR, Taylor T (1996b): Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 1 of wheat. *Genetics.* 144:1883–1891.
- Gopher A, Abbo S, Lev-Yadun S (2002): The ‘when’, the ‘where’ and the ‘why’ of the Neolithic revolution in the Levant. *Documenta Praehistorica.* 28:49–62.
- 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.
- Griffiths S, Simmonds J, Leverington M, Wang Y, Fish L, Sayers L, Alibert L, Orford S, Wingen L, Snape J (2012): Meta-QTL analysis of the genetic control of crop height in elite European winter wheat germplasm. *Mol Breeding.* 29:159-171.
- 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.
- Guichoux E, Lagache L, Wagner S, Chaumeil P, Léger P, Lepais O, Lepoittevin C, Malausa T, Revardel E, Salin F, Petit RJ (2011): Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources.* 11:591–611.

- Gupta PK, Balyan HS, Edwards KJ, Isaac P, Korzun V, Röder M, Gautier M-F, Joudrier P, Schlatter AR, Dubcovsky J, De la Pena RC, Khairallah M, Penner G, Hayden MJ, Sharp P, Keller B, Wang RCC, Hardouin JP, Jack P, Leroy P (2002): Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theor Appl Genet.* 105:413–422
- Gupta P, Rustgi S, Kulwal P (2005): Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Molecular Biology*. 57:461-485.
- Guyomarc'h H, Sourdille P, Charmet G, Edwards KJ, Bernard M (2002): Characterisation of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. *Theor Appl Genet.* 104:1164–1172.
- Hall D, Tegström C, Ingvarsson PK (2010): Using association mapping to dissect the genetic basis of complex traits in plants. *Briefings in Functional Genomics.* 9:157-165.
- Hamada HM, Petrino MG, Kakunaga T (1982): A novel repeated element with Z-DNA forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 79:6465–6469.
- Hanocq E, Laperche A, Jaminon O, Laine AL, Gouis JL (2007): Most significant genome regions involved in the control of earliness traits in bread wheat, as revealed by QTL meta-analysis. *Theor Appl Genet.* 114:569–584.
- Hao C, Wang L, Ge H, Dong Y, Zhang X (2011): Genetic diversity and linkage disequilibrium in Chinese bread wheat (*Triticum aestivum* L) revealed by SSR markers. *PLoS ONE* 6(2): e17279. doi:10.1371/journal.pone.0017279.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002): SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes* 2:618-620.
- Hartl D, Clark A (1997): *Principles of population genetics*. Sinauer, Sunderland, MA.
- He P, Friebe BR, Gill BS, Zhou J-M (2003): Allopolyploidy alters gene expression in the highly stable hexaploid wheat. *Plant Mol Biol.* 52:401–414.
- Hedrick PW (1987): Gametic disequilibrium measures: proceed with caution. *Genetics.* 117:331–341.

- Hill WG, Robertson, A (1968): Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor Appl Genet.* 38:226–231.
- Holland JB (2007): Genetic architecture of complex traits in plants. *Curr Opin Plant Biol.* 10:156–61.
- Hristov N, Mladenov N, Kondić-Špika A, Štatkić S, Kovačević N (2008): Direktni i indirektni efekti pojedinih svojstava na prinos zrna pšenice. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.* 45 (II): 15-20.
- Huang XQ, Börner A, Röder MS, Ganai M W (2002): Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet.* 105:699–707.
- Jacob HJ, Lindpaintner K, Kusumir EL, Bunkery K, Mao IP, Gantenv D, Dzau J, Lander ES (1991): Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Cell.* 67:213–224.
- Jantasuriyarat C, Vales MI, Watson CJW, 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.
- Jarne P, Lagoda PJJ (1996): Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends Ecol Evol.* 11:424–429.
- Jia H, Wan H, Yang S, Zhang Z, Kong Z, Xue S, Zhang L, Ma Z (2013): Genetic dissection of yield-related traits in a recombinant inbred line population created using a key breeding parent in China's wheat breeding. *Theor Appl Genet.* 126:2123–2139.
- Jing H-C, Korniyukhin D, Kanyuka K, Orford S, Zlatska A, Mitrofanova OP, Koebner R, Hammond-Kosack K (2007): Identification of variation in adaptively important traits and genome-wide analysis of trait–marker associations in *Triticum monococcum*. *Journal of Experimental Botany.* 58:3749–3764.
- Johnson EB, Nalam VJ, Zemetra RS, Riera-Lizarazu O (2008): Mapping the compactum locus in wheat (*Triticum aestivum* L) and its relationship to other spike morphology genes of the Triticeae. *Euphytica.* 163:193–201.
- Jones N, Ougham H, Thomas H (1997): Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytol.* 137:165-177.

- Jung M, Ching A, Bhatramakki D, Dolan M, Tingey S, Morgante M, Rafalski A (2004): Linkage disequilibrium and sequence diversity in a 500-kbp region around the *adh1* locus in elite maize germplasm. *Theor Appl Genet.* 109:681-689.
- Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK (2011): Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. *Euphytica.* 177:309-334.
- Kang HM, Zaitlen NA, Wade CM, Kirby A, Heckermann D, Daly MJ, Eskin E (2008): Efficient control of population structure in model organism association mapping. *Genetics.* 178:1709–1723.
- Kang H-Y, Lin L-J, Song Z-J, Yuan J-Y, Zhong M-Y, Zhang H-Q, Fan X, Sha L-N, Wang Y, Xu L-L, Zeng J, Zhou Y-H (2012): Identification, fine mapping and characterization of *Rht-dp*, a recessive wheat dwarfing (reduced height) gene derived from *Triticum polonicum*. *Genes & Genomics.* 34:509-515.
- Kashkush K, Feldman M, Levy AA (2002): Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid. *Genetics.* 160:1651–1659.
- 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.* 98:472–476.
- 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.
- Kellogg EA (2001): Evolutionary history of the grasses. *Plant Physiol.* 125:1198-205.
- Khlestkina EK, Röder MS, Efremova TT, Börner A, Shumny VK (2004): The genetic diversity of old and modern Siberian varieties of common spring wheat as determined by microsatellite markers. *Plant Breed.* 123:122–127.
- Khush GS (2001): Green revolution: the way forward. *NATURE REVIEWS, GENETICS.* 2:815-822.
- Kirgiwi FM, Ginkel MV, Brown-Guedira G, Gill BS, Paulsen GM, Fritz AK (2007): Markers associated with a QTL for grain yield in wheat under drought. *Mol Breeding.* 20:401–413.
- Kobiljski B (2002a): Molekularni markeri u oplemenjivanju i zaštiti autorskih prava strnih žita – trenutno stanje i perspektive Zbornik referata Naučnog skupa “Savetovanje o biotehnologiji u Vojvodini” Izd: Srpska Akad Nauka i Umetnosti, ogranak u Novom Sadu. str. 99-106.

- Kobiljski B, Denčić S, Hristov N, Mladenov N, Quarrie S, Stephenson P, Kirby J (2007): Potential uses of microsatellites in marker-assisted selection for improved grain yield in wheat. In: Buck HT et al. (eds) *Wheat production in stressed environments*. Springer, Netherlands, pp. 729–736
- Kobiljski B, Denčić S, Pilipović J (2006): Molecular screening of domestic germplasm for allelic variants at the dwarfing gene *Rht8* locus in wheat *Genetika*. 38:67-74.
- Kobiljski B, Quarrie S, Denčić S, Kirby J, Ivegeš M (2002b): Genetic diversity of the Novi Sad wheat core collection revealed by microsatellites. *Cell Mol Biol Lett*. 7:685–694.
- Koebner RMD, Snape JW (1999): Wheat ecology, physiology of yield determination. In: Satorre EH, Slafer GA (eds) *Food products Press*, New York, pp 441–460.
- Korbie DJ, Mattick JS (2008): Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. *Nat. Protoc*. 3:1452-1456.
- Korzun V, Röder MS, Ganai MW, Worland AJ, Law CN (1998): Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I: Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet*. 96:1104-1109.
- Kuchel H, Williams KJ, Langridge PH, Eagles A, Jefferies SP (2007): Genetic dissection of grain yield in bread wheat I. QTL analysis. *Theor Appl Genet*. 115:1029–1041.
- Kumar N, Kulwal PL, Balyan HS, Gupta PK (2007): QTL mapping for yield and yield contributing traits in two mapping populations of bread wheat. *Mol Breeding*. 19:163–177.
- Kumar N, Kulwal PL, Gaur A, Tyagi AK, Khurana JP, Khurana P, Balyan HS, Gupta PK (2006): QTL analysis for grain weight in common wheat. *Euphytica*. 151:135–144.
- Landjeva S, Korzun V, Börner A (2007): Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding. *Euphytica*. 156:271-296.
- Law CN, Worland AJ (1997): Genetic analysis of some flowering time and adaptive traits in wheat. *New Phytol*. 137:19-28.

