

MOLEKULARNI MARKERI U OPLEMENJIVANJU KUKURUZA

TRESKIĆ SANJA, IVANOVIĆ, M.¹, KOBILJSKI, B. KONDIĆ-ŠPIKA
ANKICA, BRBAKLIĆ LJILJANA, TRKULJA DRAGANA,
STANISAVLJEVIĆ D., MITROVIĆ B.

IZVOD: Iako se danas u svetu marker asistirana selekcija (MAS) rutinski primenjuje u oplemenjivačkim programima velikih privatnih kompanija, rad na implementaciji molekularnih markera za komercijalne potrebe u manjim kompanijama i u javnom sektoru je značajno manjeg obima. Brojni radovi o mapiranju lokusa za kvantitativna svojstva, teorijske analize i simulacioni modeli o mogućnostima MAS, daju podsticaj novim istraživanjima na polju validacije otkrivenih QTL-ova (Quantitative Trait Loci), kao i praktične primene molekularnih markera u oplemenjivanju kukuruza. U radu su objašnjeni osnovni pojmovi koji se odnose na MAS, principe QTL mapiranja i utvrđivanja veze marker-svojstvo, predstavljene su mogućnosti i primeri uspešne primene markera u selekciji na kvalitativne i kvantitativne osobine.

Ključne reči: DNK markeri, Zea mays L., marker asistirana selekcija, lokusi za kvantitativna svojstva, oplemenjivanje kukuruza

Molekularni markeri i QTL mapiranje

Molekularni (DNK) markeri su sekvence DNK unutar ili u blizini nekog gena ili lokusa za kvantitativna svojstva. Samo alelne varijacije markera koje su eksperimentalnom, statističkom analizom dovedene u vezu sa fenotipskom varijabilnošću osobine kontrolisane tim genom, odnosno QTL-om imaju značaj za oplemenjivače.

Postoji veliki broj različitih vrsta markera koji se mogu klasifikovati u zavisnosti od vrste DNK polimorfizma koju detektuju (tačkaste mutacije, insercije, delecije, inverzije), metode detekcije (hibridizacijom, elektroforezom), tipa nasleđivanja (dominantno, kodominantno), lokalizacije u ćeliji (nuklearni, mitohondrijalni, hloroplastični) i tehničkih zahteva (npr. mikročipovi). Vrste molekularnih markera, njihove specifičnosti i međusobne razlike detaljnije su

Pregledni rad (Review paper)

¹ Dipl.inž. SANJA TRESKIĆ, istaživač saradnik, dr MILE IVANOVIĆ, naučni savetnik, mile.ivanovic@ifvcns.ns.ac.rs, dr BORISLAV KOBILJSKI naučni savetnik, dr ANKICA KONDIĆ-ŠPIKA, viši naučni saradnik, , dipl.biolog-master LJILJANA BRBAKLIĆ, istaživač saradnik, mr DRAGANA TRKULJA, istaživač saradnik, dipl.inž. DUŠAN STANISAVLJEVIĆ, istaživač saradnik, dipl.inž. BOJAN MITROVIĆ, istaživač pripravnika, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

opisane u radovima Agarwal et al. (2008) i Kesawat and Kumar (2009).

Marker asistirana selekcija je poslednja faza procesa koji obuhvata pronalaženje izvora poželjnih alela, detekciju polimorfnih markera analizom genoma, utvrđivanje korelacije između varijacije alela markera i osobine od interesa, određivanje efekta QTL-ova, (udela varijanse pod uticajem QTL-a u ukupnoj fenotipskoj varijansi osobine), identifikacija QTL-ova sa najvećim efektom i provera njihove stabilnosti u više sredina i u različitom genetičkom materijalu i njihova primena u oplemenjivanju.

Postupak koji prethodi marker asistiranom selekciji je QTL mapiranje, koje podrazumeva detekciju kvantitativnih lokusa, određivanje njihovih položaja na genetičkoj mapi i efekta. QTL mapiranje se bazira na pretpostavci da marker koji se nalazi blizu gena (<1cM), sa velikom pouzdanošću predstavlja taj gena, zbog male verovatnoće rekombinacije. Mapiranje obuhvata stvaranje, fenotipsku ocenu i genetičku analizu eksperimentalne populacije (F2 populacije, F3 familije, generacije povratnih ukrštanja, dihaploidne populacije, rekombinantne inbred linije), grupisanje genotipova sa istim alelima, testiranje značajnosti razlika vrednosti fenotipskih sredina za datu osobinu između grupa genotipova određenim softverskim programom i utvrđivanje asocijacija između QTL-ova i osobina. Postoje i druge alternativne metode za pronalaženje QTL-ova kao što su komparativno mapiranje, zasnovano na kolinearnosti genoma srodnih vrsta (Gale and Devos, 1998) i asocijativno mapiranje koje koristi populaciju od

velikog broja divergentnih inbred linija različite genetičke osnove u cilju identifikacije većeg broja alela i postizanja veće rezoluciju (Neumann et al., 2010).

