

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در خانواده‌های F_3 جو با استفاده از

نشانه‌های SSR و ISSR

زینب تقی‌زاده^۱، حسین صبوری*^۲، حسین حسینی‌مقدم^۳، حسین علی فلاحی^۴، مهناز کاتوزی^۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۹

تاریخ تصویب: ۹۶/۹/۲۶

چکیده

به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در ۱۰۳ خانواده نسل F_3 جو حاصل از تلاقی والد بادی و کویر آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد. برای تهیه نقشه پیوستگی از ۶۹ آلل ISSR و ۷ نشانگر SSR چند شکل استفاده شد که ۶۹۸ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را پوشش داد. از میان QTL‌های شناسایی شده برای صفات مذکور $qSW-3$ در فاصله نشانگرهای (ISSR29- $qSW-4$ ، 7-ISSR31-5) پیوسته به نشانگر (ISSR20-1) $qSW-4$ در فاصله نشانگرهای (ISSR131-1-ISSR16- $qSW-5$ ، 4) در فاصله نشانگرهای (ISSR47-6-ISSR30-3) $qSW-6$ در فاصله نشانگرهای (ISSR48-5-ISSR47- $qSW-6$ ، 7) در فاصله نشانگرهای (ISSR22-6-ISSR30-1) $qSW-7$ پیوسته به نشانگر (ISSR48-1) برای صفت وزن سنبله و $qGL-4$ پیوسته به نشانگر ISSR20-1 برای طول دانه به عنوان QTL‌های مؤثر بزرگ اثر شناسایی شدند. پیشنهاد می‌گردد نواحی ژنومی بزرگ اثر در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: جو، مکان‌یابی QTL، نشانگر مولکولی، ISSR

مقدمه

غلات به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بیشترین اهمیت را در تغذیه انسان دارند و در این بین گندم، برنج، ذرت و جو مهم‌ترین نقش را ایفا می‌کنند. جو به عنوان یکی از متداول‌ترین غلات با مصارف علوفه‌ای، تغذیه‌ای و دارویی در مناطق مختلف دنیا کشت می‌شود (Von Bothmer et al., 1995). جو زراعی با نام علمی *Hordeum vulgare* L. یک غله اقتصادی مهم است که در رتبه چهارم غلات تولیدی جهان قرار دارد (Matus & Hayes., 2002).

در ایران، جو از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید در بین غلات پس از گندم در رتبه دوم قرار دارد (ارزانی، ۱۳۷۷). این

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس

۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس،

* نویسنده مسئول (hos.sabouri@gmail.com)

۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس

۴. استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران

۵. دانشجوی دکتری کشاورزی هسته‌ای دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

این مقاله جزئی از پایان نامه دانشجویی می باشد.

گیاه دیپلوئید ($2n=2x=14$) بوده و اندازه ژنوم آن 1.0×10^9 bp/1C است (Ramsay *et al.*, 2000). از زمان کشف قوانین مندل تا به امروز، جو به عنوان یکی از گیاهان مهم در مطالعات ژنتیکی مطرح بوده است. علت استفاده از جو در تحقیقات ژنتیکی، ماهیت دیپلوئیدی، داشتن تعداد کم کروموزوم، خودگشنی، دارا بودن کروموزوم‌های طویل، وجود تنوع ژنتیکی در بین ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی، سهولت انجام دورگ‌گیری، سازگاری و انتشار وسیع جغرافیایی این گیاه است (Slafer *et al.*, 2002).

نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کمی (QTL) یکی از روش‌هایی است که در دهه‌ی اخیر برای مطالعه‌ی ژنتیکی صفات کمی توسعه یافته است. در این روش تفرق هم‌زمان صفت کمی و نشانگرهای ملکولی بررسی می‌شود و در نهایت تعداد ژن‌ها (عوامل مؤثر)، نوع عمل آنها و میزان اثر هر یک برآورد شده، مکان QTL‌ها روی ژنوم شناسایی می‌گردد. از این رو، می‌توان از نتایج آن در گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود (Darvasi *et al.*, 1993).

در آزمایشی به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده عملکرد و اجزای عملکرد در ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب نسل F13 جو حاصل از تلاقی دو والد Azumamugi و Nakate Gold Kanto با استفاده از ۶۲ نشانگر AFLP، ۳۴ نشانگر STS، دو نشانگر ایزوزایم و دو نشانگر مورفولوژیک یک QTL برای وزن هزار دانه در فاصله‌ی نشانگرهای vrs1 و MWG503 با توجیه ۳۷ درصد از تغییرات فنوتیپی و نیز دو QTL برای عملکرد دانه با توجیه ۱۰ و ۱۳ درصد از واریانس فنوتیپی در فاصله‌ی نشانگرهای e13m23.6 و e13m31.7.1 و نشانگرهای vrs1 و MWG 503 شناسایی شدند (شاهین‌نیا و همکاران، ۱۳۹۴).

باقی‌زاده و همکاران (Baghizadeh *et al.*, 2007) با مطالعه‌ی ۹۰ جمعیت F_3 در گیاه جو، برای هفت صفت زراعی، ۲۸ عدد QTL شناسایی کردند و واریانس توجیه‌شده به‌وسیله‌ی این QTL‌ها از ۱۲/۵ تا ۴۸/۹ درصد متغیر بود.

پیغمبری و همکاران (Peighambari *et al.*, 2005) با استفاده از ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف جو، ۲۳ عدد QTL شناسایی نمودند که صفات زراعی را کنترل می‌کردند. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده به‌وسیله‌ی این QTL‌ها از ۱۱/۹ تا ۶۱/۱ درصد متغیر بود. ماری و همکاران (Marri *et al.*, 2005) از لاین‌های بک کراس پیشرفته برای مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با عملکرد دانه استفاده نمودند و تعداد ۳۹ QTL برای ۱۳ صفت زراعی شناسایی کردند. در یک بررسی در جمعیت لاین‌های نوترکیب گندم نان ده، QTL شناسای شده برای صفت وزن هزار دانه واقع بر کروموزوم‌های ۱D، ۲B، ۲D، ۵B، ۴B و ۵D گزارش شد (Ramya *et al.*, 2010).