- Lawson MJ, Zhang L (2006): Distinct patterns of SSR distribution in the *Arabidopsis thaliana* and rice genomes. *Genome Biol.* 7:R14.
- Le Thierry D'ennequin M, Toupance B, Robert T, Godelle B, Gouyon PH (1999): Plant domestication: a model for studying the selection of linkage. *J. EVOL. BIOL.* 12:1138-1147.
- Lewontin C (1964): The interaction of selection and linkage. I General considerations; heterotic models. *Genetics.* 49: 49-67.
- Li S, Jia J, Wei X, Zhang X, Li L, Chen H, Fen Y, Sun H, Zhao X, Lei T, Xu J, Jiang F, Wang H, Li L (2007): A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Mol Breeding.* 20:167–178.
- Li Y, Song Y, Zhou R, Branlard G, Jia J (2009): Detection of QTLs for bread-making quality in wheat using a recombinant inbred line population. *Plant Breeding.* 128:235—243.
- Li Y, Zhou R, Wang J, Liao X, Branlard G, Jia J (2012): Novel and favorable QTL allele clusters for end-use quality revealed by introgression lines derived from synthetic wheat. *Mol Breeding.* 29:627–643.
- Li Y-C, Korol AB, Fahima T, Beiles A, Nero E (2002): Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Mol Ecol.* 11:2453-2465.
- Li Y-C, Korol AB, Fahima T, Nero E (2004): Microsatellites within genes: structure, function and evolution. *Mol Biol Evol.* 21: 991-1007.
- Liao X-Z, Wang J, Zhou R-H, Ren Z-L, Jia J-Z (2008): Mining favorable alleles of QTLs conferring thousand-grain weight from synthetic wheat. *Acta Agron Sin.* 34:1877–1884.
- Litt M, Luty JM (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am J Hum Genet.* 44:397–401.
- Liu HY (2010): Construction of near-isogenic introgression lines for importantly agronomic traits and QTL analysis in hexaploid wheat. Master's thesis, Sichuan Agricultural University, Ya'an, China, pp. 65.

- Liu L, Dybvig K, Panangala VS, van Santen VL, French CT (2000): GAA trinucleotide repeat region regulates M9/pMGA gene expression in *Mycoplasma gallisepticum*. *Infection and Immunity*. 68:871-876.
- Liu S, Bai G (2010): Dissection and fine mapping of a major QTL for preharvest sprouting resistance in white wheat Rio Blanco. *Theor Appl Genet*. 121:1395–1404.
- Long AD, Langley CH (1999): The power of association studies to detect the contribution of candidate genetic loci to variation in complex traits. *Genome Res*. 9:720–731.
- Lu H, Redus MA, Coburn JR, Rutger JN, McCouch SR, Tai TH (2005): Population structure and breeding patterns of 145 US rice cultivars based on SSR marker analysis. *Crop Sci*. 45:66–76.
- Lynch M, Walsh B (1998): *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA, pp. 980.
- Ma J, Devos KM, Bennetzen JL (2004): Analyses of LTR retrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice. *Genome Res*. 14: 860–869.
- Ma J, Zhang CY, Yan GJ, Liu CJ (2013): Improving yield and quality traits of durum wheat by introgressing chromosome segments from hexaploid wheat. *Genet. Mol. Res*. 12:6120-6129.
- Ma Z, Zhao D, Zhang C, Zhang Z, Xue S, Lin F, Kong Z, Tian D, Luo Q (2007): Molecular genetic analysis of five spike-related traits in wheat using RIL and immortalized F2 populations. *Mol Gen Genomics*. 277:31–42.
- Maccaferri M, Sanguineti MC, Corneti S, Ortega JLA, Salem MB, Bort J, DeAmbrogio E, Garcia del Moral LF, Demontis A, El-Ahmed A, Maalouf F, Machlab H, Martos V, Moragues M, Motawaj J, Nachit M, Nserallah N, Ouabbou H, Royo C, Slama A, Tuberosa R (2008): Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf) across a wide range of water availability. *Genetics*. 178: 489–511.
- Maccaferri M, Sanguineti MC, Demontis A, El-Ahmed A, del Moral LG (2011): Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. *Journal of Experimental Botany*. 62:409–438.

- Malysheva-Otto L, Ganal M, Röder M (2006): Analysis of molecular diversity, population structure and linkage disequilibrium in a worldwide survey of cultivated barley germplasm (*Hordeum vulgare* L). *BMC Genetics*. 7:1-14.
- Manickavelu A, Kawaura K, Imamura H, Mori M, Ogihara Y (2010): Molecular mapping of quantitative trait loci for domestication traits and β -glucan content in a wheat recombinant inbred line population *Euphytica* DOI 101007/s10681-010-0217-9
- Mao S-L, Wei Y-M, Cao W, Lan X-J, Yu M, Chen Z-M, Chen G-Y, Zheng Y-L (2010): Confirmation of the relationship between plant height and Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L) by QTL meta-analysis. *Euphytica*. 174:343–356.
- Marcotte EM, Pellegrini M, Yeates TO, Eisenberg D (1999): A census of protein repeats. *Journal of Molecular Biology*. 293:151-160.
- Mason RE, Hays DB, Mondal S, Ibrahim AMH, Basnet BR (2013): QTL for yield, yield components and canopy temperature depression in wheat under late sown field conditions. *Euphytica*. 194:243–259.
- McClintock B. 1984. The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 226: 792–801.
- McFadden E, Sears ER (1946): The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relative. *J Hered*. 37:81–89.
- McIntosh RA, Yamazaki Y, Dubcovsky J, Rogers J, Morris C, Somers DJ, Appels R, Devos KM (2012): Catalogue of Gene Symbols for Wheat <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>.
- Mengistu NC (2010): Grain yield and yield-related QTL validation using reciprocal recombinant inbred chromosome lines in wheat. Doctoral Dissertation, Lincoln, University of Nebraska, USA. pp. 91.
- Miftahudin KR, Ma XF, Mahmoud AA, Layton J, Rodriguez MA, Chikmawati T, Ramalingam J, Feril O, Pathan MS, Surlan Momirovic G et al. (2004): Analysis of EST loci on wheat chromosome group 4. *Genetics*. 168:651-663.
- Mir RR, Kumar N, Jaigwal V, Girdharwal N, Prasad M, Balyan HS, Gupta PK (2012): Genetic dissection of grain weight in bread wheat through quantitative trait locus interval and association mapping. *Mol Breeding*. 29:963–972.

- Mori M, Uchino N, Chono M, Kato K, Miura H (2005): Mapping QTLs for grain dormancy on wheat chromosome 3A and the group 4 chromosomes, and their combined effect. *Theor Appl Genet.* 110:1315–1323.
- Nalam VJ, Vales, MI, Watson, CJW, Johnson, EB, Riera-Lizarazu, O (2007): Map-based analysis of genetic loci on chromosome 2D that affect glume tenacity and threshability, components of the free-threshing habit in common wheat (*Triticum aestivum* L) *Theor Appl Genet* 116:135–145.
- Narasimhamoorthy B, Gill BS, Fritz AK, Nelson JC, Brown-Guedira GL (2006): Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat x synthetic wheat population. *Theor Appl Genet.* 112:787–796.
- Neale DB, Savolainen O (2004): Association genetics of complex traits in conifers. *Trends Plant Sci.* 9:325–30.
- Neumann K, Kobiljski B, Denčić S, Varshney RK, Börner A (2011): Genome-wide association mapping: a case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Mol Breeding.* 27:37-58.
- Nielsen NH, Backes G, Stougaard J, Andersen SU, Jahoor A (2014): Genetic Diversity and Population Structure Analysis of European Hexaploid Bread Wheat (*Triticum aestivum* L) Varieties. *PLoS ONE* 9(4): e94000.
- Nordborg M, Tavaré S (2002): Linkage disequilibrium: what history has to tell us. *TrendsGenet.* 18:83–90.
- Orford SE, Law JR, Ganai M, Koebner RMD (2006): Has modern breeding led to a genetic narrowing in European winter wheat? In: Börner A, Pankova K, Snape JW (eds) *EWAC Newsletter 2006, Proceedings of the 13th International EWAC Conference, Prague, Czech Republic*, pp. 98–100.
- Orr HT, Zoghbi HY (2007): Trinucleotide repeat disorders. *Annu Rev Neurosci.* 30:575–621.
- Ozkan H, Levy AA, Feldman M (2001): Allopolyploidy-induced rapid genome evolution in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *Plant Cell.* 13:1735–1747.
- Paillard S, Schnurbusch T, Winzeler M, Messmer M, Sourdille P, Abderhalden O, Keller B, Schachermayr G (2003): An integrative genetic linkage map of winter wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet.* 107:1235–1242.

- Pankova K, Milec Z, Simmonds J, Leverington-Waite M, Fish L, Snape JW (2008): Genetic mapping of a new flowering time gene on chromosome 3B of wheat. *Euphytica*. 164:779–787.
- Parida SK, Kalia SK, Sunita K, Dalal V, Hemaprabha G, Selvi A, Pandit A, Singh A, Gaikwad K, Sharma TR, Srivastava PS, Singh NK, Mohapatra T (2009): Informative genomic microsatellite markers for efficient genotyping applications in sugarcane. *Theor Appl Genet*. 118:327–338.
- Park SDE (2001): Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. Ph.D. thesis. University of Dublin, Dublin, Ireland.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6:288-295.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 28: 2537-2539.
- Peng J, Ronin Y, Fahima T, Röder MS, Li Y, Nevo E, Korol A (2003): Domestication quantitative trait loci in *Triticum dicoccoides*, the progenitor of wheat. *PNAS* 100:2489–2494.
- Peng JH, Lapitan NLV (2005): Characterization of EST-derived microsatellites in the wheat genome and development of eSSR markers. *Funct Integr Genomics*. 5:80–96.
- Petersen G, Seberg O, Merete Y, Kasper B (2006): Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B and D genomes of common wheat (*T. aestivum*). *Mol Phylogenet Evol*. 39:70–82.
- Pinto RS, Reynolds MP, Mathews KL, McIntyre CL, Olivares-Villegas J-J, Chapman SC (2010): Heat and drought adaptive QTL in a wheat population designed to minimize confounding agronomic effects. *Theor Appl Genet*. 121:1001–1021.
- Powell W, Machray GC, Provan J (1996): Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci*. 1:215–222.
- Pozzi C, Rossini L, Vecchiotti A, Salamini F (2004): Gene and genome changes during domestication of cereals. In: Gupta P, Varsheny RK (eds), *Cereal genomics*, Kluwer Academic Press, Netherlands, pp. 165-198.

