

주요 국산밀 품종과 내고온성 터키 유전자원을 이용한 내고온성 관련 SSR 마커 평가

손재한* · 김경훈** · 정영근* · 박종철* · 김경호* · 김양길* · 오영진* · 송태화* · 김보경* · 강천식[†]

*농촌진흥청, 국립식량과학원, 작물육종과, **농촌진흥청, 국립식량과학원, 남부작물부

Evaluate of SSRs for Heat Tolerance using Korean Major Wheat Cultivars and Heat Resistant Turkey Resources

Jae-Han Son*, Kyeung-Hoon Kim**, Young-Keun Cheong*, Jong-Chul Park*, Kyong-Ho Kim*, Yang-Kil Kim*, Young-Jin Oh*, Tae-Hwa Song*, Bo-kyeong Kim*, and Chon-Sik Kang[†]

*Crop Breeding Division, National Institute of Crop Science, RDA, Wanju, 565-851, Korea

**Department of Southern Area, National Institute of Crop Science, RDA, Milyang, 627-803, Korea

ABSTRACT High temperature is one of major environmental stress. Heat tolerance managing is difficult through the phenotypic selection, so marker assistant selection (MAS) using molecular markers like as RAPD, SSR etc. was tried to select useful traits for heat tolerance. Fourteen SSR markers reported by previous research were selected for this research. We tried to evaluate 14 SSR markers for MAS using 31 useful wheat resources including 24 crossing line from Turkey, six Korean wheat cultivars and Chinese spring. The average of the number of alleles and PIC values in this study were 6.14 and 0.64, respectively. Two major clades and four sub clades were grouped by phylogenetic tree using UPGMA. Four Korean wheat cultivars were distinct from other Turkey resources in the phylogenetic dendrogram. From the results, we expected that these markers were able to adapt to screening wheat genotyping for heat tolerance.

Keywords : heat tolerance, MAS, SSR, wheat

최근의 지구온난화로 인한 이상기후가 자주 발생함에 따라 작물환경에 영향을 미치고, 특히 고온에 의한 작물의 심각한 피해가 예상된다(Sadat *et al.*, 2013). 고온스트레스는 저온, 염스트레스 등과 같이 주요한 환경스트레스 중 하나로써 작물의 생육에 영향을 끼쳐 최종적으로 곡물의 수량을 감소시킨다(Boyer, 1982). 특히 밀의 생식단계 또는 개화 후 성숙되는 기간의 고온스트레스는 심각한 수량 감소를 일으킬 수 있다(Hays *et al.*, 2007). Gibson and Paulsen (1999)

등은 개화 후 10일에서 성숙 단계 동안에 35°C의 고온 피해를 받으면, 수량 78%, 종자 수 63%, 종자무게가 29% 정도 감소된다고 보고하였다. 그러나 개화 후 15일에서 완전 성숙 때까지의 고온은 종자무게만 18% 감소시킨다고 보고되었다(Gibson and Paulsen, 1999). 고온의 영향으로 최적온도에서 평균온도가 1°C 상승하면, 세계적으로 곡물생산의 3~4%의 감소가 발생한다고 보고되었다(Wardlaw *et al.*, 1989). 비록 고온스트레스에서도 생산안정성을 보이는 여러 품종들이 확인되고 있지만, 품종 육성 단계에서 육종가가 현장에서 내고온성 등과 같은 환경스트레스와 관련된 양적 형질을 효과적으로 선발하는 데는 어려움이 따른다(Hays *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2002).

단일 목적 형질을 위한 몇몇 양적형질 유전자좌(Quantitative trait loci, QTL)가 존재하기 때문에 목적형질과 밀접하게 연관되어 있는 분자마커 또는 실제 유전자 염기서열을 이용한 간접적 선발의 효율이 표현형적 선발보다 시간적, 경제적으로 효율이 높을 수 있다. 이론에 기반을 둔 시뮬레이션 연구를 통해 다원발생 형질(polygenic trait) 선발을 위해서는 전통적으로 수행되는 표현형적 선발보다 분자표지이용 선발(Marker assisted selection, MAS)의 효과가 더 클 수 있다는 것이 제안되었다(Lande and Thompson, 1990; Zhang and Smith, 1992). 분자표지이용 선발은 주로 큰 집단에서 목적형질의 유전율이 낮을 때 이용할 수 있다. 또한 분자마커가 목적하는 양적형질(QTL)과 밀접하게 연관(< 5.0 CM) 되어 있을 때 효율이 높고, 특히 선발은 분자마커와 양적형질 사이에서 재조합이 일어나기 전인 초기 세대에서 수행되