هدف از این تحقیق، تهیه‌ی نقشه‌ی پیوستگی نشانگرهای SSR و ISSR در جمعیت F3 حاصل از تلاقی رقم‌های بادیا و کوپر و شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی و تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTL‌ها و پیشنهاد آنها برای گزینش به کمک نشانگر است.

مواد و روش‌ها

به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در جو، آزمایشی با ۱۰۳ خانواده نسل F3 حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر به همراه والدین جمعیت در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس در سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در خطوط یک متری و با فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی‌متر کشت و اجرا شد. بذره‌های مورد استفاده از سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گنبدکاووس تهیه گردید. به منظور ثبت ارزش فنوتیپی خانواده‌ها برای کلیه صفات ۲۰ بوته به‌طور تصادفی از هر واحد آزمایشی برداشت و از میانگین صفات ۲۰ بوته در تجزیه‌ها استفاده شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل: طول دانه (میلی‌متر)، قطر دانه (میلی‌متر)، وزن هزار دانه (گرم)، عملکرد بیولوژیکی (کیلوگرم در هکتار)، طول دوره پر شدن دانه (روز) و وزن تک سنبله (گرم) بود. محل مورد آزمایش، در ۱۰۰ کیلومتری شمال شرق گرگان با طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی قرار داشت. به منظور استخراج DNA، نمونه برگ‌ها از چند بوته هر خانواده و والدین برداشت و به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1994) استخراج گردید. کمیت و کیفیت نمونه‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. برای تهیه نقشه پیوستگی، ابتدا چند شکل والدین با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR و ۲۷ آغازگر ریز ماهواره (SSR) بررسی گردید (جدول ۱) که از این تعداد ۶۹ آلل ISSR و ۷ نشانگر SSR چند شکل برای تهیه نقشه پیوستگی استفاده شد که این نقشه در برگزیده ۶۹۸ سانتی‌مورگان از کل ژنوم با میانگین فاصله ۱۰/۲۶ سانتی‌مورگان در هر مکان نشانگری بود (شکل ۲). بعد از تهیه نقشه ژنتیکی برای مکان‌یابی صفات کمی از برنامه QGene استفاده شد. آستانه LOD برای شناسایی QTL‌ها با استفاده از Permutation test به‌دست آمد. روش نقشه‌یابی مورد استفاده روش فاصله‌ای مرکب (CIM) بود که از نتایج حاصل از این روش در تجزیه پیوستگی و مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه استفاده قرار گرفت و به منظور محاسبه آمار توصیفی داده‌ها، نظیر میانگین، انحراف معیار و همبستگی صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS23 و همچنین تجزیه واریانس صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام گرفت.

جدول ۱: نشانگرهای SSR و ISSR چند شکل مورد استفاده در تهیه نقشه پیوستگی جمعیت F₃ جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر.

چندشکلی	توالی مستقیم / توالی معکوس	کروموزوم	نشانگر
(پلی مورف)	CTCCACGAATCTCTGCACAA/ CACCGCCTCCTCTTTCAC	۱	HVM20
(پلی مورف)	TCCAGCCGAACAATTCTTG/ AGTACTCCCACACCACGTCC	۲	HVM36
(پلی مورف)	GGTCGGTCCCCGGTAGTG/ TCCTGATCCAGAGCCACC	۳	HVM27
(پلی مورف)	GTCGGGCTCCATTGCTCT/ CCGGTACCCAGTGACGAC	۴	HVM67

HVM30	۵	AGTGGGGAATGAGAGAATGG/ TGCTTGTGGGGCATCACAC	(پلی‌مورف)
HVM65	۶	AGACATCCAAAAAATGAACCA/ TGGTAACTTGCCCCCAAAG	(پلی‌مورف)
HVM4	۷	AGAGCAACTACCAGTCCAATGGCA/ GTCGAAGGAGAAGCGGCCCTGGTA	(پلی‌مورف)
HVM49	۷	CTCTATAGGCACGAAAAATTCC/ TTGCACATATCTCTGTGCACA	(منومورف)
HVM33	۳	ATATTAATAAAGGTGGAAAGCC/ CACGCCCTCTCCCTAGAT	(منومورف)
HVBKASI	۲	ATTGGCGTGACCGATATTTATGTTCA/ CAAAACTGCAGCTAAGCAGGGGAACA	(منومورف)
HVM68	۴	AGGACCGGATGTTTATAACG/ CAAATCTTCCAGCGAGGCT	(منومورف)
HVDHN7	۵	TTAGGGCTACGGTTCAGATGTT/ ACGTTGTCTTCGCTGCTG	(منومورف)
HVM5	۷	AACGACGTCGCCACACAC/ AGGAACGAAGGGAGTATTAAGCAG	(منومورف)
HVM60	۳	CAATGATGCGGTGAACTTTG/ CCTCGGATCTATGGGTCCTT	(منومورف)
HVM70	۱	CCGCCGATGACCTTCTC/ ACCCACGACCTATGGCAC	(منومورف)
HVM74	۶	AGGAAGTCATTGCGTGAG/ TGATCAAGAATGATAACATGG	(منومورف)
HVLEU	۵	TTGGAAGTGTACAGCAATGGAG/ TGAAAGGCCCCACAAGATAG	(منومورف)
HVM51	۷	TCTAAATTACCTTCCAGCCA/ AAAGCAGACATGTAGGAGGTCA	(منومورف)
HVM43	۱	GGATTTTCTCAAGAACACTT/ GCGTGAGTGCATAACATT	(منومورف)
HVM31	۶	CGGTTTCTGGTTGCTTGG/ CGAAGGTCTCAGGCTTCATG	(منومورف)
HVM9	۳	CTTCGACACCATCACCCAG/ ACCAAAATCGCATCGAACAT	(منومورف)
HVDHN9	۵	CATGGACAAGATCAAGGAGAAG/ CCCATTATTTATCTGTAGGAACGC	(منومورف)
HVM6	۵	CATGAATGAATGATTGGTTTTG/ CGCATCCGTATGTATGAGTAA	(منومورف)
HVM13	۶	/AGTAGCTATGTGTTGGATCGC CATCAAGGGCATCCTCATG	(منومورف)
HVM7	۷	ATGTAGCGGAAAAAATACCATCAT/ CCTAGCTAGTTCGTGAGCTACCTC	(منومورف)
HVM63	۱	CGCGCAAGCATGAATACTC/ ACTCACAAGTGGCGCGTAC	(منومورف)
HVM64	۱	GATGTGAAGGCTGCCCTG/ ACACGCCCTATTACCCAGTG	(منومورف)
ISSR131	-	GAGAGAGAGAGAGAGAA	(۶ باند پلی‌مورف)
ISSR16	-	CTCTCTCTCTCTCTCTG	(۸ باند پلی‌مورف)
ISSR20	-	CTCTCTCTCTCTCTCT	(۴ باند پلی‌مورف)
ISSR22	-	CTCTCTCTCTCTCTCTT	(۷ باند پلی‌مورف)
ISSR29	-	TCTCTCTCTCTCTCTCA	(۷ باند پلی‌مورف)
ISSR30	-	GAGGAGAGAGAGAGAG	(۷ باند پلی‌مورف)
ISSR31	-	GAGAGAGAGAGAGAGA	(۵ باند پلی‌مورف)
ISSR38	-	GGAAGGAAGGAAGGAAGGAAT	(۷ باند پلی‌مورف)
ISSR47	-	CTCCTCCTCCTCCTCCTCG	(۸ باند پلی‌مورف)
ISSR48	-	ACACACACACACACACACTA	(۶ باند پلی‌مورف)

