



به‌شادی گسبان زراعی و باغی

دوره ۴ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۵

صفحه‌های ۲۲۷-۲۳۸

انتشار الکترونیکی: بهار ۱۳۹۸

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در جو

عاطفه کاویانی چراتی^۱، حسین صبوری^{۲*}، حسین علی فلاحی^۳، عیسی جرجانی^۴

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.
۲. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.
۳. استادیار پژوهش بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.
۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۲/۲۶

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۳/۲۰

چکیده

به‌منظور نقشه‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده برخی صفات زراعی در جو، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی دانشگاه گنبد کاووس اجرا شد. مواد گیاهی شامل ۱۰۰ خانواده نسل F_۲ جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا× کومینو بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف خانواده‌ها برای کلیه صفات به‌جز وزن سنبله و تعداد سنبله در سنبله در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. برای صفات مورد ارزیابی تفکیک متجاوز مشاهده شد که نشان‌دهنده وجود ترکیبات آللی متفاوت در والدین است. نقشه پیوستگی با استفاده از ۷ نشانگر SSR و ۶۹ آلل چند شکل iPBS تهیه شد که ۶۳۲/۲ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را پوشش می‌داد. در مجموع ۴ QTL برای صفات تعداد بذر جوانه‌زده، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد کل پنجه و وزن سنبله شناسایی گردید. حداکثر تغییرات فنوتیپی توجیه‌شده توسط QTL‌ها ۱۱/۴ درصد بود. بررسی مکان‌های ژنی شناسایی‌شده نشان داد QTL‌های qNS-6، qTT-6 هم‌مکان بودند.

کلیدواژه‌ها: نقشه لینکاژی، نشانگرهای مولکولی، iPBS، QTL.

مقدمه

غلات مهم‌ترین گیاهان زراعی کره زمین و تأمین‌کننده بیش از سه چهارم انرژی و یک دوم پروتئین مورد نیاز بشر بوده، و پایه اصلی تغذیه و بقای بشر هستند [۱]. جو از نظر اقتصادی مهم و دارای مصارف انسانی، دامی و حتی درمانی می‌باشد. یکی از موارد مهم استفاده جو در جهان به‌عنوان مال‌ت و یا غنی کردن محصولات غذایی است [۵].

جو گیاهی خودگشن است که دورگ‌گیری مصنوعی به‌سادگی در آن انجام می‌شود. طبقه‌بندی صفات متعدد در آن به‌آسانی صورت می‌گیرد. تعداد زیادی از این صفات، ارزش اقتصادی ندارند لیکن به‌عنوان ژن‌های نشانگر ممکن است با ژن‌های مهمی که ارزش اقتصادی دارند همبستگی داشته باشند. بنابراین در مطالعات ژنتیکی اهمیت دارند [۶]. به‌علت انتشار وسیع در نقاط مختلف دنیا و تعداد کم کروموزوم ($n=7$) مطالعات ژنتیکی متعددی در جو صورت گرفته است.

نشانگرهای مولکولی به‌علت خنثی بودن و نداشتن آثار مستقیم بر صفت و نیز به‌دلیل عدم تأثیرپذیری از عوامل محیطی، ابزارهای مناسبی برای مکان‌یابی ژن‌های مختلف و گزینش غیرمستقیم برای صفات هدف هستند. در این راستا نشانگرهایی که دارای توزیع ژنومی مناسب هستند ارجحیت بالایی دارند و کارایی استفاده از آنها افزایش می‌یابد [۸]. به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی در ترسیم نقشه‌های پیوستگی به میزان زیادی بر توانایی تجزیه‌های ژنتیکی در سال‌های اخیر افزوده است. نشانگرهای ریزماهواره یا توالی‌های ساده تکراری به دلیل چندشکلی بالا، همباز بودن، مکان کروموزومی مشخص، سادگی و هزینه به نسبت پایین کاربرد زیادی در تهیه نقشه‌های پیوستگی پیدا کرده‌اند [۱۵ و ۱۶]. رتروترانسپوزون‌ها عناصر اصلی متحرک در ژنوم گیاهان هستند و از طریق یک RNA حد واسط در ژنوم جابه‌جا

می‌شوند [۱۳]. همچنین بسیاری از مطالعات توالی‌یابی ژنومی حاکی از توزیع و حضور وسیع رتروترانسپوزون‌ها در نواحی یوکروماتینی و اطراف ژن‌ها است. بنابراین شناسایی نشانگرهای بسیار نزدیک با ژن‌های مهم زراعی با استفاده از این نشانگرها امکان‌پذیر است [۱۷].

مطالعه ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی نقش مهمی در به‌نژادی گیاهان و حیوانات ایفا می‌کند، زیرا بیشتر صفات دارای ارزش‌های اقتصادی مانند عملکرد، از نوع صفات کمی هستند. از آنجایی که به‌طور معمول اثر ژن‌های کمی کوچک است، شناسایی و تعیین دقیق تعداد و محل قرارگیری آن‌ها در ژنوم مشکل بوده بنابراین به جای اصطلاح ژن، از اصطلاح لوکوس صفت کمی (QTLs) برای آن‌ها استفاده می‌شود. در واقع QTL به قسمتی از ژنوم گفته می‌شود که روی صفت کمی تأثیر می‌گذارد و به‌طور معمول شامل تعداد زیادی ژن یا مکان‌های ژنی می‌باشد که همه یا بعضی و یا گاهی حتی یکی از آن‌ها به صفت کمی مربوط می‌شوند [۹]. هدف از مکان‌یابی QTLها، تعیین و تشخیص مکان‌هایی در ژنوم است که رابطه معنی‌دار با تغییرات فنوتیپی صفت کمی مورد مطالعه دارند و تحقق این امر پیش نیاز انتخاب به کمک نشانگر (MAS)^۱ برای صفت مورد گزینش است. دستاورد مهم تجزیه QTL تسهیل مطالعه توارث پیچیده صفات کمی همانند توارث صفات مندلی ساده است [۲۷].

