مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

شناسائی QTLهای موثر در وزن هزار دانه جو با استفاده از نشانگرهای مولکولی

زهرا پریخانی*[1]، بهزاد صادق‌زاده[2]، سید ابوالقاسم محمدی[3]

[1]دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه، ایران.

[2]دانشیار، موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران.

[3]استاد، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۰٤/۰٦، تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۰٤/۲۱

چکیده

این بررسی با هدف نقشه‌یابی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مرتبط با وزن هزار دانه و عملکرد دانه در جو زراعی اجرا گردید. به منظور شناسایی QTLها، یک جمعیت شامل ۱٤۸ هاپلوئید مضاعف (DH) برای صفات وزن هزار دانه و عملکرد دانه در طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه‌ای مطالعه گردید. جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل تلاقی بین رقم اصلاح شده Clipper (با عملکرد بالا) و رقم محلی از الجزایر به نام Sahara3771 (با عملکرد پایین) بود. در این تحقیق ۳۰ نشانگر جدید ISSR به ٤٦٦ جایگاه قبلی روی نقشه پیوستگی جمعیت اضافه گردید. نشانگرها در مجموع ۱٤٦۰ سانتی-مورگان از ژنوم جو را پوشش داده و متوسط فاصله دو نشانگر مجاور ۳ سانتی‌مورگان بود. تجزیه QTL منجر به شناسایی پنج QTL مرتبط با عملکرد دانه (بر روی کروموزوم‌های 5H, 4H, 2H و 6H) شد که این مکان‌ها در مجموع ۵۷ درصد از تنوع فنوتیپی عملکرد را توجیه می‌کردند. QTL واقع بر کروموزوم 2H با ۲۰ درصد بزرگ‌اثرترین QTL بود. برای وزن هزار دانه نیز ۳ عدد QTL شناسایی گردید که QTL واقع بر کروموزوم 2H با ٦۹ درصد بزرگ‌اثرترین QTL بود. شناسایی QTLهای بزرگ‌اثر برای وزن هزار دانه و عملکرد، سودمندی استفاده از مارکرهای مولکولی در نقشه‌یابی ژنی برای صفات وزن دانه و عملکرد دانه را نشان می‌دهد که از این پتانسیل می‌توان برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در آینده‌ای نزدیک در برنامه‌های اصلاح برای بهبود عملکرد جو استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: *عملکرد جو، مکان‌های ژنی صفات کمی (QTL)، نشانگرهای مولکولی.*

