



www.insseme.com/journal.html

## Analiza veze marker – svojstvo za vreme klasanja i cvetanja pšenice korišćenjem pojedinačne marker regresije

Dragana Trkulja · Ankica Kondić-Špika · Ljiljana Brbaklić · Borislav Kobiljski

primljeno / received: 28.10.2010. prihvaćeno / accepted: 25.11.2010.  
© 2011 IFVC

**Izvod:** Dihaploidne mapirajuće populacije predstavljaju pogodan materijal za genetičku analizu lokusa koji utiču na ekspresiju kvantitativnih svojstava (QTL - *Quantitative Trait Loci*). U cilju detekcije lokusa koji su u vezi sa vremenom klasanja i cvetanja u našem agro-klimatskom regionu, u radu je analizirana alelna varijabilnost pet mikrosatelitskih lokusa (*Xgwm18*, *Xgwm194*, *Xgwm261*, *Xpsp3071* i *Xpsp3200*) kod 177 linija dihaploidne populacije Savana/Renansansa. Pored toga, na oglednim poljima Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu u periodu 2003-2008. rađena je fenotipska evaluacija ove mapirajuće populacije za navedene osobine. Metodom pojedinačne marker regresije detektovan je QTL u blizini lokusa *Xgwm261*, pomoću kog se moglo objasniti od 20,2% do 30,7% fenotipske varijabilnosti za vreme klasanja i 13,6% do 28,8% za vreme cvetanja, u svim analiziranim godinama.

**Gljučne reči:** cvetanje, dihaploidi, klasanje, mikrosateliti, pšenica, QTL

### Uvod

Kod klasičnih metoda oplemenjivanja biljaka, efikasnost selekcije u velikoj meri zavisi od mogućnosti da se predvidi genotipska vrednost individua, na osnovu fenotipske analize i opažanja svojstava od agronomskog značaja. Imajući u vidu da se većina svojstava od značaja za oplemenjivače nalazi pod kontrolom velikog broja gena (tzv. kvantitativna svojstva), identifikacija QTL-ova, bazirana isključivo na fenotipskoj selekciji, smatra se nemogućom (Eathington et al. 2007), naročito ako se uzme u obzir i uvek prisutna interakcija genotip/spoljna sredina, a koja je kod svojstava uslovljenih poligenima uvek karakterisana i različitim vrednostima heritabilnosti, tačnije različitim udelom genotipske u ukupnoj fenotipskoj varijansi. Sa pojavom tehnika molekularnih markera osamdesetih godina prošlog veka, stvorene su mogućnosti za preciznu genetičku analizu i detekciju lokusa koji kontrolišu osobine, koje su deteminisane većim brojem gena. U odnosu na druge tehnike molekularnih markera,

mikrosateliti pokazuju znatno viši nivo polimorfnosti i informativnosti pri proučavanju genoma heksaploidne pšenice (Ganal & Röder 2007).

Dihaploidne populacije imaju veliki potencijal za identifikaciju QTL-ova jer je usled visokog procenta homozigotnosti i jednostavnog održavanja omogućena njihova evaluacija u različitim godinama i različitim uslovima spoljašnje sredine. Istraživanja bazirana na kompjuterskim simulacijama demonstrirala su da dihaploidne populacije povećavaju efikasnost marker asistiranu selekciju (MAS – *Marker Assisted Selection*), kroz strategiju kombinovanja velikog broja gena sa minimalnim brojem marker testova (Howes et al. 1998).