- Pozzi C, Salamini F (2007): Genomics of wheat domestication. In: Genomics-assisted crop improvement. Vol 2: Genomics applications in crops. Varshney R K and Tuberosa R (eds). Springer, Netherlands, pp. 453-481.
- Price AH (2006): Believe it or not, QTLs are accurate!. *Trends Plant Sci.* 11:213–216.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly PJ (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 155:945-959.
- Provan J, Powell W, Hollingsworth PM (2001): Chloroplast microsatellites: new tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends Ecol Evol.* 16:142–147.
- Quarrie SA, Dodig D, Pekić S, Kirby J, Kobiljski B (2003): Prospects for marker-assisted selection of improved drought responses in wheat. *Bulg J Plant Physiol, Special Issue.* 83–95.
- Quarrie SA, Steed A, Calestani C, Semikhodskii A, Lebreton C et al. (2005): A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L) from the cross Chinese Spring · SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theor Appl Genet.* 110: 865–880.
- Quirin EA (2010): Characterization and quantitative trait loci (QTL) mapping of Fusarium head blight resistance-related traits in the Japanese wheat landrace, PI 81791 (Sapporo Haru Komugi Jogo). Doctoral Dissertation, Faculty of the Graduate School, University of Minnesota, pp. 167.
- Rajendrakumar P, Biswal AK, Balachandran SM, Srinivasarao K, Sundaram RM (2007): Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics.* 23:1–4.
- Ramya P, Chaubal A, Kulkarni K, Gupta L, Kadoo N, Dhaliwal HS, Chhuneja P, Lagu M, Gupta V (2010): QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *J Appl Genet* 51:421–429.
- Randhawa HS, Asif M, Pozniak C, Clarke JM, Graf RJ et al. (2013): Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breeding.* 132:458–471.
- Reif JC, Maurer HP, Korzun V, Ebmeyer E, Miedaner T, Würschum T (2011): Mapping QTLs with main and epistatic effects underlying grain yield and heading time in soft winter wheat. *Theor Appl Genet.* 123:283-292.
- Robbins M, Sim S, Yang W, Deynze A, van der Knaap E, Joobeur T, Francis D (2011): Mapping and linkage disequilibrium analysis with a genome-wide collection of

- SNPs that detect polymorphism in cultivated tomato. *Journal of Experimental Botany*. 62:1831-1845.
- Roussel V, Leisova L, Exbrayat F, Stehno Z, Balfourier F (2005): SSR allelic diversity changes in 480 European bread wheat varieties released from 1840 to 2000. *Theor Appl Genet*. 111:162–170.
- Röder MS, Huang X-Q, Börner A (2008): Fine mapping of the region on wheat chromosome 7D controlling grain weight. *Funct Integr Genomics*. 8:79–86.
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M-H, Leroy P, Ganal MW (1998): A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 149:2007–2023.
- Röder MS, Wendehake K, Korzun V, Bredemeijer G, Laborie D, Bertrand L, Isaac P, Rendell S, Jackson J, Cooke RJ, Vosman B, Ganal MW (2002): Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theor Appl Genet*. 106:67–73.
- Saintenac C, Jiang D, Wang S, Akhunov E (2013): Sequence-based mapping of the polyploid wheat genome. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 3:1105-1114.
- Salamini F, Ozkan H, Brandolini A, Schaefer-Pregl R, Martin W (2002): Genetics and geography of wild cereal domestication in the near east. *Nat Rev Genet*. 3:429–441.
- Samadi S, Erard F, Estoup A, Jarne P (1998): The influence of mutation, selection and reproductive systems on microsatellite variability: a simulation approach. *Genetic Research*. 71: 213-222.
- Scarth R, Law CN (1983): The location of the photoperiodic gene, Ppd2, and an additional factor for ear-emergence time on chromosome 2B of wheat. *Heredity*. 51: 607–619.
- Sears ER (1947): The sphaerococcum gene in wheat. *Genetics*. 32:102–103.
- Shahzad A, Ahmad M, Iqbal M, Ahmed I, Ali GM (2012): Evaluation of wheat landrace genotypes for salinity tolerance at vegetative stage by using morphological and molecular markers. *Genet. Mol. Res*. 11:679-692.
- Simmonds J, Scott P, Leverington-Waite M, Turner AS, Brinton J, Korzun V, Snape J, Uauy C (2014): Identification and independent validation of a stable yield and thousand grain weight QTL on chromosome 6A of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L). *BMC Plant Biology*. 14:191.

- Simons KJ, Fellers JP, Trick HN, Zhang Z, Tai Y-S, Gill BS, Faris JD (2006): Molecular characterization of the major wheat domestication gene Q. *Genetics*. 172:547–555.
- Slatkin M (2008): Linkage disequilibrium: Understanding the evolutionary past and mapping the medical future. *Nature Review Genetics*. 9:477-485.
- Snape JW, Butterworth K, Whitechurch E, Worland AJ (2001): Waiting for fine times: genetics of flowering time in wheat. *Euphytica*. 119: 185–190.
- Snape JW, Foulkes MJ, Simmonds J, Leverington M, Lesley JF, Wang Y, Ciavarella M (2007): Dissecting gene x environmental effects on wheat yields via QTL and physiological analysis. *Euphytica*. 154:401–408.
- Somers DJ, Isaac P, Edwards K (2004): A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet*. 109:1105–1114.
- Sonah H, Deshmukh RK, Sharma A, Singh VP, Gupta DK, et al. (2011): Genome-wide distribution and organization of microsatellites in plants: an insight into marker development in *Brachypodium*. *PLoS ONE* 6(6): e21298.
- Song QJ, Shi JR, Singh S, Fickus EW, Costa JM, Lewis J, Gill BS, Ward R, Cregan PB (2005): Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor Appl Genet*. 110:550–560.
- Soto-Cerda BJ, Cloutier S (2012): Association mapping in plant genomes, genetic diversity in plants, Prof Mahmut Caliskan (Ed), ISBN: 978-953-51-0185-7, InTech, Available from:<http://www.intechopen.com/books/genetic-diversity-in-plants/association-mapping-in-plant-genomes>.
- Sourdille P, Cadalen T, Guyomarc'h H, Snape JW, Perretant MR, Charmet G, Boeuf C, Bernard S, Bernard M (2003): An update of the Courtot 9 Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat. *Theor Appl Genet*. 106:530–538.
- Stephenson P, Bryan G, Kirby J, Collins A, Devos K, Busso C, Gale M (1998): Fifty new microsatellite loci for the wheat genetic map. *Theor Appl Genet*. 97:946–949.
- Suenaga K, Khairallah M, William HM, Hoisington DA (2005): A new intervarietal linkage map and its application for quantitative trait locus analysis of “gigas” features in bread wheat. *Genome*. 48:65–75.

- Sun X-Y, Wu K, Zhao Y, Kong F-M, Han G-Z, Jiang H-M, Huang X-J, Li R-J, Wang H-G, Li S-S (2009): QTL analysis of kernel shape and weight using recombinant inbred lines in wheat. *Euphytica*. 165:615–624.
- Surlan-Momirovic G, Krämer I, Bratkovic K, Zoric M, Momirovic U, Brankovic G, Calic I, Kandic V, Przulj N, Ordon F, Perovic D (2013): Molecular characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) accessions of the Serbian Genebank by SSR fingerprinting. *Genetika*. 45:167-180.
- Šip V, Chrpova J, Zofajova A, Pankova K, Užik M, Snape JW (2010): Effects of specific Rht and Ppd alleles on agronomic traits in winter wheat cultivars grown in middle Europe. *Euphytica*. 172:221-233.
- Tambussi EA, Bort J, Guiamet JJ, Nogues S, Araus JL (2007): The photosynthetic role of ears in C3 cereals: metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 26:1-16.
- Tautz D (1989): Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acid Res*. 17:6463–6471.
- Tautz D, Renz M (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res*. 12:4127–4138.
- Thiel T, Michalek W, Varshney RK, Graner A (2003): Exploiting EST databases for the development of cDNA derived microsatellite markers in barley (*Hordeum vulgare* L). *Theor Appl Genet*. 106:411–422.
- Tóth G, Gáspári Z, Jurka J (2000): Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Res*. 10:967–981.
- Trkulja D, Kondić-Špika A, Brbaklić Lj, Kobiljski B (2011): Analiza veze marker – osobina za vreme klasanja i cvetanja pšenice korišćenjem pojedinačne marker regresije. *Ratarstvo i povrtarstvo*. 48(1): 113-120.
- Trkulja D, Kondić-Špika A, Brbaklić Lj, Kobiljski B, Hristov N (2012): Marker-trait associations for spike-related characters in a doubled haploid population of wheat. *Romanian Agricultural Research*, 29: 9-16.
- Van Ginkel M, Calhoun DS, Gebeyehu G, Miranda A, Tian-you C, Lara Pargas R, Trethowan RM, Sayre K, Crossa J, Rajaram S (1998): Plant traits related to yield of wheat in early, late, or continuous drought conditions. In: Braun HJ, Altay F,