Podaci o položaju i efektu QTL-ova se često razlikuju u različitom genetičkom materijalu i u različitim sredinama, čak i kada se za mapiranje koristi ista populacija (Kobiljski et al., 2009). Razlozi za nestabilnost QTL-ova mogu biti: interakcija genotip i spoljna sredina, epistatični odnosi između QTL-ova, velika greška varijanse u nekoj sredini koja otežava detekciju QTL-ova i različiti "rekombinacioni obrasci" u okolini ciljnog gena. Važan preduslov za precizno QTL mapiranje je raspolaganje pouzdanim fenotipskim podacima dobijenim ocenom dovoljno velike populacije genotipova. Usled nepreciznog mapiranja česte su lažno pozitivne asocijacije i detekcija "nepostojećih" QTL-ova. Mapiranje malih populacija sa nedovoljnim brojem markera dovodi do identifikacije manjeg broja QTL-ova sa precenjenim efektima i malom rezolucijom asocijacija između markera i osobina (Salvi and Tuberosa, 2005). Problem malih populacija može se donekle rešiti povećanjem broja ponavljanja u ogledu i smanjenjem varijanse sredine, s obzirom da moć mapiranja zavisi od veličine mapirajuće populacije i heritabilnosti svojstva. Dudley (1993) navodi da je MAS efikasnija u odnosu na fenotipsku selekciju ako se markeri identifikuju i biraju za selekciju u sredinama gde je heritabilnost velika, a primenjuju tamo gde je heritabilnost mala. Mapirane QTL-ove i njihove efekte je potrebno proveriti u više sredina i različitim genetičkom

materijalu (Brbaklić i sar., 2010; Trkulja i sar., 2011), u roditeljskim linijama, oplemenjivačkoj populaciji i individuama sa ekstremnim fenotipskim vrednostima u cilju njihove potvrde.

Ukoliko se utvrdi gubitak veze marker-svojstvo, nove veze sa drugim markerima u istom identifikovanom regionu QTL-a mogu se naći finim mapiranjem koje podrazumeva stvaranje nove populacije pomoću dve NIL linije (Near Isogenic Lines – linije koje se razlikuju samo u jednom DNK segmentu koji nosi gen ili QTL), ponavljajući mapiranje, fenotipsku ocenu i genotipizaciju sa markerima na segmentu hromozoma gde je QTL detektovan (Szalma et al., 2007).

Prednosti i nedostaci markera u oplemenjivanju

Za osobine čija je ekspresija pod velikim uticajem spoljne sredine ili je karakteristična za određene fenofaze biljke, čije je merenje skupo ili vremenski zahtevno, marker asisitirana selekcija ima prednost nad klasičnom fenotipskom selekcijom, pod pretpostavkom da su za markere unapred potvrđene veze sa osobinama od interesa na različitom genetičkom materijalu i sredinama. Marker asisitirana selekcija omogućuje ocenu velikog broja biljaka na više osobina, pre reproduktivne faze i selekciju biljaka na osnovu podataka dobijenih DNK analizom. Raniji odabir biljaka značajan je naročito kod osobina koje se fenotipski ocenjuju u fiziološkoj zrelosti (npr. prinos, kvalitet, otpornost na sušu). Takođe, upotrebom markera, proces povratnih ukrštanja, transfer i praćenje prenošenje alela iz

genoma donora u rekurentni genotip, značajno je ubrzano i olakšano. MAS omogućuje veći intenzitet selekcije kod osobina čija je ocena skupa ili komplikovana, selekciju u svim generacijama, skraćivanje i smanjenje broja ciklusa. Markeri su neutralni entiteti, ne zavise od faktora spoljne sredine i ne utiču na fenotip. Selekcija pomoću markera je usmerena na odabir genotipova biljaka, a ne fenotipova što povećava efikasnost selekcije.