Vreme klasanja i cvetanja predstavlja glavnu odrednicu regionalne i sezonske adaptacije sorti pšenice. Prilagođenost se ogleda u izbegavanju niskih temperatura za vreme cvetanja (koje mogu da prouzrokuju mušku sterilnost), kao i visokih temperatura i suše u vreme nalivanja zrna. Stoga je razumevanje genetičke osnove vremena klasanja i cvetanja neophodan preduslov za stvaranje sorti

D. Trkulja (✉) · A. Kondić-Špika · Lj. Brbaklić · B. Kobiljski  
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Srbija  
e-mail: dragana.trkulja@ifvns.ns.ac.rs

Ovo istraživanje je deo projekta broj TR-20138: Povećanje genetičkih i proizvodnih potencijala strnih žita primenom klasične i moderne biotehnologije (2008-2010) Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije / This research results from the project TR-20138 funded by the Ministry of Science and Technological Development of the Republic of Serbia

koje odlikuje visok potencijal za prinos (Zhang et al. 2009).

Cilj rada je bio da se na osnovu analize rezultata molekularne i fenotipske evaluacije dihaploidne mapirajuće populacije pšenice utvrdi potencijalna veza između odabranih mikrosatelitskih markera i vremena klasanja i cvetanja u našem agroklimatskom regionu.

## Materijal i metod rada

Dihaploidna mapirajuća populacija Savana/Renesansa nastala je ukrštanjem dve sorte heksaploidne pšenice visokog potencijala za prinos, od kojih je jedna severnoevropska (Savannah, UK), a druga južnoevropska (Renesansa, SRB). Ona je stvorena 2000. u kompaniji Advanta Seeds (Velika Britanija) u saradnji sa John Innes Centrom (Norič, Velika Britanija) i Institutom za ratarstvo i povrtarstvo (Novi Sad, Srbija) u cilju determinacije lokusa za kvantitativna svojstva, koji utiču na ekspresiju prinosa u evropskom agroklimatskom regionu, čini je 177 linija, a dobijena je metodom eliminacije hromozoma polenskog roditelja u ukrštanju pšenice i kukuruza (Kondić-Špika & Kobiljski 2005).

Poljski ogled bio je postavljen po slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja, na ogleđnim poljima Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Površina elementarne parcelice iznosila je 1,2 m<sup>2</sup>. Svaka je imala po 6 redova, a sejano je 60 zrna po redu. Fenotipska evaluacija se odvijala u periodu od šest godina (2003-2008) za vreme klasanja, odnosno pet godina za vreme cvetanja (gde je analiza izostala u 2006. godini). Navedena svojstva ocenjena su prema UPOV deskriptorima za pšenicu, na sledeći način:

- vreme klasanja – izraženo kao broj dana od 1. januara do datuma klasanja (50% klasalih biljaka/eksperimentalnoj jedinici)
- vreme cvetanja – izraženo kao broj dana od 1. januara do datuma cvetanja (50% biljaka u cvetanju/eksperimentalnoj jedinici).

Za evaluaciju varijabilnosti mapirajuće populacije Savana/Renesansa, odabran je set od pet mikrosatelitskih markera (GWM18, GWM 194, GWM 261, PSP3071 i PSP3200.), za koje je u ranijim istraživanjima utvrđena značajna povezanost sa agronomski važnim svojstvima pšenice (Quarrie et al. 2003, Kobiljski et al. 2007, Kumar et al. 2007, Chu et al. 2008).

DNK je izolovana iz svežeg mladog biljnog tkiva prema CTAB metodu (Doyle & Doyle 1990). Lančana reakcija polimeraze (PCR – *Polymerase Chain Reaction*) odvijala se prema modifikovanom protokolu Röder et al. (1998). Reakciona smeša, ukupne zapremine 20 µl, sadržala je 25 ng genomske DNK,

1x pufer za *Taq* polimerazu, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM svakog dinukleotida (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 10 pmol svakog od prajmera i 2 jedinice *Taq* polimeraze. Nakon 5 minuta inicijalne denaturacije na 94°C, sledilo je 47 ciklusa, pri čemu se svaki sastojao od sledećih koraka:

- denaturacija na 94°C u trajanju od 30 sekundi
- hibridizacija prajmer sekvenci za matricnu DNK u trajanju od 30 sekundi na 52°C (GWM18 i GWM194) ili 62°C (GWM261, PSP3071 i PSP3200)
- ekstenzija 30 sekundi na 72°C.