- Kronstad WE, Beniwal BK, McNab A (eds) Wheat: prospects for global improvement. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 167–180.
- Van Zeist W, Wasylkova K, Behre KE (1991): Progress in old world palaeoethnobotany, Balkema, Rotterdam, Netherlands.
- Wall JD, Pritchard JK (2003): Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet.* 4:587–597.
- Wang J, Liu W, Wang H, Li L, Wu J, Yang X, Li X, Gao A (2011): QTL mapping of yield-related traits in the wheat germplasm 3228. *Euphytica.* 177:277-292.
- Wang L, Ge H, Hao C, Dong Y, Zhang X (2012): Identifying loci influencing 1,000-kernel weight in wheat by microsatellite screening for evidence of selection during breeding. *PLoS ONE* 7(2): e29432.
- Wang ML, Barkley NA, Jenkins TM (2009a) Microsatellite markers in plants and insects. Part I. Applications of biotechnology. *G3: Genes, Genomes, Genomics.* 3:54–67.
- Wang RX, Hai L, Zhang XY, You GX, Yan CS, Xiao SH (2009b): QTL mapping for grain filling rate and yield-related traits in RILs of the Chinese winter wheat population Heshangmai 3 Yu8679. *Theor Appl Genet.* 118:313–325.
- Wang S, Carver B, Yan L (2009c): Genetic loci in the photoperiod pathway interactively modulate reproductive development of winter wheat. *Theor Appl Genet.* 118:1339–1349.
- Wang Y, Rannala B (2005): In silico analysis of disease-association mapping strategies using the coalescent process and incorporating ascertainment and selection. *Am J Hum Genet.* 76:1066–1073.
- Weber JL (1990): Informativeness of human (d:C-dA)_n (dGdT)_n polymorphisms. *Genomics.* 7:524–530.
- Werner JE, Endo TR, Gill BS (1992): Toward a cytogenetically based physical map of the wheat genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:11307–11311.
- Whitt SR, Buckler EB (2003): Using natural allelic diversity to evaluate gene function. *Methods Mol Biol.* 236:123–40.
- Whitelaw CA, Barbazuk WB, Pertea G, Chan AP, Cheung F et al. (2003): Enrichment of gene-coding sequences in maize by genome filtration. *Science.* 302: 2118–2120.

- Wilhelm EP, Boulton MI, Al-Kaff N, Balfourier F, Bordes J, Greenland AJ, Powell W, Mackay IJ (2013): Rht-1 and Ppd-D1 associations with height, GA sensitivity, and days to heading in a worldwide bread wheat collection. *Theor Appl Genet.* 126:2233–2243.
- Worland AJ (1996): The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats. *Euphytica.* 89: 49-57.
- Worland AJ, Börner A, Korzun V, Li WM, Petrović S and Sayers S J (1998) The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheat. *Euphytica.* 100: 385-394.
- Worland AJ, Sayers EJ , Korzun V (2001): Allelic variation at the dwarfing gene Rht8 locus and its significance in international breeding programmes. *Euphytica.* 119:155–159.
- Wu J, Kong X, Wan J, Liu X, Zhang X, Guo X, Zhou R , Zhao G, Jing R, Xiangdong Fu, Jia J (2011): Dominant and pleiotropic effects of a GAI gene in wheat results from a lack of interaction between DELLA and GID1. *Plant Physiology.* 157:2120–2130.
- Wu X, Cheng R, Xue S, Kong Z, Wan H, Li G, Huang Y, Jia H, Jia J, Zhang L, Ma Z (2014): Precise mapping of quantitative trait locus interval for spike length and grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Mol Breeding.* 33:129–138.
- Würschum T, Langer SM, Friedrich C, Longin H, Korzun V, Akhunov E, Ebmeyer E, Schachschneider R, Schacht J, Kazman E, Reif JC (2013): Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. *Theor Appl Genet.* 126:1477–1486.
- Xiao SH, He ZH (2003): Wheat yield and end use quality improvement in China. In: Zhuang QS (ed) *Chinese wheat improvement and pedigree analysis.* China Agricultural Press, Beijing. pp. 497–542.
- Xu X, Bai G, Carver BF, Shaner GE (2005a): A QTL for early heading in wheat cultivar Suwon 92. *Euphytica.* 146:233–237.
- Xu X-Y, Bai G-H, Carver BF, Shaner GE, Hunger RM (2005b): Mapping of QTLs prolonging the latent period of *Puccinia triticina* infection in wheat. *Theor Appl Genet.* 110:244–251.

- Yan J, Shan T, Warburton M, Buckler E, McMullen M, Crouch J (2009): Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *Plos One*. 4 (12) e8451.
- Yao J, Wang L, Liu L, Zhao C, Zheng Y (2009): Association mapping of agronomic traits on chromosome 2A of wheat *Genetica* 137:67–75
- Yin X, Chasalow SC, Dourleijn CJ, Stam P, Kropff MJ (2000): Coupling estimated effects of QTLs for physiological traits to a crop growth model: Predicting yield variation among recombinant inbred lines in barley. *Heredity*. 85:539-549.
- Yu J, Pressoir G, Briggs WH, Vroh Bi I, Yamasaki M, Doebley JF, McMullen MD, Gaut BS, Nielsen DM, Holland JB et al (2006): A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat Genet*. 38:203–208.
- Yu JK, Dake TM, Singh S, Benschler D, Li W, Gill B, Sorrells ME (2004): Development and mapping of EST-derived simple sequence repeat markers for hexaploid wheat. *Genome*. 47:805–818.
- Yuan Q, Deng Z, Peng T, Tian J(2012): QTL-based analysis of heterosis for number of grains per spike in wheat using DH and immortalized F2 Populations. *Euphytica*. 188:387–395.
- Zanke CD, Ling J, Plieske J, Kollers S, Ebmeyer E, et al. (2014): Whole genome association mapping of plant height in winter wheat (*Triticum aestivum* L). *PLoS ONE* 9(11): e113287.
- Zhang D, Bai G, Zhu C, Yu J, Carver B (2010): Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in US elite winter wheat. *The Plant Genome*. 3:117-127.
- Zhang D, Hao C, Wang L, Zhang X (2012): Identifying loci influencing grain number by microsatellite screening in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Planta*. 236:1507-1517.
- Zhang K, Tian J, Zhao L, Liu B, Chen G (2009): Detection of quantitative trait loci for heading date based on the doubled haploid progeny of two elite Chinese wheat cultivars. *Genetica*. 135:257–265.
- Zhang K , Tian J, Zhao L, Wang S (2008): Mapping QTLs with epistatic effects and QTL x environment interactions for plant height using a doubled haploid population in cultivated wheat. *J. Genet. Genomics* 35:119–127.

- Zhang K, Wang J, Zhang L, Rong C, Zhao F, et al. (2013): Association analysis of genomic loci important for grain weight control in elite common wheat varieties cultivated with variable water and fertiliser supply. *PLoS ONE* 8(3): e57853.
- Zhang Y, Tang J, Zhang Y, Yan J, Xiao Y, Zhang Y, Xia X, He Z (2011a): QTL mapping for quantities of protein fractions in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Theor Appl Genet.* 122:971–987.
- Zhang ZC, Belcram H, Gornicki P, Charles M, Just J, Huneau C, Magdelenat G, Couloux A, Samain S, Gill BS, Rasmussen JB, Barbe V, Faris JD, Chalhoub B (2011b): Duplication and partitioning in evolution and function of homoeologous Q loci governing domestication characters in polyploid wheat. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 108:18737–18742.
- Zheng BS, Gouis JL, Leflon M, Rong WY, Laperche A, Brancourt-Hulmel M (2010): Using probe genotypes to dissect QTL x environment interactions for grain yield components in winter wheat. *Theor Appl Genet.* 121:1501-1517.
- Zhu C, Gore M, Buckler E, Yu J (2008): Status and prospects of association mapping in plants. *The Plant Genome.* 1:5-20.

9. PRILOG

Tabela 19. Pregled referenci za odabir mikrosatelitskih markera

Mikrosatelitski lokus	Osobina	Referenca
Xgwm495	usvajanje azota	An et al., 2006
Xbarc164	visina stabljike	Carter et al., 2011
Xgwm261	visina stabljike, fotoperiod	Chen et al., 2010
Xcfa2155	vreme klasanja, visina stabljike	Chu et al., 2008
Xbarc12	masa hiljadu zrna, broj klasova po m2	Crovley, 2010
Xbarc164	masa hiljadu zrna, masa zrna po klasu	Cui et al., 2011
Xgwm495	masa hiljadu zrna	
Xbarc164	broj sterilnih klasića po klasu, broj klasova po m2	Cui et al., 2012
Xgwm276	masa hiljadu zrna, broj klasića po klasu, sazrevanje	Cuthbert et al., 2008
Xgwm113	broj klasova po biljci, dužina klasa, broj zrna po klasu	Deng et al., 2011
Xgwm495	broj klasova po biljci, dužina klasa, broj zrna po klasu	
Xcfd14	nalivanje semena	Gaynor, 2010
Xgwm332	masa zrna po klasu	
Xwmc278	broj klasova po m2	
Xwmc331	masa zrna po klasu	
Xwmc489–Xcfa2155	vreme klasanja	Griffiths et al., 2009
Xbarc164	visina stabljike	Griffiths et al., 2012
Xgwm261	visina stabljike	
Xwmc264	visina stabljike	
Xgwm388	masa hiljadu zrna	Groos et al., 2003
Xcfa2155	vernalizacija, klasanje	Hanocq et al., 2007
Xgwm484	vreme klasanja	
Xgwm499	vernalizacija, klasanje	
Xgwm261	vreme cvetanja	Jia et al., 2013
Xwmc238-Xgwm495	visina stabljike, broj zrna po klasu, masa zrna po klasu	
Xwmc24	visina stabljike	
Xwmc177	dužina klasa	Jing et al., 2007
Xgpw3017	visina stabljike	Kang et al., 2012
Xgwm495	visina stabljike	
Xgwm484	prinos	Kobiljski et al., 2007