در مطالعه‌ای با استفاده از ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Morex × Steptoe، ۲۳ QTL مکان‌یابی شد که سه QTL روز تا گلدهی، چهار QTL روز تا شروع سنبله‌دهی، دو QTL روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، سه QTL ارتفاع بوته، دو QTL طول سنبله، دو QTL تعداد سنبله در بوته، یک QTL تعداد دانه در سنبله، سه QTL وزن هزاردانه، دو QTL درصد پروتئین و یک QTL عملکرد دانه را کنترل

1. Marker Assisted Selection

جو، آزمایشی با ۱۰۰ خانواده نسل F_۳ حاصل از تلاقی ارقام بادیا (والد پدری) و کومینو (والد مادری) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۳-۹۴ در مزرعه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد اجرا شد. از صفات والد بادیا می‌توان به عملکرد بالا و حساس به ورس و والد کومینو عملکرد پایین و مقاوم به ورس اشاره کرد. محل مورد آزمایش در ۱۰۰ کیلومتری شمال‌شرق گرگان و در ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه عرض شمالی قرار داشت. گنبدکاووس زمستان به نسبت سرد و مرطوب و تابستان گرم و خشک (آب‌وهوای مدیترانه‌ای) دارد. متوسط بارندگی ۱۰ ساله در گنبدکاووس ۴۴۷ میلی‌متر بوده است. بیشتر نزولات جوی در این شهر به‌صورت باران در زمستان و اوایل بهار است.

هر تکرار شامل ۱۰۲ ردیف (۱۰۰ خانواده F_۳ و دو والد) به طول ۱ متر و فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود. کاشت در ۱۹ آبان به‌صورت دیم انجام شد. صفات تعداد بذرها، جوانه زده، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد کل پنجه، وزن سنبله، وزن هزاردانه، تعداد سنبلچه در سنبله و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند. تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۲۳ و ترسیم نمودارهای توزیع فراوانی صفات و محاسبه ضریب همبستگی فنوتیپی پیرسون با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام گرفت. به‌منظور تخمین وراثت‌پذیری از فرمول (۱) استفاده شد:

$$h^2 = \delta_G^2 / \delta_P^2 \quad (1)$$

که به ترتیب h^2 برآورد وراثت‌پذیری عمومی، δ_G^2 واریانس ژنتیکی و δ_P^2 واریانس فنوتیپی است. همچنین ضریب تنوع ژنتیکی و فنوتیپی از فرمول‌های (۲) و (۳) محاسبه شدند:

$$CV_P = \sqrt{V_P / \bar{X}} \times 100 \quad (2)$$

$$CV_G = \sqrt{V_G / \bar{X}} \times 100 \quad (3)$$

می‌کردند. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده به‌وسیله این QTLها از ۱۱/۹ تا ۶۱/۱ درصد متغیر بود [۲۳]. در پژوهشی دیگر ۹۰ خانواده F_۳ حاصل از تلاقی بین دو ژنوتیپ جو در سه منطقه (Karaj، Kerman، Mean) مورد بررسی قرار گرفتند. نقشه پیوستگی این تلاقی بر اساس ۷۱ نشانگر RAPD ساخته شد. در این مطالعه چهار QTL برای وزن هزاردانه در دو منطقه Kerman و Mean، سه عدد برای طول سنبله در دو منطقه Karaj و Mean، هفت عدد برای ارتفاع گیاه در سه منطقه Karaj، Kerman و Mean، سه عدد برای تعداد سنبلچه در سنبله در هر سه منطقه، شش عدد برای طول ریشک در هر سه منطقه، نه عدد برای تعداد دانه در سنبله در هر سه منطقه، دو عدد برای تعداد سنبله در دو منطقه Karaj و Kerman شناسایی شد که واریانس توجیه‌شده به‌وسیله این QTLها از ۱۲/۵ تا ۴۸/۹ درصد متغیر بود [۶]. در مطالعه دیگری که به‌منظور مکان‌یابی صفات مربوط به خصوصیات سنبله در خانواده‌های F_۳ و F_۴ جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کومینو انجام گرفت، با استفاده از نشانگرهای SSR و iPBS و روش نقشه‌برداری فاصله‌ای مرکب، در مجموع ده QTL شناسایی شد. از QTLهای شناسایی شده دو QTL در کنترل ژنتیکی تعداد دانه در سنبله، سه عدد در کنترل طول سنبله، دو عدد در کنترل تعداد کل سنبله، یک عدد در کنترل وزن کل سنبله، یک عدد در کنترل طول دانه و یک عدد در کنترل قطر دانه دخیل بود [۳]. این پژوهش به‌منظور شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات زراعی و تهیه نقشه پیوستگی با استفاده از نشانگرهای SSR و iPBS بررسی ارتباط QTLهای صفات مختلف با یکدیگر در خانواده‌های نسل F_۳ جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کومینو انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی

به‌منظور مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده صفات زراعی در

کردن و رقیق ساختن با آب دیونیزه (آب فاقد یون) طبق دستورالعمل مربوط، به عنوان ذخیره اصلی در دمای 20°C - نگهداری شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler (BIORAD) ساخت کشور آمریکا، با بلوک ۹۶ تایی برای تیوپ‌های PCR به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر انجام شد.