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

Analiza PCR produkata, dobijenih umnožavanjem ispitivanih mikrosatelitskih lokusa, odvijala se pomoću automatskog laserskog DNK sekvencera, model ABI Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems). Po završetku analize, podaci su obrađivani primenom GeneMapper softvera, verzija 4.0 (Applied Biosystems).

Rezultati fenotipske evaluacije obrađeni su analizom varijanse, primenom programa Statistica 8.0.

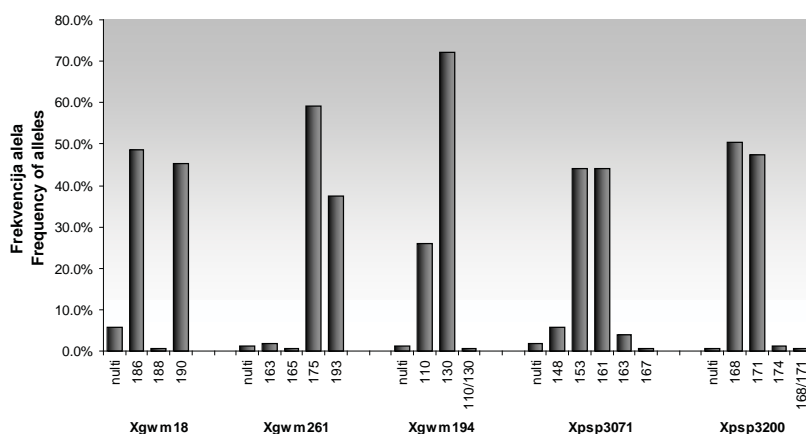
Za utvrđivanje veze marker-svojstvo korišćen je metod pojedinačne marker regresije (*SMR - Single Marker Regression*), primenom softvera QGene 4.0. Analizirani su sledeći parametri: aditivni efekat (*Add effect*), F vrednost za aditivni efekat [*F (add)*], LOD (*logarithm of odds*) i regresija (*R*<sup>2</sup>). Parametar aditivni efekat služi za procenu efekta alela. U ovom radu, pozitivna vrednost aditivnog efekta ukazuje na veći doprinos alela poreklom od Renesanse i obrnuto. Veza marker-svojstvo utvrđena je na bazi LOD vrednosti, koja predstavlja odnos verovatnoće da su dva lokusa vezana sa određenom rekombinacionom vrednošću i verovatnoće da dati lokusi nisu vezani (Rish 1992). Vrednost *R*<sup>2</sup> je izražena u procentima, a ukazuje na to koji deo ukupne fenotipske varijabilnosti određenog svojstva je objašnjen pomoću datog markera. Imajući u vidu broj ispitivanih godina i heritabilnost analiziranih svojstava, veza marker-svojstvo smatrana je postojanom ukoliko se javljala u svim ispitivanim godinama.

## Rezultati i diskusija

Na osnovu rezultata molekularne evaluacije, u svakom od pet ispitivanih mikrosatelitskih lokusa (*Xgwm18*, *Xgwm194*, *Xgwm261*, *Xpsp3071* i *Xpsp3200*), pored alela koji su detektovani kod sorti roditelja, Savane i Renesanse (Tab. 1.), u mapirajućoj populaciji je utvrđeno prisustvo i dodatnih alela, ali je njihova zastupljenost bila ispod 10% (Sl. 1). Ovakvi rezultati mogu biti posledica eksperimentalne greške ili stranoopodnne.