Tabela 19. (nastavak)

Mikrosatelitski lokus	Osobina	Referenca
Xwmc24	masa hiljadu zrna	Kumar et al., 2006
Xgwm261	prinos, žetveni indeks, dužina klasa, broj klasića po klasu, broj zrna po klasu	Kumar et al., 2007
Xgwm276	prinos, broj zrna po klasu	
Xbarc1057	sedimentacioni test	Li et al., 2009
Xwmc177	sedimentacioni test	
Xwmc331	sadržaj proteina	
Xwmc457	sadržaj proteina, vlažni gluten, tvrdoća zrna	Li et al., 2012
Xbarc1047	vreme sazrevanja	
Xgwm495	masa hiljadu zrna	Liao et al., 2008
Xbarc12	prežetveno proklijavanje	Liu et al., 2010
Xcfd14	broj klasića po klasu	Ma et al., 2007
Xgwm261	dužina klasa, kompaktnost klasa	
Xwmc177	dužina klasa, broj klasića po klasu	Ma et al., 2013
Xwmc177	vreme klasanja	Maccaferri et al., 2008
Xbarc12	prinos, masa hiljadu zrna	Maccaferri et al., 2011
Xbarc212	prinos	
Xgwm495	vreme klasanja, visina stabljike, dužina pedunkule, prinos	
Xwmc177	vreme klasanja, masa hiljadu zrna, prinos	
Xwmc24	prinos	
Xwmc264	vreme klasanja, visina stabljike, dužina pedunkule, prinos, masa hiljadu zrna	Manickavelu et al., 2010
Xwmc396	dužina pedunkule, prinos	
Xcfa2155	dužina klasa, kompaktnost klasa, visina zrna	Mao et al., 2010
Xgwm276	vreme klasanja	
Xgwm499	vreme klasanja	Mao et al., 2010
Xgwm261	visina stabljike	
Xgwm495	visina stabljike	
Xwmc24	visina stabljike	
Xwmc264	visina stabljike	
Xwmc457	visina stabljike	Mengistu, 2010
Xbarc1060	visina stabljike, prinos	
Xbarc86	broj klasova po m2	

Tabela 19. (nastavak)

Mikrosatelitski lokus	Osobina	Referenca
Xbarc164	masa hiljadu zrna	
Xbarc3	masa hiljadu zrna	
Xgdm109	masa hiljadu zrna	
Xgwm297	masa hiljadu zrna	Mir et al.,2012
Xgwm425	masa hiljadu zrna	
Xwmc24	masa hiljadu zrna	
Xwmc364	masa hiljadu zrna	
Xwmc396	masa hiljadu zrna	
Xgwm495	prežetveno proklijavanje	Mori et al., 2005
Xgwm261	čvrstina glume, golozrnost	Nalam et al., 2007
Xbarc164	vreme cvetanja	Pankova et al., 2008
Xgwm397	prinos	Pinto et al., 2010
Xpsp3071	masa hiljadu zrna	Quarrie et al., 2003
Xgwm499	masa hiljadu zrna	Ramya et al., 2010
Xwmc24	masa hiljadu zrna	
Xwmc457	prinos	Reif et al., 2011
Xgwm495- Xwmc238	dužina zrna	Sun et al., 2009
Xbarc164	nalivanje zrna, masa hiljadu zrna	
Xcfd14	nalivanje zrna, masa hiljadu zrna	Wang et al., 2009b
Xgwm495	masa zrna po klasu, sazrevanje	
Xwmc264	nalivanje zrna, broj zrna po klasu	
Xcfd14	visina stabljike, fotoperiod	Wang et al., 2009c
Xbarc243	broj klasića po klasu, broj zrna po klasu, masa hiljadu zrna	
Xbarc1047	dužina klasa, broj klasića po klasu, broj zrna po klasu	
Xwmc238	broj zrna po klasu, broj cvetova po klasu, masa hiljadu zrna	Wang et al.,2011
Xwmc24	broj klasića po klasu, broj sterilnih klasića po klasu, broj zrna po klasu	
Xbarc212	broj zrna po klasu	Yao et al., 2009
Xwmc177	broj klasića po klasu, masa hiljadu zrna	
Xgwm388	broj zrna po klasu	
Xwmc3	broj zrna po klasu	Yuan et al., 2012
Xwmc396	broj zrna po klasu	

Tabela 19. (nastavak)

Mikrosatelitski lokus	Osobina	Referenca
Xwmc264	visina stabljike	
Xwmc331	visina stabljike	Zhang et al., 2008
Xwmc396	visina stabljike	
Xbarc320	vreme klasanja	Zhang et al., 2009
Xwmc3	sadržaj proteina	Zhang et al., 2011b
Xwmc24	broj zrna po klasu	Zhang et al., 2012
Xwmc304	broj zrna po klasu, masa hiljadu zrna	
Xpsp3071	masa hiljadu zrna	Zhang et al., 2013
Xpsp3071-Xwmc553	meta QTL za dužinu zrna	
Xwmc238	prinos	Zheng et al., 2010

Tabela 20. Naziv i poreklo 282 analizirana genotipa pšenice, sa navedenom numeričkom oznakom, pripadnošću potpopulaciji prema *STRUCTURE* analizi i pedigreom; oznaka zemalja prema *ISO ALPHA-3 CODE*

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q1			
205	Cook	AUS	TIMGALEN/(SIB)CONDOR//CONDOR[760][1322];TIMGALEN/2*CONDOR[0]; ¹
198	Gala	AUS	LAWRENCE/GABO[56][39][1138]; ¹
126	Timson	AUS	LERMA-ROJO-64/SONORA-64-A//(SIB)TIMGALEN[39][69][113]; ¹
50	Transved 6B	AUS	FEDERATION*4/TRANSEC; ³
122	Triple Dirk B	AUS	WINTER-MINFLOR/n*TRIPLE-DIRK[1923]; WINTER-MINFLOR/3*TRIPLE-DIRK[000]; ²
7	Triple Dirk D	AUS	
57	Advokat 1B/1R	DEU	TASSILO/CARSTENS-V//TASSILO/WEIHENSTEPHANER-14-48(SCHWARZROSTREST.WEIHENSTEPHANER)/3/MARQUILLO//BREUSTEDT-1/WEIHENSTEPHANER-ROGGEN-WEIZEN-BASTARD[851];(DER)WEIHENSTEPHANER-14-48[2830]; ¹
45	VK64-28	HRV	
221	Acciaio	ITA	MARA,ITA//MARA,ITA/0.10[39]; ¹
48	Fiorello	ITA	COLOGNA-188/DAMIANO[55][39][974][1300][2289]; ¹
238	Fortunato	ITA	LAURO-BASSI/DAMIANO[307][39][1300][2289][2494]; ¹
239	Mara	ITA	AUTONOMIA-A/AQUILA-I[39]; AUTONOMIA/AQUILA[1656][2289]; ¹
271	Produttore	ITA	SALTO/SAITAMA 27//QUADERNA; ³
237	Akakomughi	JPN	LV-FUKUI[39][667]; ¹
216	B.125/78 (Beljci)	MDA	ODESKA 51/KR.KA//KAVKAZ; ³
214	BCD 1302/83	MDA	
210	Cajeme 71	MEX	CIANO-67(SIB)/3/SONORA-64/KLEIN-RENDIDOR//(SIB)SIETE-CERROS-66[39]; CIANO-67(SIB)//SONORA-64/KLEIN-RENDIDOR/3/II-8156[114][144][145]; ¹
176	Mex. 17bb	MEX	KENYA-54//NORIN-10/BREVOR/3/YAQUI-54[1322]; ¹
116	Vireo "S"	MEX	INIA-66(SIB)/OLESEN//INIA-66/BLUEBIRD/3/COCORAQUE-75[1281]; ¹
202	F 4 4511-3	ROM	
201	F 4 4511-6	ROM	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q1			
200	F 4 4687	ROM	
89	Fundulea 490	ROM	
270	Lovrin 24	ROM	LOVRIN-10/LOVRIN-62[851][1743][2834]; ¹
90	Saulesku#14	ROM	
62	Avrora	RUS	LUTESCENS-314-h-147/BEZOSTAYA-1[37][39][13][1351]; ¹
212	Bezostaya 1	RUS	(S)BEZOSTAYA-4[37][80][104][10][11]; ¹
243	Bezostaya Dwarf	RUS	
254	Dnestrovskaya 25	RUS	PPG-186/BEZOSTAYA-4/BEZOSTAYA-1[37][14][15][39][20][1448]; ¹
204	Donskaya Polukarlikovaya	RUS	RUSALKA/SEVERODONSKAYA[27][1132][1369]; ¹
252	Odeska 51	RUS	ODESSKAYA-16/BEZOSTAYA-1[14][13][15][37][410][584][1339]; ¹
253	Pavlovska 102	RUS	
251	Yubileinaya 50	RUS	MIRONOVSKA 808/BEZOSTAYA 1; ³
59	Jugoslavija	SRB	NS-646/BEZOSTAYA-1//AVRORA[133][851]; ²
188	L 1-91	SRB	BANIJA*2/OLIGOCULM 112; ³
187	L 1A/91	SRB	PURDUE 39120/3*ŽITNICA; ³
83	L 40/91	SRB	CANANEA/SUNDOWN; ³
186	L 74-92	SRB	NOVOSADSKA 6001/FORLANI//ŽITNICA; ³
267	L-156/89	SRB	OLIGOCULM 112/2*PANONIJA; ³
184	L-183/90	SRB	PAI YU PAO/SO 8123//ŽITNICA/3/NS 5897; ³
60	Ličanka	SRB	AVRORA/NS-845[133][3015]; ¹
102	Lira	SRB	SREMICA/BALKAN,YUG[2263][2835]; ¹
58	Mačvanka 2	SRB	CRVENA-ZVEZDA/KAVKAZ[133][113][667][1684]; ¹