Nedovoljno velika preciznost fenotipske ocene, mali broj markera za genetičku analizu, mala mapirajuća populacija sa nedovoljnim brojem rekombinacija, uticaj spoljne sredine na fenotipsku ekspresiju osobine utiču na otkrivanje QTL-ova. Takođe, informacije o QTL-ovima iz jedne biparentalne populacije ne mogu biti poređene sa informacijama iz druge zbog različitih alelnih formi i nisu informativni u drugim nesrodnim populacijama bez prethodne potvrde ili finog mapiranja (Kobiljski et al. 2007). Primena MAS zahteva interdisciplinarni pristup, integraciju istraživačkih disciplina i aktivnosti, znanje o organizaciji i funkciji genoma, statističkoj analizi, biologiji biljne vrste, laboratorijskim i oplemenjivačkim metodama na polju. Integracija markera u oplemenjivačke programe zahteva početna ulaganja u angažovanje i obuku stručnog kadra, investiranje u opremu i hemikalije. Isplativost MAS zavisi od mogućnosti rutinske automatizovane analize velikog broja uzoraka (“high throughput genotyping”) i dostupnost informacija o markerima za agromonski važna svojstva.

Primena markera u oplemenjivanju kukuruza

Utvrđivanje polimorfnih regiona DNK i eksploatacija te polimorfnosti pomoću molekularnih markera ima primenu u karakterizaciji genetičke varijabilnosti, skriningu selekcionog materijala, donošenju odluke o izboru roditelja za stvaranje hibrida ili poboljšanih populacija, svrstavanju linija u heterotične grupe, fingerprinting-u, povećanju efikasnosti rekurentne selekcije, unošenju poželjnih gena povratnim ukršanjima, selekciji u ranijim generacijama razdvajanja, selekciji na više osobina i pronalaženju retkih alela u kolekcijama germplazme.

Princip oplemenjivanja se bazira na ukrštanju najboljih roditelja, identifikaciji najboljih potomaka i izdvajanju potomstva koje je nadmašilo roditelje. Na efikasnost oplemenjivanja utiču stepen fenotipske varijabilnosti u početnoj populaciji, heritabilnost, intenzitet selekcije i vreme koje je potrebno da se završi jedan ciklus selekcije. Za poređenje efikasnosti metode selekcije i oplemenjivačke strategije korisiti se genetička dobit koja zavisi od heritabilnosti, intenziteta selekcije i fenotipske varijanse. Fenotipska varijabilnost je u pozitivnoj korelaciji sa genetičkom varijabilnošću, ali zavisi od faktora sredine i interakcije genotip-sredina (Babić et al., 2010; Hristov et al., 2011). Početna genetska varijabilnost za selekciju dobija se stvaranjem prirodne ili sintetičke populacije (Vasić et al., 2001; Vasić et al., 2003) iz generacija razdvajanja potomstva iz ukrštanja elitnih linija (Stojaković et al., 2007, Stojaković et al., 2010), egzotičnog materijala

(Vasić et al., 2006; Nastasić et al., 2011), interspecijes ukrštanja, prirodne ili indukovane mutacije ili kombinacija ovih izvora. Takva genetska varijabilnost služi za stvaranje poboljšane populacije za dalju selekciju, koja nosi poželjne alele i povećava verovatnoću dobijanja elitnih genotipova.

Marker asistirano povratno ukrštanje

Najveći napredak u molekularnom oplemenjivanju je postignut metodom povratnih ukrštanja kod osobina koje su kontrolisane jednim genom i fenotipski su jasno definisane u grupe. Monogene osobine kod kukuruza, kao što su citoplazmatična muška sterilnost, otpornost prema nekim bolestima i insektima, su mnogo ređe od poligenih. Kvalitativne osobine naročito su značajne kod kukuruza za specijalne namene (šećerac, kukuruz sa visokim sadržajem proteina, amilaze). Klasični način unošenja gena povratnim ukršanjima podrazumeva prenošenje poželjnog gena iz genotipa donora u germplazmu rekurentnog roditelja, najčešće elitnog materijala, u kojoj taj gen nije prisutan. Upotreba markera koji su u blizini gena ili QTL-a omogućuje bržu i jednostavniju proveru prisustva gena u potomstvu i odabir poželjnih individua, smanjenje segmenta genoma donora sa nepoželjnim alelima ("linkage drag") i proveru integriteta ostalih delova genoma rekurentnog roditelja sa većim brojem ravnomerno raspoređenih markera. Fingerprinting rekurentnog roditelja olakšava proces selekcije potomaka sa genotipom rekurentnog roditelja i čini ovaj metod efikasnijim i bržim. Prema Tanksley et al. (1989), 90% rekuren-