Tabela 1. Aleli detektovani u ispitivanim mikrosatelitskim lokusima kod sorti roditelja  
 Table 1. Alleles detected at analysed microsatellite loci in parent varieties

Lokus Loci	Hromozom Chromosome	Alel (bp) Allele (bp)	
		Savana	Renesansa
<i>Xgwm18</i>	1B	190	186
<i>Xgwm261</i>	2D	175	193
<i>Xgwm194</i>	4D	110	130
<i>Xpsp3071</i>	6A	161	153
<i>Xpsp3200</i>	6D	168	171



Slika 1. Frekvencija alela u ispitivanim mikrosatelitskim lokusima kod dihaploidne populacije Savana/Renesansa  
 Fig. 1. Frequency of alleles at analysed microsatellite loci in doubled haploid population Savana/Renesansa

Tabela 2. Analiza varijanse vremena klasanja i cvetanja kod ispitivanih dihaploidnih linija  
 Table 2. Analysis of variance of the heading and flowering of the analysed doubled haploid lines

Izvori varijacije Source of variation	Suma kvadrata SS	Stepeni slobode df	Sredina kvadrata MS	F	p
Klasanje Heading					
Genotip Genotype	20468	176	116	3.5**	0.00
Pogreška Error	29252	885	33		
Cvetanje Flowering					
Genotip Genotype	15631	176	89	2.1**	0.00
Pogreška Error	29400	708	42		

Analizom varijanse, između 177 linija dihaploidne mapirajuće populacije Savana/Renesansa, ustanovljene su statistički veoma značajne razlike u pogledu vremena klasanja i cvetanja, pa se

može pretpostaviti da se radi o genetičkom materijalu koji odlikuje visok procenat rekombinacija, što ovu populaciju čini pogodnom za analizu veze marker-svojstvo (Tab. 2.).

Analizom veze marker-svojestvo, u svim ispitivanim godinama, detektovan je QTL u blizini markera GWM261, pomoću kog se moglo objasniti od 20,2% do 30,7% fenotipske varijabilnosti za vreme klasanja i 13,6% do 28,8% za vreme cvetanja. Za vreme klasanja, LOD vrednost za dati marker, kretala se od 8,672 do 14,102, a za vreme cvetanja od 5,610 do 13,029. Negativ-

ne vrednosti za aditivni efekat, pri F(add) većoj od 15,0, ukazuju da je alel od 193 bp, poreklom od Renesanse, imao redukujući efekat na vreme klasanja i vreme cvetanja, odnosno determinisao ranije sazrevanje. Na osnovu rezultata ovog rada, nisu ustanovljene statistički značajne veze između preostala četiri ispitivana mikrosatelitska lokusa i vremena klasanja i cvetanja (Tab. 3. i Tab. 4).

Tabela 3. Pojedinačna marker regresija za vreme klasanja za šest ispitivanih godina (LOD > 3,0; F(add) > 15,0)

Table 3. Single Marker Regression for heading time for six evaluated years (LOD > 3,0; F(add) > 15,0)

2003					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,472	2,111	0,461	1,2
2D	Xgwm261	<b>-1,963</b>	<b>44,292</b>	<b>8,672</b>	<b>20,2</b>
4D	Xgwm194	-0,447	1,549	0,339	0,9
6A	Xpsp3071	-0,019	0,003	0,001	0,0
6D	Xpsp3200	0,777	6,104	1,318	3,4
2004					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,651	2,058	0,449	1,2
2D	Xgwm261	<b>-3,212</b>	<b>67,152</b>	<b>12,483</b>	<b>27,7</b>
4D	Xgwm194	-0,558	1,237	0,271	0,7
6A	Xpsp3071	0,173	0,135	0,030	0,1
6D	Xpsp3200	1,212	7,683	1,651	4,2
2005					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,208	0,484	0,106	0,3
2D	Xgwm261	<b>-1,971</b>	<b>56,201</b>	<b>10,704</b>	<b>24,3</b>
4D	Xgwm194	-0,196	0,354	0,078	0,2
6A	Xpsp3071	0,282	0,841	0,184	0,5
6D	Xpsp3200	0,692	5,772	1,247	3,2
2006					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,234	0,658	0,144	0,4
2D	Xgwm261	<b>-2,007</b>	<b>64,797</b>	<b>12,107</b>	<b>27,0</b>
4D	Xgwm194	-0,054	0,029	0,006	0,0
6A	Xpsp3071	0,436	2,169	0,474	1,2
6D	Xpsp3200	0,486	3,000	0,653	1,7
2007					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,420	0,886	0,194	0,5
2D	Xgwm261	<b>-3,314</b>	<b>77,568</b>	<b>14,102</b>	<b>30,7</b>
4D	Xgwm194	-0,961	3,868	0,840	2,2
6A	Xpsp3071	0,532	1,341	0,293	0,8
6D	Xpsp3200	1,101	6,555	1,413	3,6
2008					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,336	0,881	0,193	0,5
2D	Xgwm261	<b>-2,606</b>	<b>73,418</b>	<b>13,465</b>	<b>29,6</b>
4D	Xgwm194	-0,311	0,621	0,136	0,4
6A	Xpsp3071	0,346	0,881	0,193	0,5
6D	Xpsp3200	0,820	5,624	1,216	3,1