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q1			
178	Mara-7	SRB	
170	Nova Banatka	SRB	BEZOSTAYA-4/ARGELATO//BEZOSTAYA-1 [133][39][40][2875]; ¹
87	Nova Jadranka	SRB	NS-2771/BALKAN,YUG[654]; ¹
105	Novosadska 6001	SRB	NS 2100/NS 722//BISERKA; ³
86	Novosadska 100	SRB	BACKA//R-37/GOHLS-121[133][2535]; ¹
169	NS 0.1079	SRB	NE 7060/NS 51-46//MAČVANKA 2; ³
168	NS 0.1080	SRB	NE 7060/NS 51-46//MAČVANKA 2; ³
167	NS 0.1082	SRB	NE 7060/BEZOSTAYA 1//MAČVANKA 2; ³
166	NS 0.1085	SRB	PURDUE 5517/2*ŽITNICA; ³
94	NS 0.1167	SRB	JARKA/SAD.B 224//ŽITNICA; ³
165	NS 0.58	SRB	
164	NS 0.683	SRB	ŽITNICA/NS 0.646; ³
163	NS 0.694	SRB	SREMICA/NSR-2; ³
162	NS 0.733	SRB	SUTJESKA/DUNAV//NS 55-25; ³
283	NS 1/94	SRB	CANANEA/YUGOSLAVIJA; ³
160	NS 13-93	SRB	NOVOSADSKA 6001/SO 4005; ³
159	NS 14-33	SRB	KRASNODARSKAYA/NS-310//NS-611[113]; ¹
158	NS 17/92	SRB	SOMBORKA/F 1502W 25-2; ³
95	NS 2/93	SRB	NOVOSADSKA 6001/BCD 1302.83; ³
156	NS 33/90	SRB	AObAKOMUGI/NS 14-33//UNA; ³
284	NS 36/91	SRB	RANA NISKA/UNA; ³
154	NS 55-25	SRB	NOVOSADSKA-CRVENA/PANONIJA[113]; ¹

Tabela 20 (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q1			
153	NS 559	SRB	S-15,ITA/ACCIAIO[113][2965]; ¹
96	NS 57/94	SRB	9D-27-262/POSAVKA 2; ³
100	NS 59/91	SRB	DUGA/SUTJESKA/NOVOSADSKA 6001; ³
151	NS 63-24	SRB	
150	NS 66/92	SRB	ZAGREPCANKA 1/NS 2949; ³
275	NS 7003	SRB	L 94/AU//M.YUBILEINAYA 50; ³
149	NS 74/95	SRB	12 ISN 6/VIKTORIJA; ³
1	NS 77/95	SRB	MEXICO 17/NS 69-02; ³
148	NS 79/90	SRB	NS 722/ŽITNICA; ³
241	NS 900	SRB	FORLANI/ACCIAIO[113]; ¹
61	NS Jara	SRB	AVRORA/NS- 845; ³
273	NS 12-87	SRB	KS-56-R-386/T-22//2*BEZOSTAYA 1; ³
274	NS 55-32	SRB	NS 14-33/PANONIJA; ³
225	Partizanka	SRB	BEZOSTAYA-1/NS-116[39][40][133][1684][2875]; ¹
226	Partizanka niska	SRB	NS-646/BEZOSTAYA-1//AVRORA/3/PARTIZANKA[40][133][851][40]; ¹
248	Pesma	SRB	NS-51-37/BALKAN,YUG[2263][2835]; ¹
145	PKB Krupna	SRB	AVRORA/CRVENA-ZVEZDA[133]; ¹
144	Pobeda	SRB	SREMICA/BALKAN,YUG[654][2835]; ¹
139	Rebensansa	SRB	JUGOSLAVIJA/NS-55-25[2263][2835]; ¹
134	Sava 2D	SRB	FORTUNATO*2/(CI-13170)REDCOAT[133][851][1684]; ¹
132	Slavija	SRB	NS-18-97/JUGOSLAVIJA[2835]; ¹
131	Sofija	SRB	PANONIJA*2/ZG-965-76[2653]; GKGRA-965/2*PANONIJA[1916][2835]; ¹

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q1			
249	Sreća	SRB	PANONIJA/SUNDOWN//ZITNICA[2657][2835]; ¹
256	Žitnica	SRB	NS-973/SAVA[133][113][654]; ¹
285	Mironovska 10	UKR	BEZOSTAYA-1/ERYTHROSPERMUM-2107 [73][1448][3019]; ¹
223	Mironovskaya 264	UKR	
171	Mironovskaya 808	UKR	BEZOSTAYA 4/ARTEMOVKA; ³
199	Florida 302	USA	COKER-65-20//PD-4946-A-4-18-2-10- 1/HADDEN/3/VOGEL/5/ANDERSON//PD-4946-A-4-18-2-10- 1/HADDEN[3243][3733]; ²
30	Fuzz	USA	ARTHUR(SIB)/3/ARTHUR-71//CI-9321/(SIB)ARTHUR- 71[391][39][208]; ¹
264	INTRO 509	USA	CMH 72.428/H 622.71/3/CMH 72 A.428/MORROCO/4/NAOFEN; ³
263	INTRO 7	USA	YUN 78-4; ³
246	Purdue Composite	USA	
119	UC 65680	USA	
114	WWMCB 2	USA	MAI-YANG-NO-11; ³
80	F 2975		
32	W 8998		
Potpopulacija Q2			
179	Magnif41	ARG	MAGNIF-G(LINEA-G)/SINVALOCHO-MA//SINVALOCHO- MA/MAGNIF-MG[38][145][1765]; ¹
222	Kenya Gala	AUS	SPRING-WHEAT/GABO//LERMA-50[2331]; ²
229	Condor	AUS	WW-80/2*WW-15[113][851]; ¹
281	Hilgendorf 61	AUS	HILGENDORF/INDIAN-VARIETY[39]; HILGENDORF//S- 1894/HILGENDORF[1348][2833]; ¹
189	Kite	AUS	NORIN-10/BREVOR(SEL.14)//4*EUREKA-2/3/T- A/3*FALCON/4/THATCHER/AG.EL(T- A)//4*FALCON/5/THATCHER/AG.EL(T- A)//5*FALCON[39][113][1322]; ¹
185	L-1	AUS	VILMORIN-27/THINOPYRUM-INTERMEDIUM-G-7[1281]; ¹

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q2			
174	Mexico 120	AUS	YAKTANA-52//NORIN-10/BREVOR[39]; YAKTANA-53//NORIN-10/BREVOR[USLOVNO]; ¹
99	Sun 25 I	AUS	
6	Triple Dirk A	AUS	SELKIRK/n*TRIPLE-DIRK[1923]; ²
4	Triple Dirk A Sence	AUS	
11	Triple Dirk C	AUS	
8	Triple Dirk E	AUS	LORO/n*TRIPLE-DIRK[1923]; LORO/3*TRIPLE-DIRK[000]; ²
121	Triple Dirk S	AUS	
138	Rusalka	BGR	S-13,ITA/BAN-54[39][1041]; ¹
3	Manitou Insence	CAN	
2	Manitou Sence	CAN	
183	Lambriego Inia	CHL	
219	Al-Kan-Tzao	CHN	
206	Ching-Chang 6	CHN	
147	Peking 11	CHN	
47	Red Bear 22	CHN	
42	Primepi	FRA	(S)SUPERHATIF[39][40][1790]; YEOMAN//BARBU-D-UKRAINE/BON-FERMIER[859]; ¹
49	Compair	GBR	CHINESE-SPRING/AE.CO[39][69]; ¹
195	Highbury	GBR	SONA-227//(306)SVENNO/JUFI-I[40][69][663][667][851][1343]; ¹
259	ZG 1008	HRV	SLAVENKA/NEBRASKA//S1/GRANATA*2; ³
113	ZG 1011	HRV	SLAVENKA/NEBRASKA//S1/GRANATA*2; ³
258	ZG 965	HRV	S-1/GRANATA[2653]; ¹
112	ZG 987/3	HRV	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Ppotpopulacija Q2			
111	ZG K 238/82	HRV	GRANATA/RANKA//ASTECA 70/3/2*R130; ³
260	ZG K 2A/82	HRV	B95/2*ACCIAIO//RANAJA/H303/3/GRANATA/RANAJA; ³
110	ZG K 3/82	HRV	(RANAJA/H 303-1)/GRANATA/RANAJA)/(B 95/ACCIAIO)/3/ACCIAIO/4/ZG 1008; ³
109	ZG K T 159/82	HRV	H 303/GRANATA//GRANATA/RANAJA; ³
261	ZGK 172/82	HRV	H 303/GRANATA//GRANATA/RANAJA; ³
262	ZGK 176/82	HRV	GRANATA/RANKA; ³
218	Ana	HRV	OSK-4.216-2-76/ZG-2877-74[2462]; ¹
215	Bankut 1205	HUN	BANKUTI-5/MARQUIS[39]; ²
269	Szegedi 5	HUN	
282	Szegedi 60	HUN	
128	Szegedi 768	HUN	
194	Hira	IND	E-5477/SONORA-64[39][543][793][1324]; ¹
130	Sonalika	IND	II-53-388/ANDES//(SIB)PITIC-62/3/LERMA-ROJO-64[39][114][144][543][659][881][1324]; ¹
118	UPI 301	IND	LERMA-ROJO-64/SONORA-64; ¹
257	Bolonjska	ITA	
46	Concordia	ITA	FUNO/PD-5752[851][1656]; ¹
276	Resistente	ITA	SALTO/GLUTINOSO[39][1322]; MARA//MOTTIN/NORIN-2[1066]; ¹
244	San Pastore	ITA	BALILLA/VILLA-GLORIA[307][37][39][1656][2289][1621]; ²
220	Ai-bian	JPN	TOM-THUMB/?[851]; ¹
230	Aobakomugi	JPN	NORIN-7/ARDITO[37][39][841][2822]; ²
136	Saitama 27	JPN	CALIFORNIA-1/SOJUKUAKAGE//HAYAKOMUGI[39][667][841]; ¹