* نویسنده مسئول: زهرا پریخانی تلفن: ۰۹۱٤٤۱۲٤٤۲٤ Email: z.parikhani@yahoo.com

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین غلات کشت شده در جهان بوده و سطح زیر کشت آن (٤٧/٥ میلیون هکتار) بعد از گندم، برنج و ذرت در رتبه چهارم قرار دارد (FAO, 2012). در ایران نیز سطح زیر کشت و تولید جو در سال ۲۰۱۱ به ترتیب ۱/٦ میلیون هکتار و ۳/۲ میلیون تن با متوسط عملکرد ۲ تن در هکتار بود، ولی متاسفانه متوسط عملکرد جو در دیمزارها کمتر از ۸۰۰ کیلوگرم می‌باشد (FAO, 2013). از اینرو افزایش عملکرد در واحد سطح از اهم اهداف اصلاحی جو در مناطق دیم بوده و شناسایی پتانسیل و دامنه‌ی تغییرات صفات مرتبط با محصول‌دهی جو ضرورت دارد (Ray *et al*., 2000). عملکرد دانه صفتی با کنترل ژنتیکی پیچیده بوده و شدیداً تحت تاثیر شرایط محیطی می‌باشد. بنابراین، مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده عملکرد دانه و اجزای آن نظیر وزن هزار دانه از اهداف و چالش‌های اصلی برنامه‌های بهنژادی جو می‌باشد. ابداع و توسعه نشانگرهای مولکولی و تهیه نقشه‌های ژنتیکی در جو، مکان-یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی را فراهم و استفاده از آنها را در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر (MAS) امکان‌پذیر کرده است (Babu *et al*., 2004; Collard *et al*., 2005). در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن صورت گرفته است. در برخی مطالعات QTLهای متعددی برای عملکرد دانه جو مکان‌یابی شده که بطور غیریکنواخت در کل ژنوم توزیع شده‌اند. در پژوهشی Cakir et al. (2003) در یک جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی دو رقم جو Kaputar و Tallon با استفاده از ۲۲٤ نشانگر AFLP و ۳۹ نشانگر SSR، برای عملکرد دانه QTLهایی را روی کروموزوم‌های 2H، 3H و 5H شناسایی کردند که نواحی واقع بر کروموزوم‌های 2H، 3H تقریبا ۳۰ درصد و 5H تقریبا ۲۵ درصد از تغییرات عملکرد دانه را تبیین می‌کردند. همچنین در پژوهشی Cuesta- et al Marcos (2009) در یک جمعیت متشکل از ۱۲۰ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی دو رقم جو Beka و Mogador با استفاده از ۲۱۵ نشانگر از جمله RFLP و RAPD مکان‌های ژنومی موثر بر عملکرد دانه را روی کروموزوم‌های 3H، 5H و 7H شناسایی کرده‌اند که ٤۰٪ از تغییرات عملکرد دانه را تبیین می-کردند. همچنین Daghaghelh et al (2016) با استفاده از خانواده‌های F۳ و F٤ حاصل از تلاقی بیچر و کویر در جو با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR تعداد15 QTL را برای صفات مرتبط با عملکرد مکان‌یابی نمودند که در نسل F٤ به ترتیب QTLهای بزرگ اثر با ضریب تبیین ۱۲/۲ و ۱۵ شناسایی شدند. در بررسی دیگر Von et al. Korff (2006) در یک جمعیت BC_2DH مشتق شده از تلاقی رقم بهاره Scarlett با جو وحشی ISR42-8 (*Hordeum vulgare ssp.*

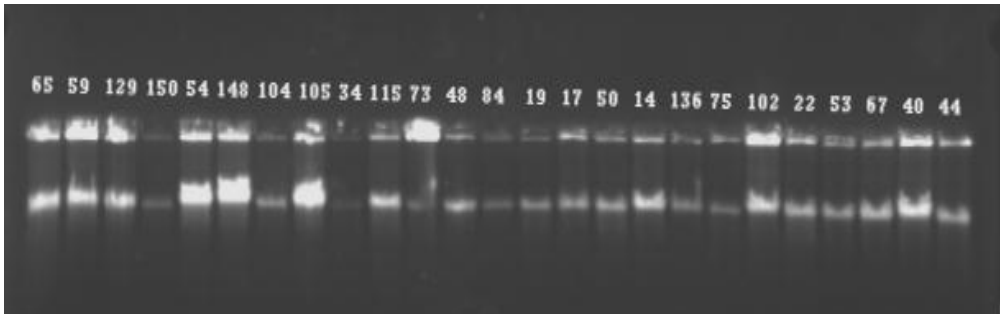
Journal of Agricultural Biotechnology; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