Tabela 4. Pojedinačna marker regresija za vreme cvetanja za pet ispitivanih godina (LOD &gt; 3,0; F(add) &gt; 15,0)

Table 4. Single Marker Regression for flowering time for five evaluated years (LOD &gt; 3,0; F(add) &gt; 15,0)

2003					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,601	3,437	0,748	1,9
2D	Xgwm261	<b>-1,613</b>	<b>27,501</b>	<b>5,610</b>	<b>13,6</b>
4D	Xgwm194	-0,577	2,585	0,564	1,5
6A	Xpsp3071	-0,167	0,244	0,054	0,1
6D	Xpsp3200	0,845	7,229	1,556	4,0
2004					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,637	2,310	0,504	1,3
2D	Xgwm261	<b>-3,014</b>	<b>69,947</b>	<b>12,924</b>	<b>28,6</b>
4D	Xgwm194	-0,494	1,133	0,248	0,6
6A	Xpsp3071	0,167	0,147	0,032	0,1
6D	Xpsp3200	1,101	7,403	1,592	4,1
2005					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,279	0,891	0,195	0,5
2D	Xgwm261	<b>-1,977</b>	<b>57,895</b>	<b>10,985</b>	<b>24,9</b>
4D	Xgwm194	-0,251	0,591	0,129	0,3
6A	Xpsp3071	0,301	0,976	0,214	0,6
6D	Xpsp3200	0,690	5,828	1,259	3,2
2007					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,586	2,312	0,504	1,3
2D	Xgwm261	<b>-2,774</b>	<b>70,175</b>	<b>12,960</b>	<b>28,6</b>
4D	Xgwm194	-0,964	5,215	1,129	2,9
6A	Xpsp3071	0,442	1,232	0,270	0,7
6D	Xpsp3200	1,022	7,546	1,623	4,1
2008					
Hromozom Chromosome	Lokus Loci	Add effect	F(add)	LOD	R <sup>2</sup> (%)
1B	Xgwm18	-0,494	2,003	0,437	1,1
2D	Xgwm261	<b>-2,517</b>	<b>70,617</b>	<b>13,029</b>	<b>28,8</b>
4D	Xgwm194	-0,279	0,520	0,114	0,3
6A	Xpsp3071	0,359	0,988	0,216	0,6
6D	Xpsp3200	0,739	4,744	1,028	2,6