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q2			
129	Suwon 92	KOR	SUWON-85/SUWON-13[851][879][2831]; ¹
277	Erect Raf E2	MEX	TEZANOS-PINTOS-PRECOZ/SONORA-64//NAPO/3/TOBARI-66/II-8156-R[114][144]; ¹
191	Inia 66	MEX	LERMA-ROJO-64/SONORA-64[39][953][145][114][144][1335]; ₁
175	Mex. 3	MEX	CMH 79 A-210/CMH 79-215; ³
137	Siete Cerros 66	MEX	PENJAMO-62(SIB)/GABO-55[39][955][114][144]; ¹
97	Rogosija	MNE	
98	Velja pšenica	MNE	
224	Stepnaya 30	RUS	ODESSKAYA-16/PPG-1126[37]; ¹
108	Zvezda	RUS	KHARKOVSKAYA-46(TR.DR)/AG.GL//MIRONOVSKAYA-808/LUTESCENS-329[1001][1369]; ¹
	L 39/91	SRB	CANANEA/SUNDOWN; ³
266	L-64/89	SRB	NS 58-97/GK GRA 992; ³
101	NS 0.307	SRB	ZG-2877-74/MIRONOVSKA 10; ³
157	NS 22/92	SRB	DUGA/SUTJESKA//NOVOSADSKA 6001; ³
268	NS 3/90	SRB	TALENT/NSR 2; ³
240	NS 322	SRB	S-13,ITA/AOBAKOMUGI[39][113]; ¹
242	NS 54-52	SRB	NS-732/CAJEME[113]; ¹
152	NS 602	SRB	S-13,ITA/AOBAKOMUGI[39]; ¹
272	NS 62-20	SRB	SIETE CERROS M ; ³
127	Tibet Dwarf	TIB	
21	Aburn	USA	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q2			
250	Adder	USA	ABE/3/REDCOAT//KNOX-62(SIB)/DULAR/4/KNOX//CENTENARIO/RIO-NEGRO/3/(SIB)RILEY/5/ABE/(SIB)CALDWELL[372][605][851]; ABE/3/REDCOAT//PD-551-G-3/DULAR/4/KNOX//CENTENARIO/RIO-NEGRO/3/PD-5210-B-9/5/ABE/PD-65256-A-1[1318]; ¹
51	Amigo	USA	OK-66-C-3190/6/GAUCHO(M)/4/TASCOSA/3/WICHITA//WICHITA(M)/TEEWON/5/2*TEEWON[1401]; ¹
28	Arthur	USA	MINHARDI/WABASH/5/FULTZ(S)/HUNGARIAN//W-38/3/WABASH/4/FAIRFIELD/6/PD-4548/WISCONSIN-245/7/PD-427-A-1-1-3*3/KENYA-FARMER[941][1318]; ¹
245	Auburn	USA	SIETE-CERROS-66/ARTHUR//PD-6850/6/AFGHANISTAN(S)/PD-5374/4/KNOX*2//FRONTANA/EXCHANGE/3/(SIB)RILEY/5/ARTHUR*5//ARTHUR(SIB)/AGATHA/3/PD-6729[334][1318]; ¹
35	Barb	USA	DOWNY/3/CALDWELL/(SIB)OASIS//FUZZ/4/DOWNY/ELMO[356][851][598]; DOWNY/3/CALDWELL/(SIB)OASIS//FUZZ/A-4-A/DOWNY/ELMO[1322]; ¹
13	Bean	USA	
22	Bennett	USA	SCOUT/3/QUIVIRA/TENMARQ//MARQUILLO/ORO/4/HOMESTEAD[488][851]; BUCKSKIN(SIB)/HOMESTEAD[155]; ¹
213	Benni multifloret	USA	BENHUR(SIB)/FORLANI; ³
37	Burr	USA	ARTHUR-71/6/ARTHUR*5/AGATHA/5/BEAU/4/ARTHUR*2/3/RILEY-67*2//RILEY/BULGARIAN-88/7/CI-9321/BEAU/4/ARTHUR//CI-8529/ARTHUR/3/ARTHUR-71/8/DOWNY/9/ELMO[356][598]; ¹
247	Caldwell	USA	PD-5724-B-3-5-P-8-2*2/SIETE-CERROS-66[186][341][683]; ¹
207	Centurk	USA	KENYA-58//NEWTATCH/3/HOPE/2*TURKEY/4/CHEYENNE/5/PARKER[273][161][39][867][2331]; ¹
39	CI 9321	USA	
38	Combo	USA	ARTHUR-71/6/ARTHUR*5/AGATHA/5/BEAU/4/ARTHUR*2/3/RILEY-67*2//RILEY/BULGARIAN-88/7/CI-9321/BEAU/4/ARTHUR//CI-8529/ARTHUR/3/ARTHUR-71/8/DOWNY/9/ELMO[356][598]; ¹
14	Downy	USA	ABE(SIB)/3/ARTHUR-71(SIB)//CI-9321/(SIB)BEAU[479][851]; ARTHUR-71(SIB)//CI-9321/(SIB)BEAU[1322]; ¹
36	Eider	USA	DOWNY/3/CALDWELL/(SIB)OASIS//FUZZ/4/DOWNY/ELMO[356][598]; ¹
255	Elkhorn	USA	NORSTAR/4/CENTURK//WINOKA/ULYANOVKA/3/SD-76694[1506][2317]; ¹
27	Fillmore	USA	PD-5724-B3-5P-8-2*2/SIETE-CERROS-66[278][596][851] ¹
24	Frankenmuth	USA	NORIN-10/BREVOR(SELECTION-14)//YORKWIN/3/2*GENESEE(A-3141)/4/(A-5115)GENESEE*3/REDCOAT[374][1318]; ¹
15	Hart	USA	ETOILE-DE-CHOISY//THORNE/CLARKAN/3/PAWNEE/(CI-12454)PD-3848-A-5-5-1-26[39]180][645][208][2331]; ¹
197	Hays 2	USA	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q2			
196	Helios	USA	STAMM-SR/STAMM-GB//TR.SE(179-57)/3/WEIHENSTEPHANER-85-58[851][1531]; ¹
193	Holly E	USA	
192	Hope	USA	YAROSLAV-EMMER/MARQUIS[47][1102][1111]; VERNAL-EMMER(TR.DN)/MARQUIS[39]; ¹
106	INTRO 1079	USA	
265	INTRO 29	USA	
190	INTRO 615	USA	
26	Kharkof	USA	LV-UKR,STAROBELSK[1110]; ¹
31	Knox 62	USA	KNOX*5//PD-4781-A-7-26-2/PD-4126-A-9-16-1-1-3[425][1112][1318]; ¹
18	Lerned	USA	
40	Lot 2	USA	NEBRASKA-RESTORER[39]; R-LINE-LOT-2-RESTORER-OF-FERTILITY-MALE[113]; ¹
41	Lot 2/67	USA	
182	Lr 2	USA	
181	Lr 21	USA	
12	ND.970	USA	
107	NE 11	USA	
19	Newton	USA	PITIC-62//II-53-526//2*SONORA-64/3/KLEIN-RENDIDOR/4/SCOUT[851][155][2856]; PITIC-62//II-53-526/SONORA-64/3/SONORA-64/KLEIN-RENDIDOR/4/SCOUT[434]; ¹
25	Oasis	USA	ARTHUR-71/5/PD-6559*2/4/ARTHUR*2/3/RILEY-67*2//RILEY/BULGARIA-88[871][2331]; ¹
23	Parker	USA	QUIVIRA/3/KANRED/HARD-FEDERATION//PRELUDE/KANRED/4/KAWVALE/MARQUILLO//KAWVALE/TENMAR Q[273][562][39][946][2331]; ¹
146	Phoenix	USA	WW-15*2/WW-80[279][593][851][1318]; ¹
16	Pike	USA	SAVA/STODDARD/3/SUWON-92/BURT//STODDARD[69][481];MO-8161//BISERKA/STODDARD[1318][1322]; WA-4303/STODDARD//SAVA/STODDARD[186];W-8161/STODDARD//SAVA/STODDARD[173]; ¹
142	Purdue 39120	USA	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q2			
141	Purdue 5392	USA	
279	Purdue 6413	USA	
143	Purdue(2)/Loras	USA	SONORA 64/CIANO "S"/INIA 66; ³
140	Red coat	USA	SURPRESA(PI-103833)/(CI-11845)FULTZ//PD-4126-A-9-32-2-2[426][1318][1322]; ²
20	Ruler	USA	PD-L-494-A-1-8-5-5/LUCAS[39][69][764][1318][2331]; ¹
280	Stephens	USA	NORD-DESPREZ/(CI-13438)PULLMAN-101 [447][154][2331]; ¹
120	<i>Triticum sphaerococcum</i>	USA	
278	UC 67052	USA	
117	Vel	USA	ARTHUR(SIB)/CI-9321[391][851][1322]; ARTHUR(SIB)/CI-9341[39]; ¹
29	Vona	USA	II-21183/3/CO-652363/LANCER/KS-62136[273][432][3171]; ¹
85	A dw 20/6/Ciano3-6		
34	Fugy		
81	Novka		
123	<i>Tr.compactum</i> var. Humboldt		
74	W 238		
33	W 9785		
88	Z 22-56		
Potpopulacija Q3			
173	Minister Dwarf	AUS	MINISTER//TR.SP/TOM-POUCE[39][2770]; ¹
10	Triple Dirk	AUS	URUGUAY-1084/3*YANDE//YANDE/DIRK/3/KENYA-C-6041//YANDE/DIRK[2331]; URUGUAY-1084/NX-DIRK-48[39]; ¹
9	Triple Dirk F	AUS	
5	Triple Dirk Insence	AUS	