تهیه نقشه پیوستگی و شناسایی QTL

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTX 17 [۱۹] استفاده شد. بعد از ارزیابی صفات زراعی و صفات کیفی مورد مطالعه، ابتدا آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات (آزمون چولگی و کشیدگی) انجام شد و در صورت معنی دار بودن آن‌ها، تبدیل داده مناسب انجام شد. پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع اشتباهات مربوط به تمام صفات، QTL‌های کنترل‌کننده صفات با استفاده از نرم‌افزار QGENE [۲۲] شناسایی شدند. برای یافتن رابطه بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی و انجام تجزیه QTL، از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب [۲۹] استفاده شد و نقطه‌ای که واجد بالاترین مقدار LOD بود به عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد. آستانه LOD برای شناسایی QTL‌ها برابر ۲/۵ و حداقل پوشش ژنومی ۲ سانتی‌مورگان منظور گردید. همچنین نشانگرهای پیوسته با QTL‌های کنترل‌کننده صفات به همراه اثرات ژنتیکی افزایشی و میزان تبیین تغییرات فنوتیپی صفات، توسط هر یک از QTL‌های کنترل‌کننده و با استفاده از الگوریتم EM برآورد شدند. سپس جایگاه دقیق QTL نسبت به نشانگرهای طرفین، برحسب سانتی‌مورگان تعیین شد. نام‌گذاری QTL‌ها براساس [۲۱] ابتدا حرف q، سپس علامت اختصاری صفت به صورت حروف بزرگ نوشته شد و به کمک یک خط تیره از شماره کروموزومی که QTL بر روی آن شناسایی شده بود جدا شد.

CV_g ضریب تنوع ژنتیکی، CV_p ضریب تنوع فنوتیپی، V_p واریانس فنوتیپی، V_G واریانس ژنتیکی و \bar{X} میانگین صفت مورد مطالعه می‌باشد [۲۴].

استخراج DNA ژنومی و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی با آغازگرهای SSR^۱ و iPBS^۲

برای انجام ارزیابی ژنوتیپی، ۳ تا ۴ برگ تازه از هر بوته انتخاب و در یک تکه ورقه آلومینیوم نازک قرار داده شد و در یونولیت حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های برگ‌ی بلافاصله در فریزر 20°C - درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه‌ها به همراه ازت مایع در هاون چینی ساییده شدند و پس از به دست آمدن بافت پودری سفید، به تیوپ ۱/۵ (به مقدار ۴۰ میلی‌گرم) منتقل شدند و برای استخراج DNA در فریزر 20°C - حفظ گردید. در زمان استخراج، نمونه‌ها از فریزر خارج و استخراج DNA به روش CTAB [۱۰] انجام گرفت.

کمیت و کیفیت نمونه‌ها با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. برای تفکیک باندها از ژل آگارز ۱/۵ درصد و ژل اکریلامید ۶ درصد استفاده شد. برای رنگ-آمیزی ژل‌ها از روش نیترا نقره [۷] استفاده شد. از بین ۲۹ نشانگر مورد بررسی، ۷ نشانگر SSR با والدین چندشکلی نشان دادند و انتخاب شدند. به منظور افزایش نشانگر در نقشه، از ۱۰ نشانگر iPBS که دارای محتوای اطلاعات زیادی باشند استفاده شد (جدول ۱). معیار انتخاب آغازگرها برای این تحقیق، به ترتیب میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، میزان هتروزیگوستی و تعداد آلل مشاهده شده بود. آغازگرهای iPBS نیز بر این اساس انتخاب شدند که در تحقیقات قبلی حداکثر تعداد باند و درصد چندشکلی را داشتند. آغازگرهای مورد بررسی، به صورت لیوفیلیزه تهیه گردید و پس از حل

1. Simple Sequence Repeat
2. Inter Primer Binding Site

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در جو

جدول ۱. نشانگرهای SSR و iPBS چندشکل مورد استفاده در تهیه نقشه پیوستگی جمعیت F₃ جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کومینو