نتایج و بحث

نتایج آماره‌های توصیفی خصوصیات ارزیابی شده نشان می‌دهد که صفات عملکرد بیولوژیکی و وزن هزار دانه از نظر میانگین، واریانس و انحراف استاندارد دارای مقادیر بالاتری بودند (جدول ۲). توزیع فراوانی فنوتیپی صفات ارزیابی‌شده در خانواده‌ها و

والدین نیز برای کلیه خصوصیات خانواده‌ها متفاوت از والدین و تفرق فنوتیپی قابل ملاحظه نشان داد. انجام آزمون‌های چولگی و کشیدگی در جمعیت F3 نشان می‌دهد که توزیع فنوتیپی صفات مورد مطالعه به‌جز طول دانه و وزن سنبله، پیوسته و نرمال بودند و هیچ‌کدام از آماره‌های چولگی و کشیدگی معنادار نبودند که این موضوع ممکن است دلیلی بر وجود وراثت کمی برای صفات مورد مطالعه باشد (شکل ۱). برای صفات طول دانه و وزن سنبله از تبدیل لگاریتمی استفاده شد. همچنین برای آزمون‌های مکان‌یابی صفات کمی از روش حداکثر درست‌نمایی استفاده شد. تعدادی از نتایج F3، ارزش‌های فنوتیپی خارج از محدوده والدینی را نشان دادند که شاید نشان‌دهنده پدیده تفکیک متجاوز باشد که دلیل آن احتمالاً وجود آلل‌های متفاوت در دو والد در مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این صفات و دخالت هر دو والد در بروز آنها باشد (بهمن کار و همکاران ۱۳۹۲).

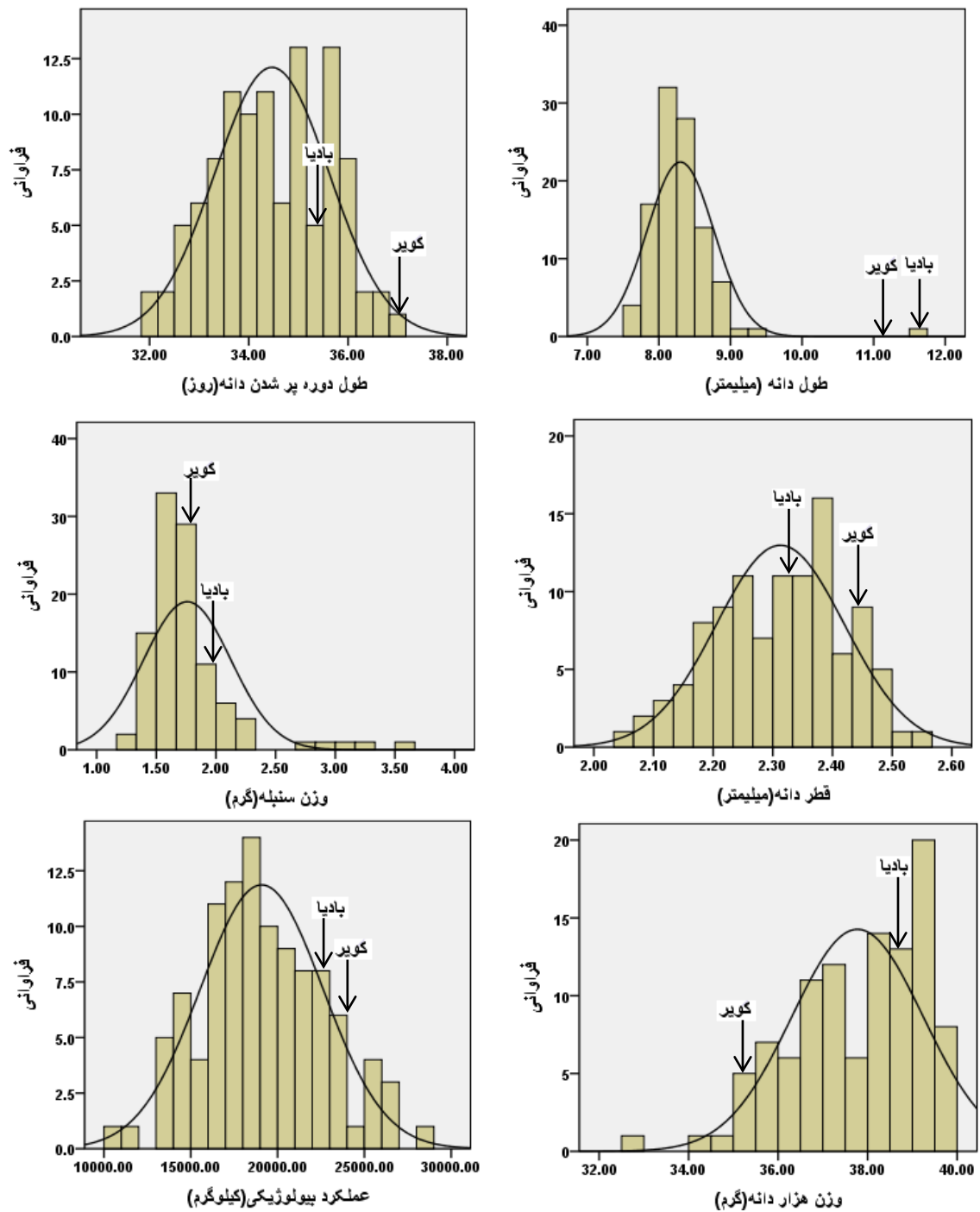
جدول ۲: آمار توصیفی مربوط به صفات مورد مطالعه در جمعیت F3 حاصل از تلاقی ارقام × کویر.