Tabela 1. Primeri MAS u oplemenjivanju kukuruza

Table 1. Examples of MAS in maize breeding

Osobina/Trait	Marker	Literatura/Reference
Kvalitet, proteinski sastav <i>Quality, protein content</i>	SSR	Yan et al. (2010): Rare genetic variation at <i>Zea mays crtRB1</i> increases β -carotene in maize grain. <i>Nat Genet.</i> 42: 322-327 Danson et al. (2006): Marker assisted introgression of opaque2 gene into herbicide resistant elite maize inbred lines. <i>Afr J Biotechnol</i> 5: 2417-2422 Babu et al. (2005): Two-generation marker-aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize. <i>Theor Appl Genet</i> 111: 888-897
Otpornost na sušu <i>Drought tolerance</i>	RFLP SSR	Ribaut and Ragot (2007): Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. <i>J Exp Bot</i> 58: 351-360 Ribaut et al. (2002): Use of molecular markers in plant breeding: drought tolerance improvement in tropical maize. in <i>Quantitative Genetics, Genomics, and Plant Breeding</i> , M. S. Kang, Ed., 85-99, CABI Publ
Otpornost na poleganje, kukuruzni plamenac <i>Stalk strength, corn borer tolerance</i>	RFLP	Flint-Garcia et al. (2003): Phenotypic versus marker-assisted selection for stalk strength and second-generation European corn borer resistance in maize. <i>Theor Appl Genet</i> 107: 1331-1336
Prinos <i>Yield</i>	SSR	Ho et al. (2002): Improvement of hybrid yield by advanced backcross QTL analysis in elite maize. <i>Theor Appl Genet</i> 105: 440-448
Prinos, ranostasnost <i>Yield, earliness</i>	RFLP	Bouchez, et al. (2002): Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. <i>Genetics</i> 162: 1945-1959
Gen za obnavljanje fertilitosti <i>Fertility restorer gene</i>	SSR	Xia and Zheng (2002): Molecular marker-assisted backcross breeding of maize Rf3 NIL and its efficient analysis. <i>Acta Agronomic Sinica</i> 28: 339-344
Prinos, otpornost na poleganje <i>Yield, lodging resistance</i>	RFLP	Eathington, et al. (1997): Usefulness of marker-QTL associations in early generation selection. <i>Crop Sci</i> 37: 1686-1693
Nicanje <i>Seedling emergency</i>	RFLP	Yousef and Juvik (2002): Enhancement of seedling emergence in sweet corn by marker-assisted backcrossing of beneficial QTL. <i>Crop Sci</i> 42: 96-104
Prinos, broj klipova visina biljke <i>Yield, ear number, plant height</i>	RFLP	Stuber et al. (1999): Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential. <i>Crop Sci</i> 39: 1571-1583 Stuber (1995): Mapping and manipulating quantitative traits in maize. <i>Trends Genet</i> 11: 477-481

tnog roditelja se može “povratiti” u toku dve generacije sa dovoljno velikim brojem markera raspoređenih na svakih 10cM genoma i adekvatnom veličinom potomstva u generacijama povratnog ukrštanja. Rezultati nekoliko istraživanja ukazuju da je moguće sa relativno malim brojem markera zadržati 95% genoma rekurentnog roditelja u tri ili manje povratnih ukrštanja (Ho et al., 2002; Servin and Hospital, 2002). Marker asistirano povratno ukrštanje (MABC) uspešno se može koristiti i za poboljšanje kvantitativnih osobina. Ribaut and Ragot (2007) su uspeli da povratnim ukrštanjem prenesu pet hromozomskih segmenata iz linije otporne na sušu u osetljivu elitnu liniju. Nakon četiri generacije marker asistiranog povratnog ukrštanja dobijeni su genotipovi sa 86% genoma rekurentnog roditelja. U prva dva ciklusa su korišćena tri odnosno pet markera, a u poslednja dva ciklusa 60 markera. Dobijeni genotipovi ukršteni su sa dva testera i njihovi hibridi, kao i kontrolni hibridi (osetljivi roditelj x testeri), ocenjeni su u ogleđima pod različitim uslovima vodnog deficita. Značajne razlike utvrđene su između pet najprinosnijih hibrida dobijenih MABC i kontrolnih hibrida. Primeri uspešne primene MAS u istraživanjima otpornosti na sušu, ranostasnosti, rezistentnosti prema insektima i drugim važnim agronomskim osobinama prikazani su u Tabeli 1.