وضعیت	توالی آغازگرها	کروموزوم	پرایمر
پلی مورف	CTCCACGAATCTCTGCACAA/CACCGCCTCCTCTTTCAC	۱	HVM20
مونومورف	CCGCCGATGACCTTCTC/ ACCCAGCAGCTATGGCAC	۱	HVM70
مونومورف	GGATTTTCTCAAGAACAATT/GCGTGAGTGCATAACATT	۱	HVM43
مونومورف	CGCGCAAGCATGAATACTC/ACTCACAAGTGGCGCGTAC	۱	HVM63
مونومورف	GATGTGAAGGCTGCCCTG/ACACGCCCTATTACCCAGTG	۱	HVM64
پلی مورف	TCCAGCCGAACAATTTCTTG/AGTACTCCGACACCACGTCC	۲	HVM36
مونومورف	AACCCAGTAACACCGTCCTG/AGTTCCCTGACCCGATGTC	۲	HVM54
مونومورف	ATTGGCGTGACCGATATTTATGTTCA/CAAAACTGCAGCTAAGCAGGGGAACA	۲	HVBKASI
پلی مورف	ATATTAATAAAGGTGAAAGCC/CACGCCCTCTCCCTAGAT	۳	HVM33
مونومورف	CTTCGACACCATCACCCAG/ACCAAAATCGCATCGAACAT	۳	HVM9
مونومورف	GGTCGGTTCGCGGTAGTG/TCCTGATCCAGACCCACC	۳	HVM27
مونومورف	CAATGATGCGGTGAACTTTG/CCTCGGATCTATGGGTCCTT	۳	HVM60
پلی مورف	GTCGGGCTCCATTGCTCT/CCGGTACCCAGTGACGAC	۴	HVM67
مونومورف	AGGACCGGATGTTTATAACG/CAAATCTTCCAGCGAGGCT	۴	HVM68
پلی مورف	AGTGGGAATGAGAGAATGG/TGCTTGTGGGTCATCACAC	۵	HVM30
مونومورف	TTGGAAGTGTACAGCAATGGAG/TGAAAGGCCCCACAAGATAG	۵	HVLEU
مونومورف	CATGGACAAGATCAAGGAGAAG/CCCATTATTTATCTGTAGGAACGC	۵	HVDHN9
مونومورف	CATGAATGAATGATTGGTTTTG/CGCATCCGATGTATGAGTAA	۵	HVM6
مونومورف	TTAGGGCTACGGTTCAGATGTT/ACGTTGTTCTTCGCTGCTG	۵	HVDHN7
پلی مورف	AGACATCCAAAAATGAACCA/TGGTAACTTGCCCCAAAG	۶	HVM65
مونومورف	AGGAAGTCATTGCGTGAG/TGATCAAGAATGATAACATGG	۶	HVM74
مونومورف	CGGTTTCTGGTTGCTTGG/CGAAGCTCTCAGGCTTCATG	۶	HVM31
مونومورف	CGATCAAGGACATTTGGGTAAT/AACTCTTCGGGTTCAACCAATA	۶	HVM14
مونومورف	AGTAGCTATGTGTTGGATCGC/CATCAAGGCATCCTCATG	۶	HVM13
پلی مورف	CTCTATAGGCACGAAAAATTCC/TTGCACATATCTCTCTGTCACA	۷	HVM49
مونومورف	TCTAAATTACCTTCCAGCCA/AAAGCAGACATGTAGGAGGTCA	۷	HVM51
مونومورف	AGAGCAACTACCAGTCCAATGGCA/GTCGAAGGAGAAGCGGCCCTGGTA	۷	HVM4
مونومورف	ATGTAGCGGAAAAAATACCATCAT/CCTAGCTAGTTCGTGAGCTACCTC	۷	HVM7
مونومورف	AACGACGTCGCCACACAC/AGGAACGAAGGGAGTATTAAGCAG	۷	HVM5
-	AACCTGGCTCAGATGCCA	-	2240
-	ACCTAGCTCATGATGCCA	-	2221
-	ACCTAGGCTCGGATGCCA	-	2239
-	CTCACGATGCCA	-	2077
-	GCTCTGATACCA	-	2274
-	CTTCTAGCGCCA	-	2083
-	GCTCCGATGCCA	-	2076
-	CTCATGATGCCA	-	2074
-	ACCTAGCTCATGATGCCA	-	2241
-	ACTTGATGCTGATACCA	-	2231

نتایج و بحث

قبل از تجزیه واریانس توزیع داده‌ها بررسی شد و با استفاده از میزان چولگی و آماره شاپیرو کلیه صفات از توزیع نرمال تبعیت نمودند. با توجه به این که اختلاف بین بلوک‌ها برای هیچ یک از صفات معنی‌دار نبود تجزیه داده‌ها به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات تعداد بذر جوانه‌زده، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد کل پنجه، وزن هزاردانه و عملکرد دانه در بین خانواده‌های مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار دارند که وجود تنوع لازم بین خانواده‌ها برای انجام تجزیه QTL را تأیید می‌نماید (جدول ۲).

توزیع فراوانی فنوتیپی صفات ارزیابیده نشان می‌دهد برای کلیه صفات نمودار به صورت توزیع نرمال بود (شکل ۱) و در رابطه با تمامی صفات مورد مطالعه تفکیک متجاوز در هر دو جهت مشاهده شد که این امر نشان‌دهنده کمی بودن صفات مورد نظر می‌باشد و به معنی آن است که هم آلل‌های افزایشنده و هم کاهشنده صفت در هر دو والد وجود دارد. به عبارت دیگر آلل‌های هر دو والد در ظهور صفت دخالت دارند و در برخی از خانواده‌ها آلل‌های افزایشنده یا کاهشنده بیشتری از والدین وجود دارد و این امر منتج به مقادیر بالاتر و پایین‌تر از والدین شده است (شکل ۱).

واریانس ژنوتیپی، واریانس فنوتیپی، ضریب تنوع ژنتیکی و فنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی صفات در خانواده‌های جو در جدول ۳ ارائه شده است. اطلاعات مربوط به اجزای

واریانس ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات می‌تواند در انتخاب روش‌های به‌نژادی، اندازه جمعیت و شدت گزینش مؤثر باشد. در کلیه صفات ضریب تنوع فنوتیپی بزرگ‌تر از ضریب تنوع ژنوتیپی بود که نشان‌دهنده اثر بیشتر محیط در بروز این صفات بود که نتایج مشابهی توسط پژوهشگران دیگر گزارش شده است [۱۸]. بالاترین ضریب تنوع ژنتیکی را صفت تعداد بذر جوانه‌زده و کمترین ضریب تنوع را صفت تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک داشت. ضریب تنوع صفات نشان می‌دهد که تنوع موجود در صفات مختلف متفاوت است. در برخی صفات تنوع زیاد و در برخی صفات تنوع کمتری وجود دارد. مسلماً هرچه تنوع موجود در صفات مختلف بیشتر باشد انتخاب در آن‌ها منجر به پاسخ به گزینش بهتری خواهد شد [۱۲]. نتایج همبستگی فنوتیپی پیرسون بین صفات مورد مطالعه در جدول ۴ نشان داد که بیشترین ضریب همبستگی (***) ۰/۴۴ بین صفات تعداد بذر جوانه زده و عملکرد دانه بود که همبستگی آن به صورت مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. کم‌ترین ضریب همبستگی (۰/۰۳) بین صفات تعداد کل پنجه و وزن هزاردانه بود. همچنین همبستگی بین وزن سنبله و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (***) ۰/۲۶، عملکرد دانه و وزن سنبله (***) ۰/۳۳ مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. همبستگی بین صفات می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپی ژن، پیوستگی بین ژن‌ها، اثر اپیستازی ژن‌ها، اثرات محیطی و یا ناشی از شانس و تصادف باشد [۲].