[†]Corresponding author: (Phone) +82-63-238-5227 (E-mail) kcs1209@korea.kr

<Received 1 July, 2015; Revised 25 August, 2015; Accepted 25 August, 2015>

는 것이 좋다. 많은 연구를 통해 목적형질의 염색체상 유전자 위치 등과 다양한 DNA 마커가 보고되어 있으며, 현재 CIMMYT 등 국외 여러 기관에서 밀의 고단백질(Distelfeld *et al.*, 2006), 밀가루색(Sharp *et al.*, 2001), 종자의 경도(Giroux and Morris, 1997)와 반죽 강도 및 볼륨(Mclauchlan *et al.*, 2001) 등 품질 관련 DNA 마커와 붉은곰팡이병(*Fusarium head blight*) (Anderson *et al.*, 2001)과 녹병(Stem rust) (Prins *et al.*, 2001) 등의 연구에 MAS를 적용하고 있다. 밀의 유용형질에 대한 유전적 특성을 이용한 다양한 분자마커 시스템이 사용되고 있는데 그 중에서 microsatellite (Simple sequence repeat, SSR)는 공우성 마커로서 유전분리 초기 세대에서 유용하게 사용할 수 있다(Chen *et al.*, 1998; Temnykh *et al.*, 2001). SSR은 Restriction fragment length polymorphism (RFLP)이나 Random amplification polymorphic DNA (RAPD)에 비해 재현성과 확실한 다형성을 확인할 수 있으며, 유전자

마커 개발의 기본적인 자료로 매우 중요하다(Sadat *et al.*, 2013). 이러한 SSR은 밀의 중간 유연관계 분석 등에 사용이 되었으며, 현재 형질과 관련된 유전자 지도 작성 및 마커 개발에 많이 사용되고 있다(Houghton *et al.*, 2001). 따라서 본 연구는 기존의 밀의 고온스트레스와 관련된 다양한 SSR 마커 중에서 최근 연구를 통해 가장 연관이 있는 것으로 보고된 마커(Table 2)를 이용하여 국내에서 육성된 품종과 터키에서 육성 중인 내고온성 유망 계통을 평가하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 Genomic DNA 추출

식물재료는 금강, 조경, 백중, 고소, 울, 올그루, 조품 등 7개 품종과 CIMMYT 터키 농업연구소로부터 분양 받은 23계통 등 31개의 밀을 사용하였다(Table 1). 터키 농업연

Table 1. Information of 31 in bred lines and wheat cultivars used in this study.

No.	Crossing and varieties name	Origin	Accession number
1	BEZOSTAYA	-	950189
2	SERI	-	951027
3	ZANDER-17/3/KAUZ*2/YACO//KAUZ	TCI	130776
4	1-27-6275/CF1770//5/GHODS/4/ANZA./6/PROGRES	TCI	130778
5	J15418/MARAS//NOVOSADSKA	TCI	130779
6	DORADE-5/DUNAV	TCI	130791
7	4WON-IR-257/5/YMH/HYS//HYS/TUR3055/3/DGA/4/VPM/MOS	TCI	120447
8	PYN/BAU/3/AGRI/BJY//VEE	TCI	130796
9	F06659G6-1	ROM	110620
10	OK07218	USA-OK	110574
11	YUMPA	RUS	110604
12	OWL,85224/7/T.SPH/2*H567.71//CMH77.93/3/2*CMH79.959/5/ T.SPH/2*H567.71//CMH77.931/3/CMH79.959/4/CMH79.959/6/GASPARD	IR-KARADJ	130672
13	URES/BOW"S"/ADANA-99/7/HK1/6/NVSR3/5/BEZ/TVR/5/CFN/BEZ// SU92/CI13645/3NAI60	TCI	F4
14	OASIS/SKAUZ//4*BCN/3/2*PASTOR/4/F498U1-1021/BOEMA	TCI	F4
15	CHEN/AEGILOPS SQUARROSA(TAUS)//BCN/3/2*KAUZ/4/CATEDRAL	TCI	F4
16	CATEDRAL/5/WBLL1*2/VIVITSI/4/D67.2/P66.270//AE.SQUARROSA(320)/ 3/CUNNINGHAM	TCI	F4
17	LCR/SERI/3/MEXDW/BACA//VON A/4/TAM200/J15418/5/ BABAX/LR42//BABAX*2/3/BRAMBLING	TCI	F4
18	J15418/MARAS//SHARK/F4105W2.1/3/WBLL1*2/KIRITATI	TCI	F4
19	SUNCO/2*PASTOR/6/TX69A509.2//BBY/FOX/3/GRK//NO64/PEX/ 4/CER/5/CHIL/2*STAR	TCI	F4
20	WBLL1*2/KIRITATI//BILLING(N566/OK94P597)	TCI	F4

Table 1. Information of 31 in bred lines and wheat cultivars used in this study (Continue).