Iako se metoda marker asistiranih povratnih ukrštanja može koristiti i za poboljšanje kvantitativnih osobina, ipak ona nije pogodna metoda za selekciju kompleksnih kvantitativnih svojstava pod uticajem velikih broja QTL-ova sa malim efektom (minor

QTL-ova), kao što je prinos. Kvantitativne osobine su najvažnija svojstva sa agronomskog i oplemenjivačkog aspekta i najčešće su određene manjim brojem QTL sa velikim pojedinačnim efektom (major QTL) i većim brojem minor QTL (Kearsey and Farquhar, 1998).

Pyramiding i marker asistirana pedigree selekcija

Ugrađivanje većeg broja gena iz više roditeljskih genotipova u jedan elitni genotip (“pyramiding”) često se koristi za poboljšanje kvaliteta ili ugradnju otpornosti na biotičke faktore stresa. Transfer gena pomoću MAS iz dve ili više linija koje sadrže komplementarne poželjne alele postiže se povratnim ukrštanjem ili sukcesivnim ukrštanjima linija. Izaзов je identifikovati one kombinacije gena koje doprinose značajnom poboljšanju kvantitativne osobine. Marker asistiranom pedigree metodom, kombinacije poželjnih alela se postižu rekombinacijama među superiornim roditeljima. Odabir genotipova iz potomstava se zasniva na prisustvu poželjnih alela u ciljnim QTL-ovima. Ovi QTL-ovi služe kao pokazatelji superiornih karakteristika genotipova u ukrštanjima sa testerima u kasnijim fazama selekcije.

Istraživanja o mogućnosti praktične primene pozitivnih korelacija heterozisa za prinos i genetičke udaljenosti između inbred linija pomoću RFLP (Dudley, 1993) i SSR markera (Dričić-Mladenović et al., 2002) pokazala su da ove korelacije nisu dovoljno velike za predviđanje prinosa.

Marker asistirana rekurentna selekcija

U procesu rekurentne selekcije, poboljšanje populacije se postiže

prekidanjem nepoželjnih asocijacija između vezanih gena putem rekombinacije gena, selekcijom i akumulacijom poželjnih alela u generacijama potomstava, pri čemu molekularni markeri olakšavaju odabir individua za formiranje novog ciklusa i povećavaju frekvenciju poželjnih alela u populaciji na većem broju lokusa. Uključivanjem informacija o markerima za QTL-ove sa velikim efektima u selekzione indekse, moguća je selekcija genotipova na osnovu predviđanja njihovih učinaka. Eathington et al. (2007) su koristeći indekse za više osobina i marker asistiranu selekciju na skoro 250 jedinstvenih oplemenjivačkih populacija utvrdili da se upotrebom markera povećala oplemenjivačka efikasnost oko dva puta u odnosu na fenotipsku selekciju. Primenom marker asistirane rekurentne selekcije, Edwards and Johnson (1994) su uspeli da povećaju frekvenciju poželjnih alela kukuruza šećerca u dve F₂ populacije.

Potrebno je skrenuti pažnju na činjenicu da ograničen broj markera, koji se koristi u oplemenjivačkim programima, obuhvata samo deo varijabilnosti u populaciji. Nakon određenog vremena njihove eksploatacije dolazi do iscrpljivanja varijabilnosti i fiksacije alela u komercijalnim linijama, što dovodi do smanjenja dobiti od selekcije. Kao posledica nastaje potreba za novim QTL-ovima i/ili njihovim novim kombinacijama u izvorima genetičke varijabilnosti.

Genome Wide Selection

Relativno novi pristup u MAS je selekcija bazirana na genetičkoj analizi celokupnog genoma (Genome Wide Selection, GWS) koja podrazumeva procenu efekata velikog broja

markera duž celog genoma u cilju predviđanja i selekcije individua sa najvećom oplemenjivačkom vrednošću, bez mapiranja i utvrđivanja veza pojedinačnih QTL-ova i osobina (Meuwissen 2001). Bernardo and Yu (2007) su utvrdili da je odgovor na selekciju u simulacionim istraživanjima, kod GWS veći u odnosu na marker asistiranu rekurentnu selekciju za osobine sa niskom heritabilnošću i pod kontrolom velikog broja QTL-ova sa malim pojedinačnih efektima.