Marker GWM261 je jedan od najviše proučavanih mikrosatelitskih markera, jer se najčešće nasleđuje zajedno sa jednim od gena reduktora visine stabljike, *Rht8* genom (*Rht* – *Reducing height*). Nalazi se 0,6 cM distalno od *Rht8* gena na kratkom kraku 2D hromozoma (Korzun et al. 1998). Analizom preko 800 sorti pšenice poreklom iz 20 različitih zemalja, utvrđeno je da su u lokusu *Xgwm261*, alelne varijante od 165, 174 i 192 bp, bile zastupljene sa preko 90% (Worland et al. 2001). Kobiljski et al. (2006) su evaluacijom varijabilnosti mikrosatelitskog lokusa *Xgwm261* kod 269 sorti i linija stvorenih u ople-

menjivačkim centrima u Srbiji, utvrdili da 73,6% genotipova poseduje alel od 192 bp, 14,9% alel od 174 bp, 7% alel od 165 bp i 4,56% novi fragment veličine oko 200 bp. Kod sorte Renesansa detektovan je alel od 192 bp. U ovom radu kod sorte Savana u lokusu *Xgwm261* utvrđeno je prisustvo alela od 175 bp, a kod Renesanse od 193 bp (Tab. 1). Ovi aleli bili bi ekvivalentni fragmentima od 174 bp i 192 bp prethodno navedenih autora (Worland et al. 2001, Kobiljski et al. 2006), a razlike od 1 bp posledica su primene različitih sistema pri analizi fragmenata i kasnijoj obradi dobijenih rezultata.

Statistički značajna asocijacija između markera GWM261 i vremena klasanja i cvetanja, ustanovljena u ovom radu, može biti rezultat veze ovog markera sa *Ppd-D1* genom, koji prema Scarth and Law (1983) ima značajnu ulogu u determinisanju vremena klasanja kao odgovor na dužinu trajanja dana. Primenom RFLP markera, *Ppd-D1* gen je lociran na kratkom kraku hromozoma 2D, 20,9 cM proksimalno od *Rht8* gena (Worland et al. 1998). Xu et al. (2005) su, takođe na 2DS hromozomu, identifikovali jedan QTL za vreme klasanja, 12,1 cM proksimalno od mikrosatelitskog lokusa *Xgwm261*, koji je objašnjavao oko 40% fenotipske varijabilnosti u tri ispitivane godine. Narasimhamoorthy et al. (2006) su pomoću metoda *Single Marker Analysis* ustanovili statistički značajnu asocijaciju između markera GWM261 i vremena klasanja, a na osnovu ovog mikrosatelita moglo se objasniti 17% fenotipske varijabilnosti. Primenom intervalnog mapiranja veza je takođe bila statistički signifikantna, ali se njime moglo objasniti 6,6% fenotipske varijabilnosti.

Ispitujući mogućnosti primene MAS pri oplemenjivanju pšenice na uslove suše, Quarrie et al. (2003) su utvrdili značajnu vezu između alela mikrosatelitskog lokusa *Xpsp3200* na 6DS hromozomu i vremena cvetanja. U ovom radu, gde je dihaploidna populacija Savana/Renesansa gajena uz primenu uobičajene agroteh-

nike, nije ustanovljena statistički značajna veza između markera PSP3200 i vremena cvetanja (Tab. 4).

Imajući u vidu da su rezultati ovog rada dobijeni analizom jedne biparentalne populacije, detektovani QTL-ovi su validni samo u odnosu na dve alelne forme koje nose roditelji, te se lokus *Xgwm261* može posmatrati samo kao kandidat marker za MAS. Sledeća faza istraživanja podrazumevala bi validaciju dobijenih rezultata na materijalu koji je relevantan za oplemenjivanje u našem agroklimatskom regionu.

### Zaključak

Utvrđeno je da se linije dihaploidne mapirajuće populacije Savana/Renesansa statistički veoma značajno razlikuju u pogledu vremena klasanja i cvetanja. Može se pretpostaviti da se radi o genetičkom materijalu koji odlikuje visok procenat rekombinacija, što ovu populaciju čini pogodnom za analizu veze marker-svojstvo. Primenom metoda pojedinačne marker regresije, ustanovljene su statistički značajne veze između mikrosatelitskog markera GWM261 na kratkom kraku hromozoma 2D i oba posmatrana svojstva. Ova veza bila je postojana u svim analiziranim godinama. Preostala četiri mikrosatelitska lokusa nisu bila u statistički značajnoj asocijaciji sa vremenom klasanja i cvetanja.