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی بر روی خانواده‌های F₃ جو حاصل از تلاقی بادیا × کومینو

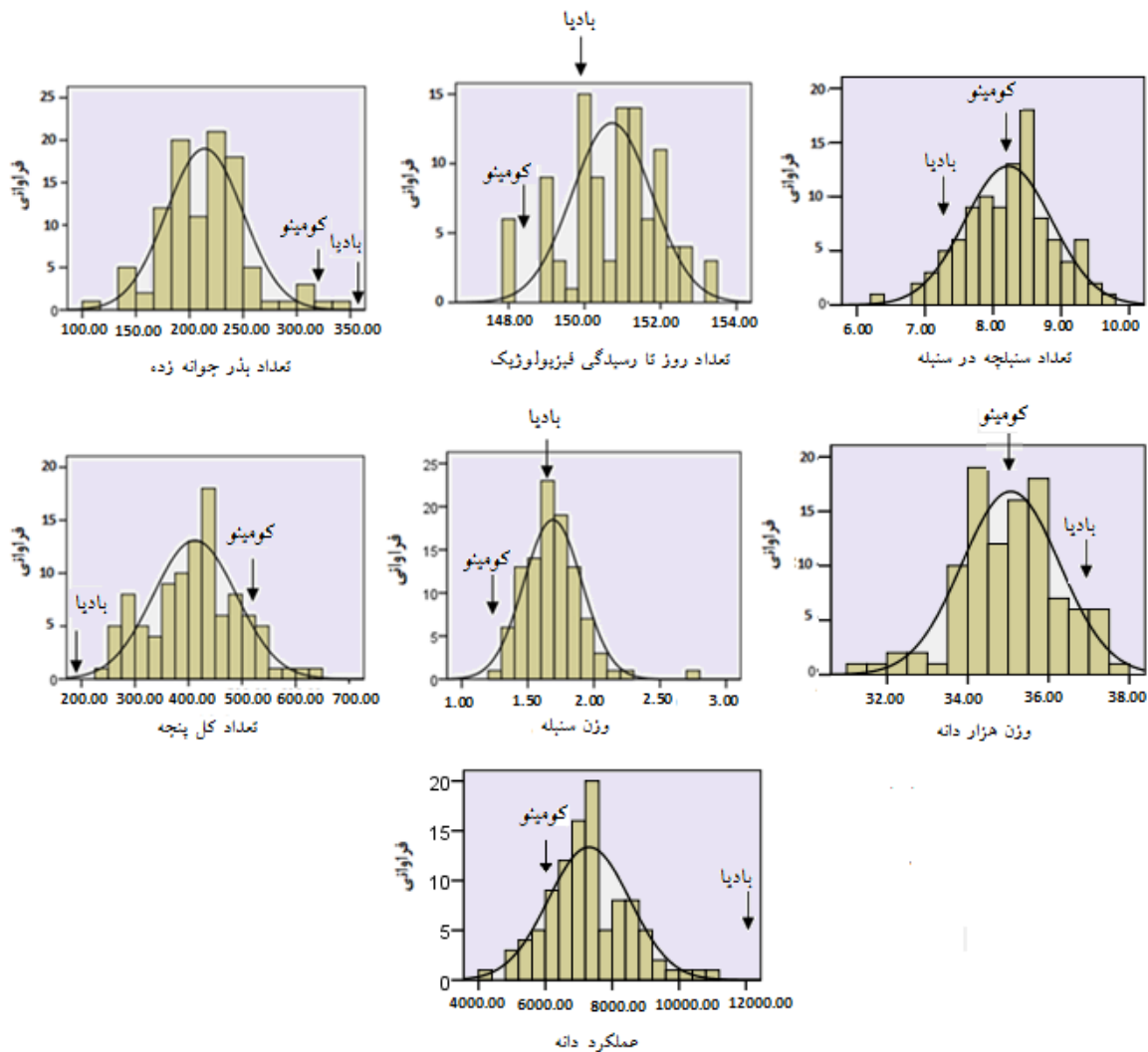
میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییر
تعداد بذر جوانه‌زده	روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	تعداد کل پنجه	وزن سنبله (gr)	تعداد سنبله در سنبله	وزن هزاردانه (gr)	عملکرد دانه (kg/ha)		
۸۴۸۴/۶۰**	۵/۴۸**	۳۱۸۵۱/۷۱**	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۹۸ ^{ns}	۶/۳۷**	۵۵۳۳۹۱۱**	۱۰۱	خانواده
۶۰۷/۰۴	۲/۶۵	۳۶۱۵/۱۹	۰/۱۲	۰/۸۸	۴/۱۷	۲۷۱۲۹۱۲	۲۰۴	خطای آزمایشی
۱۱/۵۱	۱/۰۸	۱۴/۷۳	۲۰/۶۳	۱۱/۴۶	۵/۸۰	۲۲/۵۰	-	ضریب تغییرات

ns، **، *** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و غیرمعنی‌دار است.

به نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۴ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۵

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در جو



شکل ۱. نمودار ستونی صفات زراعی در خانواده‌های F_3 جو حاصل از تلاقی بین $Badia \times Komino$

جدول ۳. وراثت‌پذیری عمومی صفات در نسل F_3 جو حاصل از تلاقی $Badia \times Komino$

صفات	واریانس ژنوتیپی	واریانس فنوتیپی	ضریب تنوع ژنتیکی	ضریب تنوع فنوتیپی	وراثت‌پذیری عمومی
تعداد پدزهای جوانه زده	۲۶۲۵/۸۵	۸۴۸۴/۶۰	۲۳/۸۲	۴۲/۸۲	۳۰/۹۴
تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	۰/۹۴	۵/۴۸	۰/۶۴	۱/۵۵	۱۷/۲۱
تعداد کل پنجه	۹۴۱۲/۱۷	۳۱۸۵۱/۷۱	۲۳/۶۴	۴۳/۴۹	۲۹/۵۴
وزن سنبله	۰/۰۰۶	۰/۱۴	۴/۶۱	۲۲/۲۷	۴/۷۱
تعداد سنبله در سنبله	۰/۰۳	۰/۹۸	۲/۱۰	۱۲/۰۴	۳/۰۶
وزن هزاردانه	۰/۷۳	۶/۳۷	۲/۴۳	۷/۲۰	۱۱/۵۱
عملکرد دانه	۹۰۶۹۹۹/۶۶	۵۵۳۳۹۱۱	۱۳/۰۳	۳۲/۱۹	۱۶/۶۹

جدول ۴. ضرایب همبستگی ساده صفات در نسل F₃ جو حاصل از تلاقی بادیا × کومینو

صفات	تعداد بذره‌های جوانه زده	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	تعداد کل پنجه	وزن سنبله	تعداد سنبلچه در سنبله	وزن هزاردانه	عملکرد دانه
تعداد بذره‌های جوانه زده	۱						
روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	-۰/۲۲*	۱					
تعداد کل پنجه	-۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۱				
وزن سنبله	۰/۰۸ ^{ns}	۰/۲۶**	-۰/۰۶ ^{ns}	۱			
تعداد سنبلچه در سنبله	۰/۰۶ ^{ns}	-۰/۰۷ ^{ns}	-۰/۰۷ ^{ns}	-۰/۱۰ ^{ns}	۱		
وزن هزاردانه	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	-۰/۱۶ ^{ns}	۱	
عملکرد دانه	-۰/۱۸ ^{ns}	۰/۴۴**	۰/۳۳**	-۰/۱۳ ^{ns}	۰/۱۱ ^{ns}	-۰/۰۴ ^{ns}	۱

کروموزوم ۴ (qDM-۴) مکان‌یابی گردید که در فاصله نشانگری ipBS2239-2-ipBS2241-6 قرار داشت و با LOD برابر با ۲/۵۹، ۱۱/۳ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر ۱۲۸/۳۷ بود که جهت مثبت آن نشان می‌دهد که آل‌های افزایش‌دهنده از والد بادیا (والد پدری) به نتاج منتقل شد. در بررسی ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی Steptoe×Morex، دو QTL برای روز تا رسیدگی فیزیولوژیک بر روی کروموزوم 1H، 3H شناسایی شد که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد [۲۳]. در پژوهشی در جو برای صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک دو QTL بر روی کروموزوم 1H و 6H شناسایی شد که ۳۶/۹ و ۶/۸ درصد از واریانس فنوتیپی را به خود اختصاص دادند که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی ندارد [۲۵].

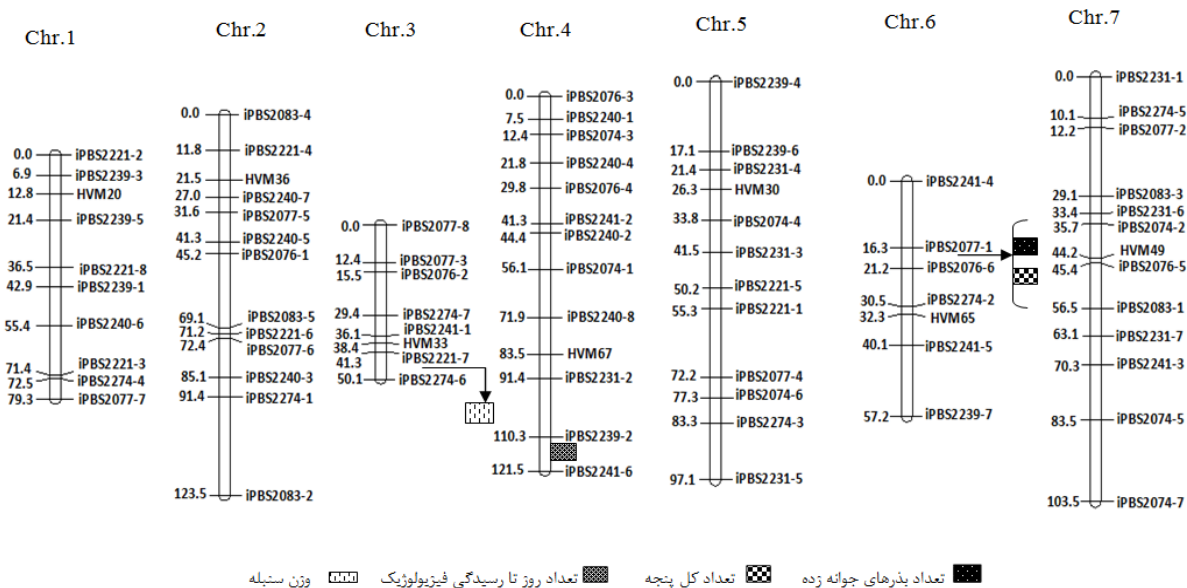
با استفاده از نشانگرهای چندشکل (SSR) ۷ و (۶۹ipBS نقشه پیوستگی جو ترسیم گردید که شامل ۷ گروه پیوستگی بود و ۶۳۲/۲ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را پوشش داد (شکل ۲). مشخصات QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در جدول ۵ نشان داده شده است. در مجموع چهار QTL برای صفات تعداد بذر جوانه‌زده، تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد کل پنجه و وزن سنبله شناسایی گردید. برای صفت تعداد بذر جوانه‌زده یک QTL با LOD ۲/۶۳، بین دو نشانگر ipBS2077-1-ipBS2076-6 مشاهده گردید. این QTL، ۱۱/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر ۵۲/۰۳ بود و والد بادیا (والد پدری) باعث افزایش تعداد بذر جوانه‌زده شد. برای صفت تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، یک QTL روی