No.	Crossing and varieties name	Origin	Accession number
21	WEAVER/4/NAC/TH.AC//3*PVN/3/MIRLO/BUC/5/DEMIR	TCI	F4
22	KAMB1/MNNK1//WBLL1/4/VORONA/HD2402/3/RSK/CA8055//CHAM6	TCI	F4
23	ST.ERYHTR 133407/8/CAL/NH//H567.71/3/SERI/4/CAL/NH//H567.71/5/ 2*KAUZ/6/PASTOR/7/CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//KAUZ/3/2*KAUZ*2/YACO//KAUZ	TCI	F4
24	Ol	Korea	Cultivar
25	Olgeuru	Korea	Cultivar
26	Jopoom	Korea	Cultivar
27	Keumkang	Korea	Cultivar
28	Jokyoung	Korea	Cultivar
29	Baekjung	Korea	Cultivar
30	Goso	Korea	Cultivar
31	Chines spring	China	Cultivar

Table 2. Characteristics and genotypes of SSR markers for marker assisted selection of 31 wheat varieties for heat stress resistance.

Marker name	Forward sequences (5'→3')	Reverse sequences (5'→3')	Chromosomal location	QTLs	Number of alleles	PIC value	Reported by
Gwm11	G TGAATGTGTCTGTATGCTTCC	GGATAGTCAGACAATTCTTGTG	1B	Grain-filling duration	4	0.62	Yang <i>et al.</i> (2002)
Gwm291	AATGGTATCTATCCGACCCG	CATCCCTAGGCCACTCTGC	5A	HIS Single kernel	16	0.83	Mason <i>et al.</i> (2010)
Gwm268	TTATGTGATTGCGTACGTACCC	AGGGGATATGTGTCACTCCA	1B	HIS Single kernel	5	0.71	Mason <i>et al.</i> (2010)
Gwm293	TCGCCATCACTCGTTCAAG	TACTGGTTCACATTGGTGCG	5A	Grain-filling duration	10	0.83	Yang <i>et al.</i> (2002)
Gwm325	TTTTTACGCGTCAACGACG	TTTCTCTGTCTCTCTTCCC	6D	Grain-filling duration	4	0.69	Mason <i>et al.</i> (2010)
Gwm484	AGTTCGGTTCATGGCTAGG	ACATCGCTCTTCACAAACCC	2D	Grain-filling duration	3	0.53	Mohammadi <i>et al.</i> (2008)
Xgwm111.2	ACCTGATCAGATCCCCATCG	TCTGTAGGCTCTCCGACTG	2B	HIS Single kernel	5	0.68	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xgwm294	GCAGAGTGATCAATGCCAGA	GGATTGGAGTTAAGAGAGAACCG	2A	HIS Single kernel	5	0.69	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xgwm356	CCAATCAGCCTGCAACAAC	AGCGTCTTGGGAATTAGAGA	2A	HIS Single kernel	5	0.69	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xwmc407	CATAITTCCAAATCCCAACTC	GGTAATCTAGGCTGACATATGCTC	2A	HIS Single kernel	3	0.19	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xbarc137	CCAGCCCCTCTACACATTTT	GGCCATTTCCTCACTTTCCA	1B	Grain-filling duration	11	0.63	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xcfd43	CCAAAAACATGGTTAAAGGGG	AACAAAAGTCGGTGCAGTCC	2D	Grain-filling duration	5	0.67	Mason <i>et al.</i> (2010)
Xcfa2129	ATCGCTCACTACTATCGGG	GTTGCACGACCTACAAAGCA	1A	HIS kernel number of spike	4	0.66	Mason <i>et al.</i> (2010)
WMC527	GCTACAGAAAACCGGAGCCTAT	ACCCAAGATTGGTGGCAGAA	3B	HIS Single kernel	6	0.48	Mason <i>et al.</i> (2010)

구소에서 분양 받은 23계통은 내고온성 평가 결과 고온에 저항성을 갖는 품종과 계통으로서 본 연구에 이용되었다. Genomic DNA는 Genomic DNA extraction Kit for plant (SolGent, Korea)를 이용하여 추출하였다.