صفات	میانگین	انحراف استاندارد	واریانس	ضریب پراکندگی	چولگی	کشیدگی
وزن هزار دانه	۳۷/۷۷	۱/۴۶	۲/۱۵	۰/۳۸	-۰/۷۲ ^{ns}	۰/۴۷ ^{ns}
عملکرد بیولوژیکی	۱۹۰۸۰/۹۴	۳۵۲۹/۹۴	۱۲۴۶۰۵۲۰/۲۲	۰/۱۸	۰/۲۰ ^{ns}	-۰/۲۲ ^{ns}
طول دانه	۸/۳۰	۰/۴۶	۰/۲۱	۰/۰۵	۳/۷۱*	۲۵/۶۱*
قطر دانه	۲/۳۱	۰/۱۰	۰/۰۱	۰/۰۴	-۰/۱۷ ^{ns}	-۰/۶۹ ^{ns}
وزن تک سنبله	۱/۷۵	۰/۳۶	۰/۱۳	۰/۲۰	۲/۷۱*	۹/۱۴*
طول دوره پر شدن دانه	۳۴/۴۶	۱/۱۵	۱/۳۳	۰/۰۳	-۰/۰۵ ^{ns}	-۰/۷۷ ^{ns}

بررسی اختلاف بین والدین در خصوصیات ارزیابی شده نشان می‌دهد که والد کویر از میانگین بالاتری برای خصوصیات طول دوره پر شدن دانه، عملکرد بیولوژیکی و قطر دانه در مقایسه با والد بادیا برخوردار است. این امر نشان می‌دهد که والدین از نظر ژن‌های کنترل‌کننده صفات مزبور متفاوت هستند. علاوه بر این، مبین ماهیت کمی صفت بوده و به معنای آن است که آلل‌های افزایش‌دهنده و کاهش‌دهنده مقدار صفات، هم‌زمان در هر کدام از دو والد حضور دارند. از میان صفات مورد بررسی صفت وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیکی بیشترین ضریب پراکندگی نسبت به سایر صفات را داشتند.

بررسی نتایج حاصل از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب در مجموع ۲۳ QTL مرتبط با صفات مورد مطالعه شناسایی گردید (شکل ۲). برای طول دانه و وزن تک سنبله هشت QTL و برای صفت وزن هزار دانه و طول دوره پر شدن دانه سه QTL و در نهایت برای قطر دانه و عملکرد بیولوژیکی یک QTL مورد شناسایی قرار گرفت. جایگاه کروموزومی برخی از QTL‌ها مشترک بود؛ بدین ترتیب که در گروه‌های پیوستگی سه، چهار و پنج QTL‌های مشترک برای وزن هزار دانه و وزن سنبله و در گروه‌های پیوستگی چهار و پنج QTL‌های مشترک برای وزن سنبله و طول دانه شناسایی شدند. برخی از نشانگرهای شناسایی شده دارای پیوستگی شدید با QTL‌ها بودند. نشانگرهای ISSR20-1، HVM4 و ISSR48-1 دارای پیوستگی شدید با QTL‌های وزن سنبله، طول دانه و طول دوره پر شدن دانه به ترتیب با فاصله ۶۸، ۶۶ و ۸ سانتی‌مورگان بودند و به عنوان نشانگرهای پیوسته

معرفی شدند که می‌توان از آنها در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر پس از تعیین اعتبار در جمعیت‌ها و محیط‌های مختلف استفاده کرد. وقتی نشانگرهای ژنتیکی احاطه‌کننده یک QTL موجود باشند، آنگاه انتخاب بر اساس نشانگرها، انتخاب بر اساس ژنوتیپ خواهد بود و پاسخ به گزینش به حداکثر خود می‌رسد (Dudley, 1997).



شکل ۱: توزیع فراوانی فنوتیپی صفات زراعی در خانواده‌های F_3 جو حاصل از تلاقی بادیا × کویر.

از نشانگرهای مجاور با پیوستگی قوی با این QTLها می‌توان به منظور انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود، اما برای نشانگرهایی که فاصله بیشتری از این QTLها دارند، ابتدا باید نقشه پیوستگی اشباع شده جمعیت تهیه شود تا از نشانگرهای با فاصله بسیار نزدیک با آنها بتوان به طور مؤثر در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود. دامنه LOD برای QTLهای شناسایی شده بین ۲/۰۱ درصد برای طول دانه تا ۸/۱۹ درصد برای وزن سنبله متغیر بود (جدول ۳).