Rezultati istraživanja Moreau et al. (2000) ukazuju da je MAS u poređenju sa fenotipskom selekcijom efikasnija u prvim generacijama selekcije, naročito kod osobina pod uticajem manjeg broja QTL-ova. Sa povećanim ulaganjem efikasnost MAS se povećava, jer raste odgovor na selekciju iako su troškovi razvoja i primene molekularnog oplemenjivanja veći od konvencionalnog. Rutinska genetička analiza zahteva visoko razvijenu tehnologiju, savremenu opremu i softver za automatsku obradu velikog broja uzoraka. Ova tehnologija je dostupna uglavnom velikim multinacionalnim kompanijama (Niebur et al., 2004) i razvijanim državnim istraživačkim centrima, koji imaju sredstva za kontinuirana ulaganja u najsavremenije metode MAS. Koebner (2003) navodi da je u kompaniji Momsanto, marker asistirana selekcija na 20 QTL-ova za prinos visoko automatizovani proces i, kao integralni deo konvencionalnog oplemenjivanja, značajno skraćuje period stvaranja inbred linija.

U Srbiji su istraživanja o oplemenjivanju kukuruza usmerena ka primeni savremenih poljskih i laboratorijskih metoda i tehnika u cilju

stvaranja visokoprinosnih, stabilnih hibrida i rešavanja problema osetljivosti na sušu (Ivanović et al., 1992; Pekić et al., 1995; Bekavac et al. 2007) i drugih abiotičkih i biotičkih faktora stresa. U funkciji postizanja ovih ciljeva, molekularni markeri se primenjuju za genetičku karakterizaciju oplemenjivačkog materijala (Zlokolica and Milošević, 2001), procenu genetičkog diverziteta (Nikolić et al. 2004; Micić-Ignjatović et al., 2007), predviđanje heterozisa (Drinić-Mladenović et al., 2002), identifikaciju QTL-ova odgovornih za tolerantnosti na sušu (Quarrie et al. 1999), kvalitet zrna (Marković i sar., 2007; Micić-Ignjatović et al., 2008) i identifikaciju novih izvora poželjnih osobina.

Molekularni markeri imaju značajnu ulogu u oplemenjivanju kuku-

ruza, jer omogućuju brži prenos i akumulaciju poželjnih osobina u oplemenjivački materijal u odnosu na konvencionalno oplemenjivanje. Uspešnost iskorišćavanja informacija o QTL-ovima za potrebe oplemenjivanja zavisi od veličine efekata QTL-ova, preciznosti ocene njegove lokacije, stabilnosti QTL-ova na većem broju sredina i kvaliteta fenotipskih podataka. Veliki broj molekularnih markera, genetičkih mapa velike rezolucije, dobro strukturirane mapirajuće populacije omogućili su rutinsko određivanje broja lokusa, efekte QTL alela, načina delovanje gena za veliki broj osobina, pronalaženje kandidat gena, molekularnu izolaciju (kloniranje QTL-ova), stvaranje funkcionalnih markera i povećanu efikasnost MAS.

LITERATURA

- AGARWAL, M., SHRIVASTAVAN., PADH, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports* 27: 617–631
- BABIĆ, V., BABIĆ, M., IVANOVIĆ, M., KRALJEVIĆ-BALALIĆ, M., DIMITRIJEVIĆ, M. (2010): Understanding and Utilization of Genotype-by-Environment Interaction in Maize Breeding. *Genetika* 42: 313-322
- BEKAVAC, G., PURAR, B., STOJAKOVIĆ, M., JOCKOVIĆ, Đ., IVANOVIĆ, M., NASTASIĆ, A. (2007): Genetic analysis of stay-green trait in broad-based maize populations. *Cereal Research Communications* 35: 31-41
- BERNARDO, R., YU, J. (2007): Prospects for genomewide selection for quantitative traits in maize. *Crop Science* 47: 1082–1090
- BRBAKLIĆ, LJ., KONDIĆ-ŠPIKA, A., TRKULJA, D., KOBILJSKI, B. (2010): Asocijativna analiza između mikrosatelitskih markera i agronomski važnih svojstava pšenice. *Ratarstvo i povrtarstvo* 47: 505-510
- DRINIĆ-MLADENOVIĆ, S., TRIFUNOVIĆ, S., DRINIĆ, G., KONSTANTINOV, K. (2002): Genetic divergence and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR-based markers. *Maydica* 47: 1-8
- DUDLEY, J.W. (1993): Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. *Crop Science* 33: 660–668
- EATHINGTON, S.R., Crosbie, T.M., Edwards, M.D., Reiter, R.S., Bull, J.K. (2007): Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Science* 47: 154– 163
- EDWARDS, M., JOHNSON, L. (1994): RFLPs for rapid recurrent se-