PCR 및 다형성 분석

기존 연구에서 보고된 14개 SSR 마커를 사용하여 품종 및 계통 31개를 PCR 분석하였다(Table 1, Table 2). PCR은 전체 60 ng의 DNA를 주형으로 하여, 프라이머 0.5 μ mol, dNTP 0.2 mM, Taq DNA polymerase 1 unit (GenetBio., Korea)의 조성으로 수행되었다. PCR은 터치다운 방법을 이용하여 수행되었으며, 조건은 94°C에서 30초, 65°C-55°C (-0.7°C/cycle); 30초, 72°C에서 1분으로 13회 한 후 94°C; 30초, 58°C, 30초, 72°C; 1분으로 35회 반복하였고, QIAxcel 자동 전기영동장치(QIAGEN, USA)를 이용하여 전기영동한 후 다형성을 확인하였다. Polymorphism information content (PIC)는 $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$ 로 계산하였다(Liu, 1998).

연관관계 분석

SSR 마커 다형성 분석을 통해 확인된 밴드 중 50-400 bp 사이의 DNA 밴드를 데이터화 하였다. PCR을 통해 증폭된

밴드와 증폭되지 않은 밴드를 각각 '1'과 '0'으로 데이터화 하여 NTSYS-pc 2.0 프로그램을 이용하여 통계적 분석을 수행하였다(Rohlf, 1998). 31개 유전자형의 유전적 연관관계는 unweighted pair-group method on arithmetic averages (UPGMA)로 나타났다.

결과 및 고찰

SSR 마커 다형성 분석

본 연구에 사용된 14개 SSR 마커는 밀의 2A, 1B, 2D 등 서로 다른 염색체상에 존재하는 것으로서 밀 종자의 수, 무게, 개화 후 성숙단계 등 생산성과 관련된 QTL과 가깝게 연관되어 있는 것으로 보고되었다(Sadat *et al.*, 2013). 기존의 많은 QTL 연구를 통해 6배체 보통밀과 듀럼밀의 전체 수량구성요소와 건조스트레스 저항성 등이 함께 평가되었지만, 단일 생산성구성요소에 대한 유전자지도 작성 등의 접근 방법은 독자적인 것으로서 내고온성 등과 같은 하나의 형질과 관련 있는 QTL 분석으로서 시도되었다(Mason *et al.*, 2010). 고온은 특히 개화 후 10~15일에서 완전 성숙이 되는 단계에 영향을 미치기 때문에 종자의 수와 무게의 감