(Peighambari *et al.*, 2005) با استفاده از ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف جو، ۲۳ عدد QTL شناسایی نمودند که صفات زراعی را کنترل می‌کردند. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها از ۱۱/۹ تا ۶۱/۱ درصد متغیر بود. (Baghizadeh *et al.*, 2007) با مطالعه ۹۰ جمعیت F3 در گیاه جو، برای هفت صفت زراعی، ۲۸ عدد QTL شناسایی کردند و واریانس توجیه شده به وسیله این QTLها از ۱۲/۵ تا ۴۸/۹ درصد متغیر بود.

برای صفت وزن هزار دانه (جدول ۳) حاکی از تظاهر سه QTL روی کروموزوم‌های سه، چهار و پنج به ترتیب در جایگاه‌های ۶۸، ۱۳۶ و ۴۸ سانتی‌مورگان در مجاورت نشانگرهای ISSR31-5، ISSR16-4 و ISSR30-3 با اثر کاهنده آلل‌های والد کویر با توجیه ۳۱/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی مرتبط با این صفت بود. در یک بررسی با استفاده از ۱۸۷ لاین F9 برنج حاصل از تلاقی Zhenshan97B و IRAT109، برای وزن هزار دانه شش QTL مکان‌یابی گردید که یکی از آنها روی کروموزوم سه قرار داشت و ۴/۶۹ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را کنترل کرد (Zou *et al.*, 2005).

در بررسی دیگری در گندم نان نشانگرهای پیوسته به QTL برای صفت وزن هزار دانه روی کروموزوم‌های ۱A، ۱B، ۲B، ۲D، ۵B، ۵D، ۶D و ۷B شناسایی شد (Mir Drikvand *et al.*, 2015) که با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت. باثوم و همکاران (Baum *et al.*, 2003) برخی QTLهای کنترل‌کننده صفات وزن هزار دانه و عملکرد دانه جو را در مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا) شناسایی کردند. در یک بررسی در جمعیت لاین‌های نو ترکیب گندم نان ده QTL شناسایی شده برای صفت وزن هزار دانه واقع بر کروموزوم‌های ۱D، ۱B، ۲B، ۲D، ۵B، ۴B و ۵D گزارش گردید (Ramya *et al.*, 2010) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت.

QTLهای طول دانه به ترتیب روی کروموزوم‌های سه، چهار، پنج، شش و هفت شناسایی شدند (جدول ۳). از این میان، qGL-4 روی کروموزوم چهار، پیوسته به نشانگر ISSR20-1 به عنوان QTL مهم‌تر شناخته شد؛ به نحوی که قادر به توصیف بیش از ۲۵ درصد از واریانس فنوتیپی طول دانه بود. برآورد اثر افزایشی QTLها نشان داد که در qGL-4، آلل‌های والد بادیا باعث افزایش طول دانه شدند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2015) با بررسی ۱۸۲ لاین خالص نو ترکیب F8:9 حاصل از Shannong01-35 × Gaocheng9411 برای طول دانه چهار QTL بر روی کروموزوم 6A و 4B مکان‌یابی کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

ربيعی و همکاران (Rabiei *et al.*, 2004) با استفاده از توده‌های F2 برنج و ۹۹ نشانگر SSR برای صفات طول دانه، عرض دانه و شکل دانه به ترتیب پنج، هفت و شش مکان QTL شناسایی نمودند. هانگ و همکاران (Huang *et al.*, 1997) در مطالعه لاین‌های دابل هاپلوئید برنج با استفاده از نشانگرهای RFLP برای طول دانه و قطر دانه توانستند نه QTL در پنج کروموزوم مختلف با LOD بزرگتر از سه شناسایی نمایند. آنها برای طول دانه چهار QTL در کروموزوم یک، سه و ۱۰ و برای قطر دانه پنج QTL در کروموزوم‌های سه، هفت، نه و ۱۱ مکان‌یابی نمودند.

برای صفت قطر دانه یک QTL شناسایی شد. QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم چهار (qGD-4) واقع در فاصله -ISSR38-1-131-3، با LOD برابر با ۱۰/۲، میزان نه درصد از تنوع فنوتیپی صفت قطر دانه را توصیف نمود. در این QTL، آلل‌های والد بادیا باعث کاهش قطر دانه شدند. سان و همکاران (sun *et al.*, 2010) در پژوهشی با بررسی جمعیتی از ۱۳۲ لاین خالص نوترکیب F۱۲ حاصل از کراس Clark و Ning 7840 در گندم برای قطر دانه شش QTL بر روی کروموزوم 4AL شناسایی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. لی و همکاران (li *et al.*, 2016) ۱۱ QTL برای قطر دانه در گندم بر روی کروموزوم ، 1BL، 2BS، 7AL، 6AL، 6AS، 5AL، 5AS، 4BS، 4AL، 2DL، 3BS مکان‌یابی کردند که QTL مکان‌یابی شده بر روی کروموزوم شماره چهار با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. برای عملکرد بیولوژیکی (جدول ۳) نیز یک QTL با توجیه ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت در فاصله نشانگرهای 5-20-5 و 2-16-2 ISSR شناسایی شد. این مکان با نقش افزاینده آلل‌های والد کویر در کنترل عملکرد بیولوژیکی سهیم بود.

نرجسی و همکاران (Narjesi *et al.*, 2015) به منظور شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی، عملکرد و اجزای عملکرد ۱۷۹ جمعیت اینبرد لاین نوترکیب (RIL) گندم حاصل از تلاقی Karchia × Attila/Kauz در ۱۰ محیط (پنج محیط شور و پنج محیط نرمال) با استفاده از ۱۰ نشانگر ریز ماهواره (SSR) و ۱۰۸ نشانگر (DArT) دو QTL برای عملکرد بیولوژیکی در شرایط نرمال در کروموزوم‌های ۲B و ۷A شناسایی کردند که به ترتیب ۹ و ۶/۵ درصد از واریانس فنوتیپی مربوط به این صفت را توجیه نمود و دو QTL برای وزن سنبله در کروموزوم‌های ۲A و ۶B شناسایی کردند که به ترتیب ۱۲/۴ و ۶/۵ درصد از واریانس فنوتیپی صفت مربوطه را توجیه کرد.