- lection. In Analysis of molecular marker data. Joint Plant Breed. Symp. Ser., Am. Soc. Hort. Sci., Madison, WI.
- GALE, M.D., DEVOS, K.M. (1998): Comparative genetics in the grasses. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 95: 1971–1974
- HO, J.C., McCOUCH, S.R., SMITH, M.E. (2002): Improvement of hybrid yield by advanced backcross QTL analysis in elite maize. Theoretical and Applied Genetics 105: 440–448
- HRISTOV, N., MLADENOV, N., KONDIC-ŠPIKA, A., MARJANOVIĆ-JEROMELA, A., JOCKOVIĆ, B., JACIMOVIĆ, G. (2011): Effect of environmental and genetic factors on the correlation and stability of grain yield components in wheat. Genetika 43: 141-152
- IGNJATOVIĆ-MICIĆ, D., MLADENOVIC-DRINIĆ, S., NIKOLIĆ, A., LAZIĆ-JANČIĆ, V. (2007): Comparison of AFLP and SSR markers for genetic diversity studies in maize populations. Maydica 52: 399-406
- IGNJATOVIĆ-MICIĆ, D., STANKOVIĆ, G., MARKOVIĆ, K., LAZIĆ-JANČIĆ, V., DENIĆ, M. (2008): Quality protein maize: QPM. Genetika 40:205-214
- IVANOVIĆ, M., QUARRIE, S.A., ĐORĐEVIĆ, J., PEKIĆ, S. (1992): Inheritance of abscisic acid production in maize (*Zea mays* L.) leaves in response to rapid drought stress and in the field. Maydica 37: 313-318
- KESAWAT, M.S., KUMAR, B.D. (2009): Molecular Markers: Its Application in Crop Improvement. Journal of Crop Science and Biotechnology 12: 169-181
- KEARSEY, M.J., FARQUHAR, A.G.L. (1998): QTL analysis in plants; where are we now? Heredity 80: 137-142
- KOBILJSKI, B., DENČIĆ, S., KONDIC-ŠPIKA, A., LOHWASSER U., BÖRNER, A. (2009): Locating stable across environment QTL involved in the determination of agronomic characters in wheat. Cereal Research Communications 37: 327–333
- 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. Developments in Plant Breeding, Wheat Production in Stressed Environments, Buck, H.T.; Nisi, J.E.; Salomon, N. (Eds.), Published by Springer, 12, 729-736
- KOEBNER, R. (2003): MAS in cereals: Green for maize, amber for rice, still red for wheat and barley. In Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain in plant and animal breeding? Turin, Italy. 17–18 Oct. 2003
- MARKOVIĆ K., IGNJATOVIĆ-MICIĆ, D., SARATLIĆ, G., LAZIĆ-JANČIĆ, V. (2007): Primena molekularnih markera u analizi sadržaja ulja u zrnu grupnih uzoraka sintetičkih populacija kukuruza (*Zea mays* L.). Journal of Scientific Agricultural Research 68: 5-15
- MEUWISSEN, T.H.E., HAYES, B.J., GODDARD., M.E. (2001): Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics 157: 1819–1829
- MOREAU, L., LEMARIE, S., CHARCOSSET, A., GALLAIS, A. (2000): Economic efficiency of one cycle of marker-assisted selection. Crop Science 40: 329–337