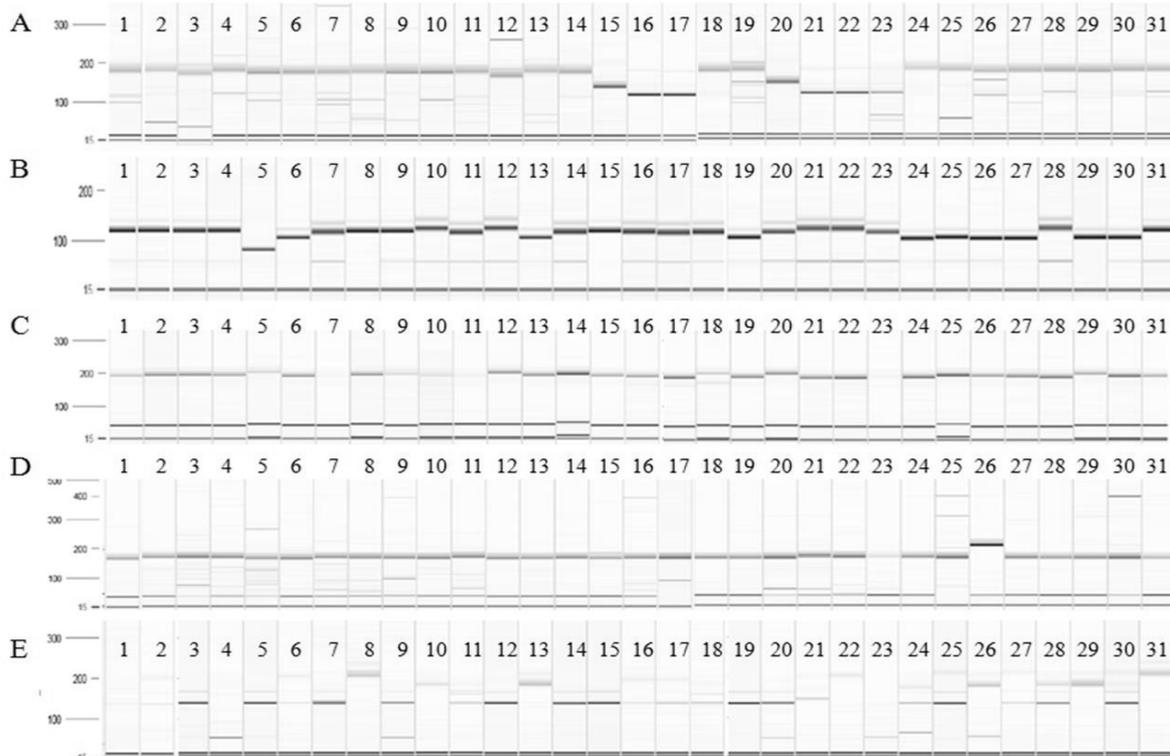


Fig. 1. Some SSR profiles of PCR products and 2.5 kb ladder was used for 31 wheat genotypes. The amplified products were represented in the size range of 15 to 400 bp. A: Gwm291, B: Xgwm294, C: Gwm11, D: Xcfd43, E: Xgwm111.2.

소 등에 영향을 미친다(Houghton *et al.*, 2001). 종자의 성숙 기간의 고온은 또한 종자와 최종적으로 밀가루 품질의 저하를 야기시키는 원인 중 하나로 작용한다(Bhullar and Jenner, 1985). 본 연구에 사용된 SSR 마커는 대부분 종자의 성숙단계와 종자 수 등의 QTL과 연관되어 있다(Table 2). 14개 마커를 국내에서 육성된 밀 품종 7개, 터키에서 분양 받은 내고온성 유전자원 23개와 Chinese spring 등 31개 밀에 적용하여 유전자형을 비교하였다. 터키로부터 받은 품종 및 계통은 내고온성 평가에서 고온 및 가뭄 스트레스에 저항성을 갖는 것으로 나타났다. 주요 국산밀 품종은 국내 기후에 맞게 육성된 것으로서 내고온성 특성 분석이 현재 되어있지 않다. 그러나 터키 자원과의 유전자형 분석을 통해 내고온성 특성을 어느 정도 유추할 수 있을 것으로 생각되고, 내고온성에 대한 국내 연구가 진행될 것이다. 31개 밀을 분석한 결과 전체 86개의 대립유전자가 확인되었다(Fig. 1). 각각 마커의 다형성 분석은 50~400 bp 이내의 밴드를 데이터로 사용하였고, 3~16개의 대립유전자가 확인되었다. 가장 많은 대립유전자 수가 확인된 마커는 Gwm291로서 16개가 확인되었고, 가장 적은 수의 대립유전자는 Xwmc407과 Gwm484에서 3개가 확인되었다(Table 2). Gwm291 마커는 50~300 bp 범위에서 16개의 가장 많은 다형성 밴드가 확인되었고 PIC는 0.83이었다. Gwm11, Xcfd43, Xgwm294, Xgwm111.2의 다형성 밴드 수는 50~400 bp 범위 내에서

각각 4개, 5개, 5개, 5개로 평균 대립유전자 수와 비슷하게 나타났고, 이들의 평균 PIC는 0.66이었다(Fig. 1). Fig. 1에서 보는 것과 같이 QIAxcel 자동 전기영동장치는 일반 아가로스젤에서 확인하는 것보다 세밀하게 차이를 볼 수 있기 때문에 실제 대립유전자 수가 아가로스에서 확인하는 것보다 많고, 세밀하게 분석할 수 있었다(Fig. 1). SSR 마커는 염색체상의 한 유전자좌에서도 많은 대립유전자로서 나타날 수 있다(Naghavi *et al.*, 2007). SSR 유전자 좌에 속해있는 대립유전자 다양성이 많은 연구를 통해 보고되었다(McCouch *et al.*, 2001). 평균 6.14개의 대립유전자가 본 연구를 통해 확인되었으며, 이것은 기존의 연구에서 보고된 5.4개(Sadat *et al.*, 2013)와 5.2개(Zeb *et al.*, 2009), 3.2개(Salem *et al.*, 2008)등과 다르게 나타났다. 14개 SSR 마커의 평균 PIC는 0.64로 나타났으며, Xwmc407이 0.19로 가장 낮게 나타났고, Gwm293과 Gwm291이 0.83으로 가장 높게 나타났다. Xwmc407의 대립유전자 수가 3개로 적은 것에 비해 다형성 밴드가 많았기 때문으로 생각된다.