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q3			
73	Olaf/4/042/Wheat Rye	BGR	
53	Amandus 1B/1R	DEU	CARIBO/PERSEUS[851][1531]; ¹
56	Dozent 1B/1R	DEU	CARIBO/PERSEUS[851][1531]; ¹
55	Goetz 1B/1R	DEU	JUBILAR*2/TENOR/BENNO[1531]; ²
54	Juwel 1B/1R	DEU	
227	Bersee 0	FRA	
228	Bersee 1	FRA	
236	Bersee 3	FRA	
208	Cappelle Desprez	FRA	HYBRIDE DE JONCQUOIS *VILMORIN-27); ⁴
203	Durin	FRA	(CAPPELLE DESPREZ*(VILMORIN-29*VG8058))*TJB 16); ⁴
43	Palmaress	FRA	CAPPELLE//TADEPI/HEINES-VII[39][1790]; ¹
91	Recital	FRA	MEXIQUE-267(R-267)/9369[1642][2770]; 9369/R-267[757][1790][2770]; ¹
92	Soisson	FRA	IENA(JENA)/(HYBRIDE-NATUREL)HN-35[1346][1413][1665][1764][1790][2845]; ¹
217	Avalon	GBR	MARIS-PLOUGHMAN/BILBO[146][415][1070]; TJB-30-148/BILBO[40][851][750][759][1257][1893]; ¹
232	Bounty	GBR	TJB-30-148/TL-365-A-25[40][69][851][1346]; MARIS-PLOUGHMAN/MARIS-DURIN[415][851][2957]; ¹
211	Brigand	GBR	MARIS-HUNTSMAN/MARIS-BILBO[146][415][69][759][851]; ²
231	Hobbit S	GBR	PROFESSEUR-MARCHAL//MARNE-DESPREZ/VG-9144/4/CI-12633/4*CAPPELLE-DESPREZ//HEINES-110/CAPPELLE-DESPREZ/3/NORD-DESPREZ[415]; ¹
180	Maris Hobbit	GBR	PROFESSEUR-MARCHAL//MARNE-DESPREZ/VG-9144/3/TJB-16[39][40][221][415][1343]; ²
235	Norman	GBR	TJB-268-175/(SIB)HOBBIT[40][146][221][415][750][759][851][1070][1257]; ¹
233	Sentry	GBR	MARIS-PLOUGHMAN/(SIB)HOBBIT[69][221][851][1343]; ¹
125	TJB 990-15	GBR	TJB-268-175-3-2/TL-363-6-1-10[4070]; ²
234	Wizard	GBR	HOBBIT(SIB)*2/MARIS-FREEMAN[851][2530]; MARIS-FREEMAN/TL-363-30-5[69][113]; ¹

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q3			
79	Lachish	ISR	YAKTANA-54//((SEL.21-1-C)NORIN-10/BREVOR(N.66)/3/FLORENCE/AUORE[39][1728][2813][3112]; ²
209	Cap./Mara 5BS-7BS	ITA	
63	Kavkaz 1B/1R	RUS	LUTESCENS-314-h-147/BEZOSTAYA-1[37][14][13][1351]; ¹
172	Mina	SRB	MV-8/SREMICA[2657][2835]; ¹
93	NS 0.32	SRB	NS 19-87/JUGOSLAVIJA; ³
103	NS 102/92	SRB	ROAZON/EVROPA//EVROPA 90; ³
161	NS 1-93	SRB	DWARF A/2*ŽITNICA; ³
44	NS 34	SRB	CAMPODORO/HEINES VII; ³
155	NS 46/90	SRB	VRACA/UNA; ³
104	NS 56/93	SRB	EVROPA 2*/NS 3468; ³
77	FA 12-112	USA	ND-527//WALDRON/NS-526/3/ERA[1322]; ²
52	Merkur	USA	CARIBO/WEIHENSTEPHANER-488[851]; STAMM-488/CARIBO [1531]; ¹
133	Semilia Eligulata	USA	
124	Tom Thumb	USA	(S)LV-TIBET[39][2535]; ¹
78	CMA 14793	ZAF	ARTHUR-TYPE,FLORENCE/TRANSFER/BULGARIA-88; ¹
85	A dw 20/5/Ciano 5-8		
75	W 241		
76	W 244		
64	W 49		
65	W 50		
66	W 51		

Tabela 20. (nastavak)

Oznaka	Naziv	Poreklo	Pedigre
Potpopulacija Q3			
67	W 52		
70	W 53 bb		
69	W 53 bb/86		
68	W 53 bg/86		
71	W 54		
72	W 55		
115	W 56		

¹ - <http://genbank.vurv.cz/wheat/pedigree/pedigree.asp>

² - <http://wheatpedigree.net/>

³ – interno dostupni podaci

⁴ - <https://www.jic.ac.uk/germplasm/docs/Wheat%20Pedigree%20data.xlsx>

BIOGRAFIJA

Dragana (Nikola) Trkulja (rođ. Kačavenda) rođena je 05. oktobra 1979. godine u Novom Sadu. Osnovnu školu „Veljko Petrović“ završila je u Begeču, a gimnaziju opšteg smera „Svetozar Marković“ u Novom Sadu.

Osnovne studije na Prirodno-matematičkom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, Departmana za biologiju i ekologiju, smer Diplomirani biolog, završila je 2004. godine, sa prosečnom ocenom 9,66 i ocenom završnog ispita 10. Diplomski rad pod naslovom: „Korelacija tehnoloških pokazatelja kvaliteta hleba i *Glu-1* kvalitetne vrednosti sorti pšenice“, odbranila je na Katedri za genetiku.

Po završetku osnovnih studija upisuje se na magistarske studije na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, smer Genetika i oplemenjivanje biljaka. Magistarsku tezu pod naslovom „Evaluacija varijabilnosti mapirajuće populacije Savana/Renesansa primenom molekularnih markera - mikrosatelita kod pšenice“, odbranila je 2010. godine. Prosečna ocena tokom magistarskih studija iznosila je 9,71.

Od februara 2005. do februara 2007. godine bila je stipendista Ministarstva nauke i zaštite životne sredine, Republike Srbije.

Od 12. februara 2007. godine zaposlena je u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, najpre na Odeljenju za strna žita, a od 01. aprila 2012. godine na Odeljenju za biotehnologiju.

Do sada je učestvovala na pet domaćih i pet međunarodnih projekata, a kao autor i koautor objavila je ukupno pedeset i pet naučnih radova.

U okviru učešća na međunarodnom projektu iz programa *FP7 ADAPTA WHEAT*, bila je na dvonedeljnoj specijalizaciji u *John Innes Centre, Norwich*, Velika Britanija, u novembru 2014. godine.

Govori engleski jezik i služi se osnovama ruskog jezika.

Udata, majka dva dečaka.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Драгана Тркуља

Број индекса или пријаве докторске дисертације 020-4563/13-10

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Асоцијативна анализа везе агрономских особина и ССР локуса пшенице

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 20.02.2015.

Драгана Тркуља

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора Драгана Тркуља
Број индекса или пријаве докторске дисертације 020-4563/13-10
Студијски програм Пољопривредне науке – ратарство и повртарство
Наслов докторске дисертације Асоцијативна анализа везе агрономских особина и ССР локуса пшенице
Ментор проф. др Гордана Шурлан-Момировић

Потписани/а Драгана Тркуља

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**. Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 20.02.2015.

Драгана Тркуља

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под

насловом:

Асоцијативна анализа везе агрономских особина и ССР локуса пшенице

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

Потпис докторанда

У Београду, 20.02.2015.

Bragosa Trkace

1. Ауторство - Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делили под истим условима. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делили под истим условима. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.