برای طول دوره پر شدن دانه، سه مکان ژنی کمی روی کروموزوم هفت شناسایی شدند. اثر افزایشی مکان‌های مربوط به طول دوره پر شدن دانه از ۲/۱۰- تا ۲۲/۷۶- متغیر بود که آلل‌های والد بادیا باعث کاهش طول دوره پر شدن دانه گردید. مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب توانست (جدول ۳) هشت ناحیه ژنومی را برای کنترل صفت وزن سنبله بر روی کروموزوم‌های سه، چهار و هفت شناسایی نماید. این مکان‌های ژنی (qSW-3، qSW-4، qSW-4، qSW-5، qSW-5، qSW-6، qSW-6 و qSW-7) به ترتیب ۳۰/۷، ۲۵/۲، ۳۲/۸، ۱۴/۵، ۲۷/۴، ۳۰/۴، ۳۰ و ۲۷/۱ درصد از تغییرات این صفت را توجیه کردند و نزدیک‌ترین

نشانه‌ها به این QTLها، به ترتیب نشانگرهای ISSR31-5، ISSR20-1، ISSR16-4، ISSR29-1، ISSR30-3، ISSR48-5، ISSR22-6 و ISSR48-1 بودند که هفت QTL بزرگ اثر مرتبط با این صفت بر روی کروموزوم‌های سه، چهار، پنج، شش و هفت شناسایی شدند که به ترتیب ۳۰/۷، ۲۵/۲، ۳۲/۸، ۲۷/۴، ۳۰/۴، ۳۰ و ۲۷/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت وزن سنبله را توجیه نمودند.

صفت وزن سنبله یکی از اجزای تأثیرگذار در عملکرد به حساب می‌آید. بنابراین خانواده‌های دارای وزن سنبله بیشتر می‌توانند برای رسیدن به ارقام پر عملکرد مطلوب باشند. نواحی ژنومی بزرگ اثر مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد ممکن است در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر برای ایجاد ارقام پر عملکرد مورد استفاده قرار گیرد.

صفات مورد بررسی دارای همبستگی‌های مثبت بودند (جدول ۴). در این بین همبستگی بین قطر دانه و وزن هزار دانه در سطح یک درصد و صفات طول دانه و عملکرد بیولوژیک در سطح پنج درصد معنادار بود.

QTLهای مرتبط با طول دانه، وزن سنبله، وزن هزار دانه و طول دوره پر شدن دانه در جمعیت بادیا × کویر روی هم منطبق بود. امروزه دانشمندان با پیشرفت علوم مهندسی ژنتیک، سعی در انتقال ژن‌های مؤثر از ارقام مفید به ارقام پرمحصول و جدید را دارند. همچنین استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر راه تازه‌ای را در راستای انتخاب ارقام برتر در زمینه‌های مختلف فراهم نموده است. این بررسی با شناسایی qGL-4، qSW-3، qSW-4، qSW-5، qSW-6 و qSW-7 با درصد توجیه بالای تغییرات فنوتیپی، زمینه را برای استفاده از روش‌های مذکور فراهم می‌کند.

جدول ۳: QTL‌های صفات مورد مطالعه در جمعیت F₃ حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر.