계통학적 분석

계통학적 분석결과 크게 세 개의 그룹으로 형성되었다(Fig. 2). 국산 품종 중 울이 아웃그룹(III)으로 형성되었고 울그루, 고소, 조품, 등 국산 품종은 터키 자원과는 다르게 두 번째(II) 그룹에서 나타났다. 내고온성과 관련된 터키 자

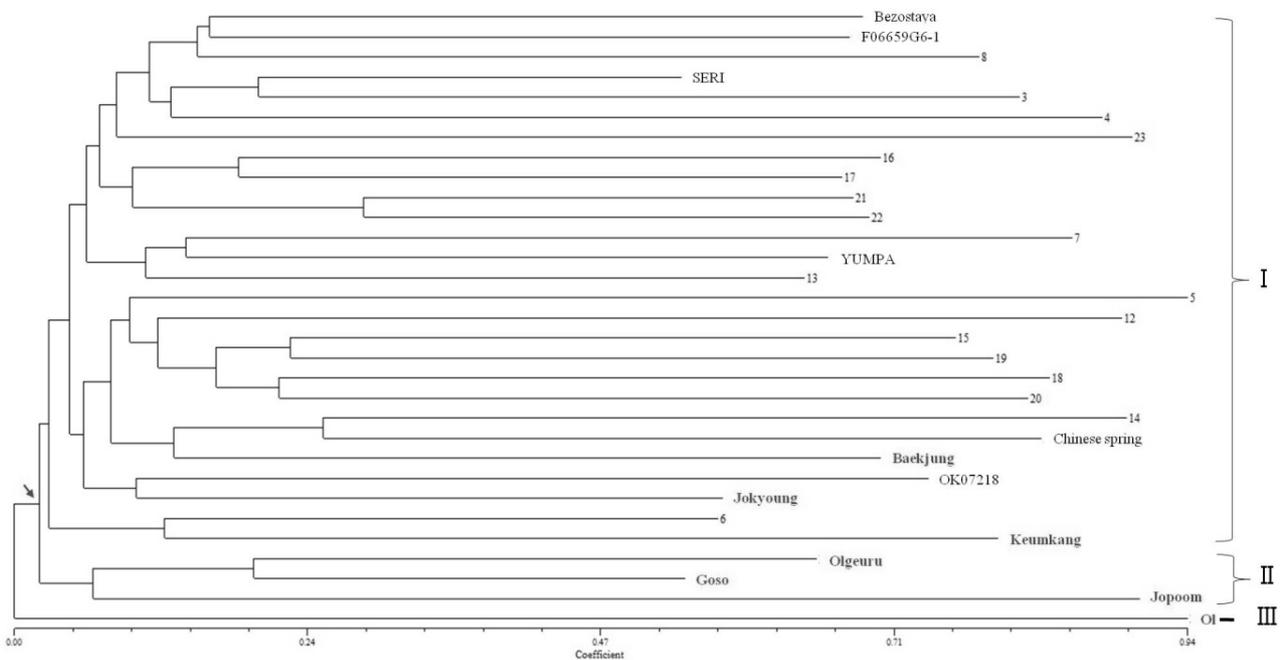


Fig. 2. The dendrogram of the UPGMA of 31 wheat genotypes using 14 SSR markers. Arrow indicates branch point and red letters were Korean wheat cultivar. The numbers indicate the resources from Turkey in Table 1.