جدول ۵. QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در نسل F₃ جو حاصل از تلاقی بادیا × کومینو

صفات	QTL	کروموزوم	موقعیت (cM)	نشانگرهای مجاور†	LOD	اثر افزایشی	ضریب تبیین	جهت آل
تعداد بذره‌های جوانه زده	qNS-6	۶	۱۸	ipBS2077-1-ipBS2076-6	۲/۶۳	۵۲/۰۳	۱۱/۷	بادیا
تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	qDM-4	۴	۱۱۴	ipBS2239-2-ipBS2241-6	۲/۵۹	۱۲۸/۳۷	۱۱/۳	بادیا
تعداد کل پنجه	qTT-6	۶	۱۸	ipBS2077-1-ipBS2076-6	۲/۶۶	۱۵۹/۰۹	۱۱/۴	کومینو
وزن سنبله	qWS-3	۳	۴۲	ipBS2221-7-ipBS2274-6	۲/۳۶	۰/۱۳	۱۰/۳	بادیا
تعداد سنبلچه در سنبله	-	-	-	-	-	-	-	-
وزن هزاردانه	-	-	-	-	-	-	-	-
عملکرد دانه	-	-	-	-	-	-	-	-

†- نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیک‌تر هستند.

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در جو



شکل ۲. نقشه پیوستگی حاصل از نشانگرهای SSR و iPBS در جمعیت F₃ جو حاصل از تلاقی بین Badia × Komino

درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. اثر افزایشی این QTL برابر ۰/۱۳۸ بود که جهت مثبت آن نشان می‌دهد که آلل‌های افزایش‌دهنده از والد بادیا (والد پدری) به نتاج منتقل شد. در پژوهشی در جو برای صفت وزن سنبله سه QTL بر روی کروموزوم 2H و 6H مکان‌یابی شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی ندارد [۲۶]. در پژوهشی دیگر برای صفت وزن سنبله چهار QTL بر روی کروموزوم 5H و 6H مکان‌یابی شد که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد [۲۵]. برای صفات وزن هزاردانه، تعداد سنبلچه در سنبله و عملکرد دانه هیچ QTL مکان‌یابی نشد. البته تعدادی QTL با LOD کمتر از ۲ به‌دست آمد ولی چون احتمال وقوع این QTL کم بود از آن‌ها صرف‌نظر شد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، برای کلیه صفات مورد بررسی تفکیک متجاوز از والدین در جهت مثبت و منفی وجود داشت. در مجموع ۴ جایگاه دارای QTL برای صفات تعداد بذر

در گندم QTL‌هایی برای روز تا رسیدگی در کروموزوم‌های 1B، 3AS و 6B گزارش شد [۲۰]. برای صفت تعداد کل پنجه، یک QTL مکان‌یابی شد که بر روی کروموزوم ۶ در فاصله نشانگری iPBS2077-1 تا iPBS2076-6 قرار داشت. در این QTL آلل‌های والد کومینو (والد مادری) باعث افزایش مقدار این صفت شد. این QTL تنها ۱۱/۴ درصد از واریانس فنوتیپی صفت تعداد کل پنجه را توجیه نمود. برای تعداد پنجه در جو چهار QTL بر روی کروموزوم 1H، 2H و 7H شناسایی شد که LOD آن در محدوده ۳/۷ تا ۵/۶ قرار داشت که با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد [۱۱]. در پژوهشی برای صفت تعداد پنجه سه QTL بر روی کروموزوم 3H، 6H شناسایی شد که ۱۶/۳ تا ۳۰/۶ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود که QTL بر روی کروموزوم ۶ با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت [۱۴]. برای صفت وزن سنبله، یک QTL روی کروموزوم ۳ (qSW-3) مکان‌یابی شد که در فاصله نشانگری iPBS2221-7 تا iPBS2274-6 قرار داشت و با LOD برابر ۲/۳۶، ۱۰/۳

به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۸ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۷