**Literatura**

- Chu C G, Xu S S, Friesen T L, Faris J D (2008): Whole genome mapping in a wheat doubled haploid population using SSRs and TRAPs and the identification of QTL for agronomic traits. *Mol. Breed.* 22: 251-266
- Doyle J J, Doyle J L (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15
- Eathington S R, Crosbie T M, Edwards M D, Reiter R S, Bull J K (2007): Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Sci.* 47(S3): S154-S163
- Ganal M W and Röder M S (2007): Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. In: Varshney R K and Tuberosa R (eds.), *Genomics assisted crop improvement: genomics applications in crops*, Springer, The Netherlands, 2: 1-24
- Howes N K, Woods S M, Townley-Smith T F (1998): Simulations and practical problems of applying multiple marker assisted selection and doubled haploids to wheat breeding programs. *Euphytica* 100: 225-230
- 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 H T et al. (eds), *Wheat Production in Stressed Environments*, Springer, The Netherlands, 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
- Kondić-Špika, A i Kobiljski, B (2005): Uticaj roditeljskih genotipova na formiranje haploidnih embriona u ukrštanjima pšenice i kukuruza. *Sel. Semen.* 11: 7-12
- Korzun V, Röder M S, Ganal M W, Worland A J, Law C N (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
- Kumar N, Kulwal P L, Balyan H S, Gupta P K (2007): QTL mapping for yield and yield contributing traits in two mapping populations of bread wheat. *Mol. Breed.* 19: 163-177
- Narasimhamoorthy B, Gill B S, Fritz A K, Nelson J C, Brown-Guedira G L (2006): Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat x synthetic wheat population. *Theor. Appl. Genet.* 112: 787-796
- Quarrie S A, 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
- Risch N (1992): Genetic linkage: Interpreting LOD scores. *Science* 255: 803-804
- Röder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M-H, Leroy P, Ganal M W (1998): A Microsatellite Map of Wheat. *Genetics* 149: 2007-2023
- Scarth R, Law C N (1983): The control of day-length response in wheat by the group 2 chromosome 2B of wheat. *Heredity* 51: 607-619
- Worland A J, Börner A, Korzun V, Li W M, Petrović S, Sayers S J (1998): The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheat. *Euphytica* 100: 385-394
- Worland A J, Sayers E J, Korzun V (2001): Allelic variation at the dwarfing gene *Rht8* locus and its significance in international breeding programmes. *Euphytica* 119: 155-159
- Xu X, Bai G, Carver B F, Shaner G E (2005): A QTL for early heading in wheat cultivar Suwon 92. *Euphytica* 146: 233-237
- 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

## Marker-Trait Association Analysis for Heading and Flowering Time in Wheat by Single Marker Regression

Dragana Trkulja · Ankica Kondić-Špika · Ljiljana Brbaklić · Borislav Kobiljski

Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia

**Summary:** Doubled haploid (DH) mapping populations are suitable material for genetic analysis of quantitative trait loci (QTL). In order to detect loci associated with heading and flowering time in our agro-climate region, 177 lines of DH population Savana/Renesansa were analysed with five microsatellite markers (GWM18, GWM194, GWM261, PSP3071 and PSP3200). These lines were also evaluated for heading and flowering at the experimental field of the Institute of Field and Vegetable Crops in Novi Sad. The experiment was conducted from 2003 to 2008. According to Single Marker Regression analysis, the marker GWM261 was associated with QTL which explained from 20.2% to 30.7% of the total variance for heading and from 13.6% to 28.8% of the total variance for flowering time, in all analysed years.

**Key words:** doubled haploids, flowering, heading, microsatellites, QTL, wheat