- NASTASIĆ, A., IVANOVIĆ, M., STOJAKOVIĆ, M., STANISAVLJEVIĆ, D., TRESKIĆ, S., MITROVIĆ, B., DRAŽIĆ, S. (2011): Effect of different proportions of exotic germplasm on grain yield and grain moisture in maize. *Genetika* 43: 67-73
- NEUMANN, K., KOBILJSKI, B., DENČIĆ, S., VARSHNEY, R.K., BÖRNER, A. (2010): Genome wide association mapping - a case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding* 27: 37-58
- NIEBUR, W.S., RAFALSKI, J.A., SMITH, O.S., COOPER, M. (2004): Applications of genomics technologies to enhance rate of genetic progress for yield of maize within a commercial breeding program. In T. Fischer, N. Turner, J. Angus, L. McIntyre, M. Robertson, A. Borrell & D. Lloyd, eds. *New directions for a diverse planet. Proc. 4th Internat. Crop Sci. Congr., Brisbane, Australia.*
- NIKOLIĆ, Z., ZLOKOLICA, M., MILOŠEVIĆ, M., VUJAKOVIĆ, M. (2004): Genetic variability of maize breeding material (*Zea mays* L.). *Proc. Nat. Sci. Matica Srpska* 106: 29-38
- PEKIĆ, S., STIKIĆ, R., TOMLJANOVIĆ, L., ANDJELKOVIĆ, V., IVANOVIĆ, M., QUARRIE S.A. (1995): Characterization of Maize Lines Differing in Leaf Abscisic Acid Content in the Field. 1 Abscisic Acid Physiology. *Ann Bot.* 75: 67-73
- RIBAUT, J.M., RAGOT, M. (2007): Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. *Journal of Experimental Botany* 58: 351-360
- SALVI, S., TUBEROSA, R. (2005): To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. *Trend in Plant Science* 10: 297-304
- SERVIN, B., HOSPITAL, F. (2002): Optimal positioning of markers to control genetic background in marker assisted backcrossing. *Journal of Heredity* 93: 214-217
- STOJAKOVIĆ, M., IVANOVIĆ, M., JOCKOVIĆ, Đ., VASIĆ, N. (2007): Characteristics of reselected Mo17 and B73 inbred lines of maize. *Maydica* 52: 257-260
- STOJAKOVIĆ, M., IVANOVIĆ, M., BEKAVAC, G., STOJAKOVIĆ, Z. (2010): Grain Yield of B73 x Mo17-Type Maize Hybrids from Different Periods of Breeding, *Cereal Research Communications* 38: 440-448
- SZALMA, S.J., HOSTERT, B.M., LEDEAUX, J.R., STUBER, C.W., HOLLAND, J.B. (2007): QTL mapping with near-isogenic lines in maize. *Theor and Appl Genet* 114: 1211-1228
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H., BONIERBALLE, M.W. (1989): RFLP mapping in plant breeding: New tools for an old science. *Nature Biotechnology* 7: 257-264
- TRKULJA, D., KONDIĆ-ŠPIKA, A., BRBAKLIĆ, LJ., KOBILJSKI, B. (2011): Analiza veze marker – svojstvo za vreme klasanja i cvetanja pšenice korišćenjem pojedinačne marker regresije. *Ratarstvo i povrtarstvo* 48: 113-120
- VASIĆ, N., JOCKOVIĆ, Đ., IVANOVIĆ, M., PETERNELLI, L., BEKAVAC, STOJAKOVIĆ, M. (2001): Genetic analysis of quantitative traits in synthetic population 316PO2 of maize (*Zea mays* L.). *Cereal Research Communications* 29: 77-84

- VASIĆ, N., IVANOVIĆ, M., JOCKOVIĆ, Đ., PETERNELLI, L., BEKAVAC, G., NASTASIĆ, A. (2003): Influence of sample size on the estimate of mean value and variability for grain yield and grain moisture in synthetic populations of maize. *Cereal Research Communications* 31: 213-220
- VASIĆ, N., IVANOVIĆ, BRKIĆ, I., BEKAVAC, G., ZDUNIĆ, Z., JAMBROVIĆ A. (2006): Evaluation of maize hybrids containing different proportion of NC298 tropical germplasm line in their male parents. *Maydica* 51: 79-88
- QUARRIE, S.A., LAZIĆ-JANČIĆ, V., KOVAČEVIĆ, D., STEED, A., PEKIĆ, S. (1999): Bulk segregant analysis with molecular markers and its use for improving drought resistance in maize. *J. Exp. Bot.* 50:1299-1306
- ZLOKOLICA, M., MILOŠEVIĆ, M. (2001): Isozymes as Genetic Markers in Maize Breeding. *Biologia Plantarum* 44: 207-211

MOLECULAR MARKERS IN MAIZE BREEDING

TRESKIĆ SANJA, IVANOVIĆ, M, KOBILJSKI, B. KONDIĆ-ŠPIKA, ANKICA, BRBAKLIĆ LJILJANA, TRKULJA DRAGANA, STANISAVLJEVIĆ D., MITROVIĆ B.

SUMMARY

Today the marker assisted selection (MAS) is being routinely applied in breeding programmes of large private companies. However, the implementation of molecular markers for commercial use in small companies and public sector is on a considerably smaller scale. Numerous research on QTL mapping, theoretical analysis and simulation models for MAS give impetus to new research on the validation of quantitative trait loci and the application of molecular markers in maize breeding. This paper presents basic concepts related to MAS, the principles of QTL mapping, marker-trait association analysis and examples of successful application of markers in breeding for qualitative and quantitative traits.

Key words: DNK markers, *Zea mays* L., marker assisted selection, quantitative trait loci, maize breeding