- nitrogen fertilizer. *Agriculture Science Research*. 3(10): 1022-1026.
6. Baghizadeh A, Taeiand AR and Naghavi MR (2007) QTL analysis for some agronomic traits in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*. 2: 372-374.
 7. Bassam BJ, Caetano-Anolles G and Gresshoff PM (1991) Fast and Sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 196: 80-83.
 8. 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.
 9. Doerg RW (2002) Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. *Nature Reviews Genetics*. 3: 43-52.
 10. Doyle JJ and Doyle JL (1990) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19: 11-15.
 11. Eshghi R, Salayeva S, Ebrahimpour F, Rahimi M, Baraty M and Ojaghi J (2013) Advanced-backcross QTL analysis in hullless barley: I. Detection of exotic alleles for yield and yield components introgressed from *Hordeum vulgare ssp. Spontaneum*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*. 5(2): 95-100.
 12. Falconer DS (1989) *Introduction to Quantitative Genetics*. (3rd edition) Longman. New York, 415 pp.
 13. Flavell AJ, Dunbar E, Anderson R, Pearce SR, Hartley R and Kumar A (1992) Ty1-copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. *Oxford Journal*. 20: 3639-3644.
 14. Gerhard H (2002) The search for QTL in barley using a new mapping population. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 7: 523-535.
 15. Goldstein DB and Schlotterer C (2000) *Microsatellites, Evolution and Application*. Oxford University press, New York, 165-182 pp.
 16. Gupta PK and Varshney RK (2000) The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*. 113: 163-185.
- جوانه زده، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، تعداد کل پنجه و وزن سنبله شناسایی گردید. QTL های تعداد بذر جوانه زده (qNS-6) و تعداد کل پنجه (qTT-6) هم مکان بودند. استفاده از QTL های هم مکان پس از تعیین اعتبار در نسل های پیشرفته می تواند موجب افزایش کارایی انتخاب به کمک نشانگر و پیشبرد برنامه های به نژادی گیاهی شود. پیشنهاد می شود جهت مکان یابی دقیق تر QTL ها از نقشه پیوستگی اشباع تری بهره گرفت و به این منظور از تعداد نشانگرهای بیشتری استفاده گردد.
- ### تشکر و قدردانی
- از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گنبد کاووس جهت همکاری صمیمانه در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می گردد.
- ### منابع
۱. امام ی (۱۳۸۶) تولید غلات. جلد سوم، انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز. ۱۹۰ صفحه.
 ۲. فتوکیان م ح (۱۳۸۰) بررسی ژن های کنترل کننده تحمل به شوری و کیفیت دانه در برنج. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. تهران. رساله دکتری.
 ۳. کاویانی چراتی ع، صبوری ح. فلاحی ح. ع. و جرجانی ع (۱۳۹۵) مکان یابی QTL های مرتبط به خصوصیات سنبله با استفاده از خانواده های F₃ و F₄ جو حاصل از تلاقی بادیا و کومینو. پژوهش های ژنتیک گیاهی. ۳(۱): ۲۸-۱۳.
 ۴. یزدی صمدی ب، محمدی و. ا. و عبد میثانی س (۱۳۸۹) به نژادی گیاهان زراعی. مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۴۰۸ صفحه.
 5. Alam MZ, Haider SA and Paul NK (2007) Yield and yield components of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in relation to

17. Kumar A and Bennetzen JL (1999) Plant retrotransposons. Annual Review of Genetics. 33: 479-532.
18. Linge SS, Kalpande HV, Sawargaonkar SL, Hudge BV and Thanki HP (2010) Study of genetic variability and correlation in interspecific derivatives of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp). Plant Breeding. 1: 929-935.
19. Manly KF and Olson JM (1999) Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTL. Mammalian Genome. 10: 327-334.
20. Marza FG, Bai HB, Carver F and Zhou WC (2006) Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning 7840 × Clark. Theoretical and Applied Genetics. 112: 688-698.
21. McCouch SR, Cho YG, Yano M, Paul E and Blinstrub M (1997) Report on QTL nomenclature. Rice Genetic Newsletter. 14: 11-13.
22. Nelson JC (1997) QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. Molecular Breeding. 3(3): 239-245.
23. Peighambari SA, 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.
24. Singh RK and Chaudhary BD (1985) Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis. Kalyani Publishers, Ludhiana, India, 318p.
25. Von Korff M, Grando S, Del Greco A, This D, Baum M and Ceccarelli S (2008) Quantitative trait loci associated with adaptation to Mediterranean dryland conditions in barley. Theoretical and Applied Genetics. 117(5): 653-669.
26. Xue DW, Zhou MX, Zhang XQ, Chen S, Wei K, Zeng FR, Mao Y, Wu FB and Zhang GP (2010) Identification of QTLs for yield and yield components of barley under different growth conditions. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine and Biotechnology). 11(3): 169-176.
27. Zeng ZB (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. Genetics. 136: 1457-1468.



**Breeding of Agronomic
and Horticultural Crop**
(Journal of Agriculture, University of Tehran)

Vol. 4 ■ No. 1 ■ Spring & Summer 2016

QTL mapping of agronomical traits in Barley

Atefeh Kaviani Cherati¹, Hossein Sabouri^{2*}, Hossein Ali Fallahi³, Eisa Jorjani⁴

1. Former M. Sc. Student of Agricultural Biotechnology, Gonbad Kavous University, Iran.
2. Associate Professor, Department of Plant Propduction, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran.
3. Assistance professor, Agronomic and Horticultural Research Department, Research and Education Center of Agriculture and Natural Resources of Mazandaran, Agricultural Extension and Education Research Organization, Sari, Iran.
4. Assistance Professor, Department of Biology, Gonbad Kavous University, Iran.

Received: June 10, 2018

Accepted: March 17, 2019

Abstract

In order to QTL mapping of agronomical traits in barley, experiment was conducted based in a randomized complete block design with three replications at research field of Gonbad Kavous University. Plant materials were 100 families of F₃ barley derived from cross Badia × Komino cultivars. Analysis of variance showed that difference of families all traits except spike weight and spikelet no./spike was positive and significant. Transgressive segregation was observed for all traits indicating the presence of different allele combinations in the parents. Linkage map whit 7 (SSR) markers and 69 polymorphic alleles (iPBS) were prepared which covered 632.2 cM of barley genome. In general, four QTLs were detected for traits number of seedlings, days to maturity, tiller number and spike weight. The maximum percentage of Phenotypic variance (R²) explained by QTLs was 11.4 percent. Review identified genetic locations showed QTLs of qNS-6, qTT-6 were co-localized.

Keywords: Genetic map, iPBS, Molecular markers, QTL.