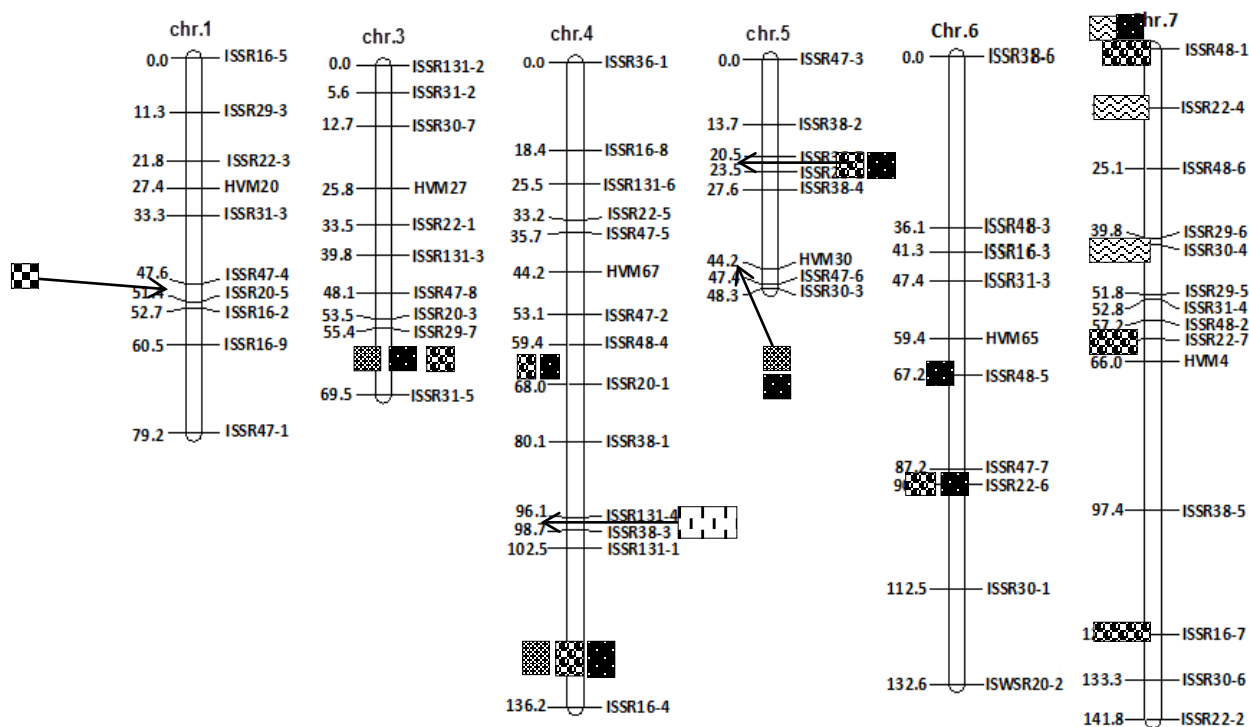
صفت	QTL	نشانه‌های مجاور*	کروموزوم	LOD	موقعیت (سانتی‌مورگان)	اثرافزایشی	ضریب تبیین	جهت آلل
وزن هزار دانه	qT.K.W-3	ISSR29-7-ISSR31-5	۳	۲/۵۰	۶۸	-۰/۹۶	۱۰/۶	کویر
	qT.K.W-4	ISSR131-1-ISSR16-4	۴	۲/۳۲	۱۳۶	-۱/۰۶	۹/۹۰	کویر
	qT.K.W-5	ISSR47-6-ISSR30-3	۵	۲/۵۹	۴۸	-۱۲/۱۹	۱۰/۹	کویر
طول دانه	qGL-3	ISSR29-7-ISSR31-5	۳	۳/۶۲	۶۸	۱/۰۱	۱۵	بادیا
	qGL-4	ISSR20-1	۴	۷/۰۰	۶۸	-۱/۰۹	۲۶/۹	کویر
	qGL-4	ISSR131-1-ISSR16-4	۴	۳/۹۴	۱۳۶	۱/۲۰	۱۶/۲۰	بادیا
	qGL-5	ISSR29-1-ISSR38-4	۵	۳/۱۶	۲۴	-۰/۷۸	۱۳/۲۰	کویر
	qGL-6	ISSR22-6-ISSR30-1	۶	۴/۹۲	۹۲	۲/۳۲	۱۹/۷	بادیا
	qGL-6	ISSR48-1	۷	۴/۲۰	۰	-۰/۸۰۹	۱۷/۱۰	کویر
	qGL-6	HVM4	۷	۲/۷۴	۶۶	۰/۴۸	۱۱/۵۰	بادیا
	qGL-6	ISSR16-7-ISSR30-6	۷	۲/۰۱	۱۲۴	-۸/۳۶	۸/۶۰	کویر
قطر دانه	qGD-4	ISSR38-3-ISSR131-1	۴	۲/۱۰	۱۰۰	-۰/۶۳	۹	بادیا
وزن سنبله	qSW-3	ISSR29-7-ISSR31-5	۳	۸/۱۹	۶۸	۰/۹۷	۳۰/۷۰	بادیا
	qSW-4	ISSR20-1	۴	۶/۴۹	۶۸	-۰/۷۱	۲۵/۲۰	کویر
	qSW-4	ISSR131-1-ISSR16-4	۴	۸/۹۰	۱۳۶	۱/۱۴	۳۲/۸۰	بادیا
	qSW-5	ISSR29-1-ISSR38-4	۵	۳/۵۰	۲۴	-۰/۵۵	۱۴/۵۰	کویر
	qSW-5	ISSR47-6-ISSR30-3	۵	۷/۱۶	۴۸	۱۱/۴۳	۲۷/۴۰	بادیا
	qSW-6	ISSR48-5-ISSR47-7	۶	۸/۱۱	۶۸	۲/۲۷	۳۰/۴۰	بادیا
	qSW-6	ISSR22-6-ISSR30-1	۶	۷/۹۹	۹۲	۱/۹۱	۳۰	بادیا
	qSW-7	ISSR48-1	۷	۷/۰۸	۰	-۰/۶۸	۲۷/۱۰	کویر
طول دوره پر شدن دانه	qGFP-7	ISSR48-1	۷	۳/۰۹	۰	-۲/۱۰	۱۲/۹۰	بادیا
	qGFP-7	ISSR48-1-ISSR22-4	۷	۲/۰۴	۸	-۴/۷۵	۸/۷۰	بادیا
	qGFP-7	ISSR30-4-ISSR29-5	۷	۳/۰۷	۴۲	-۲۲/۷۶	۱۲/۸۰	بادیا
عملکرد بیولوژیکی	qBY-5	ISSR20-5-ISSR16-2	۱	۲/۳۴	۵۲	۲۶۷۳/۰۶	۱۰	کویر

* نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده است، به QTL مربوطه نزدیک‌تر هستند.







جدول ۴- ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در جمعیت F₃ حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر جو.

صفت	وزن هزار دانه	عملکرد بیولوژیکی	طول دانه	قطر دانه	وزن تک سنبله	طول دوره پر شدن دانه
وزن هزار دانه	۱					
عملکرد بیولوژیکی	۰/۰۷	۱				
طول دانه	۰/۱۰	۰/۲۲*	۱			
قطر دانه	۰/۳۱**	۰/۰۰۱	۰/۰۸	۱		
وزن تک سنبله	۰/۰۶	۰/۱۵	۰/۰۶	۰/۰۴	۱	
طول دوره پر شدن دانه	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۱۷	۰/۰۸	۱

* و **: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.



شکل ۲: نقشه ژنتیکی استفاده شده به منظور مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با صفات عملکرد و اجزای آن در جمعیت F_3 حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کویر.