원과 금강, 조정, 백중, Chinese spring은 첫 번째(I) 그룹으로 형성되었다(Fig. 2). 국산밀 품종 중 울, 조품, 올그루 등 세 품종은 숙기가 빠른 품종으로서 울은 1966년 영남농업시험장에서 농립72호와 농립12호를 교배하여 육성된 품종으로 출수기와 성숙기가 그루밀보다 2일 빠른 것으로 보고되어 있다(농촌진흥청, 2011). 조품은 1990년 작물시험장에서 관동75호의 교잡종(SW88416-B-0)과 CIMMYT에서 도입된 품종의 F₁과의 교배를 통해 육성된 품종으로 또한 출수기와 성숙기가 그루보다 5~10일로 매우 빠르고 올그루 또한 그루보다 2~5일 빠른 것으로 보고되어 있다(농촌진흥청, 2011). 금강은 빵용, 고소는 과자용으로 용도별로 육성된 품종이다(Nam *et al.*, 1998). 조정과 백중은 각각 2004년과 2007년에 육성된 품종으로 출수기와 성숙기가 우리보다 3~4일 빠른 것으로 보고되어 있다. 이들 품종은 모두 숙기가 단축된 품종으로서 그루보다 출수기와 성숙기가 평균 3~6일 정도 빠른 것으로 보고되어 있다. 그러나 울, 올그루, 조품, 고소는 파성이 II로서 춘파형, 금강, 백중, 조정은 파성이 III형으로 양절형으로 보고되어 있다. 춘파형인 울, 올그루, 조품, 고소 등 4개 품종은 터키에서 분양된 내고온성 자원과 서로 다르게 그룹화 되어 있고, 금강, 조정, 백중 등 3개 품종은 내고온성 자원과 보다 가깝게 연관되어 있는 것으로 나타났다. 이 결과를 통해 밀의 내고온성은 출수기와 성숙기 등의 특성보다 파성과 매우 밀접하게 연관되어 있는 것으로 추측된다.

적 요

밀의 등숙기간, 종자 수, 종자무게와 관련된 SSR 마커 14개를 이용하여 터키에서 분양받은 내고온성 유전자원 23개와 국산밀 품종 7개, Chinese spring 1개 등 31개를 분석한 결과, 전체 86개의 대립유전자(평균 6.14개)가 확인되었다. 평균 PIC 값은 0.64로 나타났다. 다형성 분석을 통한 마커 데이터를 이용하여 계통 분석을 한 결과 크게 세 그룹으로 형성되었다. 올밀이 가장 바깥 그룹으로 형성되었고 올그루, 고소, 조품 등이 터키자원과 다르게 단일 그룹으로 형성되었다. 금강, 조정, 백중 등 세 품종은 터키 자원들과 같은 그룹으로 나타났지만 밀접하게 연관되어 있지는 않은 것으로 나타났다. 국내 품종 중 울, 올그루, 조품, 고소 등 4개와 금강, 조정, 백중 등 3개가 서로 다른 그룹으로 형성되었다. 두 그룹의 차이는 파성 II와 III의 차이로 구별되었다.

사 사

본 연구는 2015년도 농촌진흥청 국립식량과학원 박사후연수과정지원사업(PJ008756012015)과 과제 PJ008756062015에 의해 이루어진 것임.

인용문헌(REFERENCES)

- RDA. 2012. Standard of research and analysis for agricultural technology. pp. 339-365.
- Anderson, J. A., R. W. Stack, S. Liu, B. L. Waldron, P. Langridge, E. S. Lagudah, T. A. Holton, R. Appels, A. D. Fjeld, C. Coyne, B. Moreno-Sevilla, J. M. Fetch, Q. J. Song, P. B. Cregan, and R.C. Froberg. 2001. DNA markers for fusarium head blight resistance QTLs in two wheat populations. *Theor. Appl. Genet.* 102 : 1164-1168.
- Bhullar, S. S. and C. F. Jenner. 1985. Differential responses to high temperature of starch and nitrogen accumulation in the grain of four cultivars of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 12 : 363-375.
- Boyer, J. S. 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218 : 443-448.
- Chen, J. M., X. Xue, D. Cai, K. B. Jensen, and N. J. Chatterton. 1998. Development and characterization of *Elymus rectisetus* species and accession-specific RAPD markers. In: A. E. Slinkard (ed.), *Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp.* 3 : 98-101. Univ. Extension Press. Univ. of Saskatchewan, Saskatoon.
- Distelfeld, A., C. Uauy, T. Fahima, and J. Dubcovsky. 2006. Physical map of the wheat high-grain protein content gene Gpc-B1 and development of a high-throughput molecular marker. *New Phytol.* 169 : 753-763.
- Gibson, L. R. and G. M. Paulsen. 1999. Yield components of wheat grown under high temperature stress during reproductive growth. *Crop Science* 39(6) : 1841-1846.
- Giroux, M. J. and C. F. Morris. 1997. A glycine to serine change in puroindoline b is associated with wheat grain hardness and low levels of starch surface friabilin. *Theor. Appl. Genet.* 95 : 857-864.
- Hays, D. B., J. H. Do, R. E. Mason, G. Morgan, and S. A. Finlayson. 2007. Heat stress induced ethylene production in developing wheat grains induces kernel abortion and increased maturation in a susceptible cultivar. *Plant Sci.* 172 : 1113-1123.
- Houghton, J., Y. Ding, D. Griggs, M. Noguer, P. van der Linden, X. Dai, K. Maskell, and C. Johnson. 2001. IPCC. Climate Change, The scientific basis. Contributions of working group I to the third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge: Cambridge University Press pp. 1-182.
- Lande, R. and R. Thompson. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*