-  وزن هزار دانه
-  عملکرد بیولوژیکی
-  طول دانه
-  قطر دانه
-  وزن سنبله
-  طول دوره پر شدن دانه

نتیجه‌گیری کلی

از بین QTL‌های شناسایی شده، QTL‌های $qSW-3$ ، $qSW-4$ ، $qSW-5$ ، $qSW-5$ ، $qSW-6$ ، $qSW-6$ و $qSW-7$ مربوط به وزن سنبله و $qGL-4$ مربوط به طول دانه به عنوان QTL‌های بزرگ اثر کنترل‌کننده این صفات شناسایی شدند. برخی از نشانگرهای شناسایی شده دارای پیوستگی شدید با QTL‌ها بودند. نشانگرهای دارای پیوستگی شدید با QTL‌های بزرگ اثر می‌توانند پس از تعیین اعتبار در جمعیت‌ها و مکان‌های مختلف در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر برای گزینش

خانواده‌های برتر و نیز انتقال آلل‌های مطلوب به ارقام اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان گنبدکاووس برای همکاری صمیمانه در راستای اجرای طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- ارزانی، ا. (۱۳۷۷) اصلاح گیاهان زراعی. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه اصفهان. ۶۳۰، اصفهان.
- بهمن‌کار، م.، سادات نوری، س. الف. و مرتضویان، س. م. م. (۱۳۹۲) پدیده تفکیک متجاوز (Transgressive Segregation) در به‌نژادی گیاهان زراعی. مجله به‌نژادی گیاهان زراعی، جلد ۲-۱. ص ۱۸۵-۱۷۵.
- شاهین‌نیا، ف.، رضایی، ا.، سیدطباطبایی، ب. ا. و محمدی، ا. (۱۳۹۴)، مکان‌یابی زنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) عملکرد و اجزای عملکرد در لاین‌های جو. مجله به‌نژادی نهال و بذر، جلد ۱-۳۰. ص ۱۰۱-۸۵.
- Baghizadeh, A., Taei, A.R. and Naghavi, M.R. (2007) QTL analysis for some agronomic traits in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Agriculture and Biology*. 2: 372-374.
- Baum, M., Grando, S., Bakes, G., Jahoor, A. and Ceccarelli, S. (2003) QTLs for agronomic traits in the Mediterranean environments identified in recombinant inbred lines of the cross Arta×H. spontaneum. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 1215-1225.
- Darvasi, A., Weintreb, A., Minke, A., Weier, J. and Soller, M. (1993) Detecting marker QTL linkage and estimating QTL gene effect and map location using a saturated genetic map. *Genetics*. 134: 943-951.
- Dudley, J.W. (1997). *Quantitative genetic and plant breeding*. *Advanced Agronomy*. 59: 1-23
- Huang, N., Li, J.Z., Zheng, X.W., Shen, L.S., Lu, C.F., Chen, Y. and Zhu, L.H. (1997) RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown plant hopper resistance in a double haploid rice population. *Molecular Breeding*. 3:105-113.
- Li, Ch., Bai, G., Choo, Sh. Carrer, B. and Wang, Zh. (2016) Single nucleotide polymorphisms linked to quantitative trait loci for grain quality traits in wheat. *The Crop Journal*. 4: 1-11.
- Li, Q., Zhang, Y., Liu, T., Wang, F., Liu, K., Chen, J. and Tian, J. (2015) Genetic analysis of kernel weight and kernel size in wheat (*Triticum aestivum* L.) using unconditional and conditional QTL mapping. *Molecular Breeding*, 35:194-219.
- Marri, P.R.N., Sarla, V., Laxminarayana, R. and Siddiq, E.A. (2005) Identification and mapping of yield and yield related QTLs from an Indian accession of *Oryza rufipogon*. *BMC Genetics*. 6: 33-46.
- Matus, I.A. and Hayes, P.M. (2002) Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome* 45: 1095-1106.

- Mir Drikvand, R., Najafian, G., Bihamta, M.R. and Ebrahimi, A. (2015) Detection of QTLs Associated to Some Grain Traits in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.), Using Association Mapping. Genetic Research. 1: 43-54.
- Narjesi, v., Mardi, m., MajidiHervan, E., Azadi, A., Naghavi, M.R., Ebrahimi, M. and Zali, A.A. (2015) analysis of quantitative trait loci (QTL) for ygrainYield and agronomic traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under normal and salt-Stress conditions. Plant Molecular Biology. 33: 2030-2040.
- Peighambari, S.A., Yazdi Samadi, B., Nabipour, A., Charmet, G. and Sarrafi, A. (2005) QTL analysis for agronomic traits in barley doubled haploids population grown in Iran. Plant Science. 169: 1008-1013.
- Ramsay, L.M., Macaulay, S., Degli Ivanissevich, K., MacLean, L., Cardle, J., Fuller, K.J., Edwards, S., Tuveesson, M., Morgante, A., Massari, E., Maestri, N., Marmioli, T., Sjakste, M., Ganal, W., Powell, R. and Waugh, R. (2000) A simple sequence repeat-based linkage map of barley. Genetics. 156: 1997-2005.
- Rabiei, B., Valizadeh, M., Ghareyazie, B., Moghaddam, M., and Ali, A.J. (2004) Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. Food and Agriculture organization of the United Nations, 137: 325-332.
- Ramya, P., Chaubal, A., Kulkarni, K., Gupta, L., Kadoo, N., Dhaliwal, H.S., Chhuneja, P., Lagu, M. and Gupta, V. (2010) QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Applied Genetics. 51: 421-429.
- Slafer, G.A. Molina Cano, J.L. Savin, R. Araus, J.L. and Romagosa, I. (2002) Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality. Haworth Press, New York, USA, PP: 590.
- Saghai Maroof, M.A., Biyaoshev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W. (1994) Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley species diversity, chromosomal location, and population dynamics. Processing of the Academy of Sciences. 91(12): 5466-5470.
- Sun, X., Marza, F., Ma, H., Carver, B.F. and Bai, G. (2010) Mapping quantitative trait loci for quality factors in an inter-class cross of US and Chinese wheat. Theoretical and applied genetics, 120: 1041-1051.
- Von Bothmer, R., Jacobsen, N., Baden, C., Jorgensen, R.B. and Linde-Laursen, I. (1995) An ecogeographical study of the genus Hordeum. In: Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools, 2nd ed., 129pp., Press Rome, Italy.
- Zou, G.H., Mei, H.W., Liu, H.Y., Liu, G.L., Hu, S.P., Yu, X.Q., Li, M.S., Wu, J.H. and Luo, L.J. (2005) Grain yield responses to moisture regimes in a rice population: association among traits and genetic markers. Theoretical and Applied Genetics. 112: 106-113.