- 124 : 743-756.
- Liu, B. H. 1998. Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis. CRC Press, Boca Raton.
- Mason, R. E., S. Mondal, F. W. Beecher, A. Pacheco, B. Jampala, A. M. H. Ibrahim, and D. B. Hays. 2010. QTL associated with heat susceptibility index in wheat (*Triticum aestivum* L.) under short-term reproductive stage heat stress. *Euphytica* 174(3) : 423-436.
- McCouch, S. R., S. Temnykh, A. Lukashova, and J. Coburn. 2001. Microsatellite Markers in Rice: Abundance, Diversity and Applications. In: Rice Genetics IV. International Rice Research Institute (IRRI), Manila pp. 117-135.
- Mclauchlan, A., F. C. Ogonnaya, B. Hollingsworth, M. Carter, K. R. Gale, R. J. Henry, T. A. Holten, M. K. Morell, L. R. Rampling, P. J. Sharp, M. R. Shariflou, M. G. K. Jones, and R. Appels. 2001. Development of PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Aust. J. Agric. Res.* 52 : 1409-1416.
- Naghavi, M. R., M. Mardi, S. M. Pirseyedi, M. Kazemi, P. Potki, and M. R. Ghafari. 2007. Comparison of genetic variation among accessions of *Agilopstaushii* using AFLP and SSR markers, *Genet Resour. Crop. Evol.* 54 : 237-240.
- Nam, J. H., H. S. Song, H. H. Park, H. Y. Heu, M. W. Park, K. H. Park, C. W. Rho, S. Y. Nam, J. I. Ju, C. B. Park, Y. S. Lee, S. G. Park, and D. H. Kim. 1998. A new high milling, early maturing, semi-dwarf and white grain wheat variety "Keumkangmil" with good bread quality. *RDA. J. Crop Sci.* 40(2) : 81-87.
- Prins, R., J. Z. Groenewald, G. F. Marais, J. W. Snape, and R. M. D. Koebner. 2001. AFLP and STS tagging of Lr19, a gene conferring resistance to leaf rust in wheat. *Theor Appl. Genet.* 103 : 618-624.
- Rohlf, F. J. 1998. NTSYS-PC. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.00. Exeter Software, Setauket, NY.
- Sadat, S., K. A. Saeid, M. R. Bihmta, S. Torabi, S. G. H. Salekdeh, and G. A. L. Ayeneh. 2013. Marker assisted selection for heat tolerance in bread wheat. *World Applied Sciences Journal* 21(8) : 1181-1189.
- Salem, K. F. M., A. M. El-Zanaty, and R. M. Esmail. 2008. Assessing diversity using morphological characters and microsatellite markers. *World J. Agric. Sci.* 4(5) : 538-544.
- Sharp, P. J., S. Johnston, G. Brown, R. A. McIntosh, M. Pellota, M. Carter, H. S. Bariana, S. Khatkar, E. S. Lagudah, R. P. Singh, M. Kairallah, R. Potter, and M. G. K. Jones. 2001. Validation of molecular markers for wheat breeding. *Aust. J. Agric. Res.* 52 : 1357-1366.
- Temnykh, S., G. DeClerck, A. Lukashova, L. Lipovich, S. Cartinhour, and S. McCouch. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon association, and genetic marker potential. *Genome Res.* 11 : 1441-1452.
- Wardlaw, I. F., I. A. Dawson, P. Munibi, and R. Fewster. 1989. The tolerance of wheat to high temperatures during reproductive growth. I. Survey procedures and general response patterns. *Aust. J. Agr. Res.* 40 : 1-13.
- Yang, J., R. G. Sears, B. S. Gill, and G. M. Paulsen. 2002. Quantitative and molecular characterization of heat tolerance in hexaploid wheat. *Euphytica* 126 : 275-282.
- Zeb, B., I. Ahmad Khan, S. Ali, S. Bacha, S. Mumtaz, and Z. A. Swati, 2009. Study on genetic diversity on Pakistani wheat varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *Afr. J. Biotechnol.* 8(17) : 4016-4019.
- Zhang, W. and C. Smith. 1992. Computer simulation of marker-assisted selection utilizing linkage disequilibrium. *Theor. Appl. Genet.* 83 : 813-82.