spontaneum) بر اساس تجزیه AB-QTL، ۱۳ عدد QTL را برای عملکرد دانه روی هفت کروموزوم جو مکان‌یابی کردند. در این مطالعه، آلل‌های مطلوب در سه جایگاه QTL از والد وحشی به نتاج منتقل شده بودند. در بین آلل‌های مطلوب شناسایی شده در این QTLها، بیشترین افزایش مربوط به QYid.S42-4H.a (۷٪) بود. مکان ژنی QYid.S42-3H.a بیشترین واریانس ژنتیکی عملکرد را تبیین کرد. وزن هزار دانه از جمله اجزای مهم عملکرد دانه بوده و با عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد (Garcia *et al.*, 2003). در پژوهشی Shahinnia et al. (۲۰۱۴) در یک جمعیت متشکل از ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب نسل F13 جو حاصل از تلاقی دو والد Kanto Nakate Gold و Azumamugi با استفاده از ۱۰۰ نشانگر از جمله AFLP و STS تعداد ۲ نشانگر آیزوزایم و ۲ نشانگر مورفولوژیک و یک QTL اصلی در فاصله نشانگرهای vrs-1 و MWG-503 واقع بر کروموزوم 2H را شناسایی کرده‌اند که ۳۷٪ از تغییرات فنوتیپی را تبیین می‌کرد. مکان ژنی vrs-1 به عنوان اصلی‌ترین مکان تعیین کننده فنوتیپ تعداد ردیف در جو است، بنابراین در افزایش تعداد دانه و یا وزن دانه نقش دارد. تجمع QTLهای کنترل کننده خصوصیات زراعی در ارتباط با عملکرد و مکان ژنی vrs-1 در این پژوهش نیز مؤید همین موضوع است (Kicherer *et al.*, 2000). با توجه به پیچیدگی صفات وزن دانه و عملکرد دانه لازم است این قبیل مطالعات در جمعیت‌های مختلف و در شرایط محیطی مختلف اجرا شوند تا در نهایت بتوان QTLهای پایدار و نیز بزرگ‌اثر را برای این قبیل صفات شناسایی کرده و به هدف نهایی انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های اصلاح جو نایل شد. از اینرو این تحقیق بر روی جمعیت هاپلوئید مضاعف متفاوت و در شرایط کنترل شده با هدف مکان‌یابی QTLهای مرتبط با عملکرد و وزن هزار دانه اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل ۱٤۸ لاین هاپلوئید مضاعف جو، حاصل از تلاقی ارقام Sahara 3771 و Clipper می‌باشد. رقم Clipper (والد مادری) دارای رقم اصلاحی دو ردیفه با عملکرد بالااست، ولی رقم پدری (Sahara3771) بومی الجزایر و شش ردیفه بوده و از عملکرد پایینی برخوردار است. که به عنوان یک رقم تجاری از سال ۱۹٦۸ تا اواسط سال ۱۹۸۰ در استرالیا کشت می‌شد. جمعیت حاصل در دانشگاه آدلاید استرالیا تهیه و توسط دانشگاه استرالیای غربی در اختیار قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز قرار داده شده است (Sadeghzadeh, 2008). برای ارزیابی فنوتیپی، جمعیت هاپلوئید مضاعف به همراه والدین در گلدانهای به ابعاد ۷۰×۷۰×۲۰۰ میلیمتر و حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک شنی فقیر از لحاظ مواد غذایی با pH=٦/۱، ۱/۲ درصد مواد آلی، ۳/۳ میلی گرم در کیلوگرم فسفر، ۰/۰٤ میلی گرم در کیلوگرم روی کشت گردیدند. آزمایش در قالب طرح پایه

کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تا رسیدگی کامل مواد غذایی لازم شامل KH2PO4=۹، K2SO4=۱٤٥، ZnSO4.7H2O =۰/۸۰، MgSO4.7H2O=۲۱، CuSO4.5H2O=۲، MnSO4.H2O=۱٥، H3BO3=۰/۷، Na2MoO4.2H2O =۰/۲، NH4NO3 =۹۳ به همراه CaCl2.2H2O =147 (میلی‌گرم در کیلوگرم) به خاک اضافه گردید. نیتروژن مورد نیاز گیاهان نیز هر دو هفته یکبار تامین شد. برای برخورداری از گیاهان یکنواخت، تعداد بوته‌ها به هفت بوته در هرگلدان در مرحله دو برگی تقلیل یافت و جهت کاهش تاثیر میکروکلیمای داخل گلخانه، محل گلدان‌ها هر روز به صورت تصادفی تغییر داده شد. آبیاری گلدان‌ها هر روز به کمک ترازو تا سقف ۹۰٪ ظرفیت مزرعه‌ای با وزن کردن یک به یک گلدان‌ها با آب دابلدیونیزه تامین گردید. پس از رسیدگی کامل، بذر گیاهان برداشت و به صورت دستی بوجاری شد. جهت استخراج DNA، بذور لاین‌های هاپلوئید مضاعف و والدین در گلخانه کشت و نمونه‌های برگی از برگ‌های جوان برداشت شد و پس از قرار دادن در کاغذ آلومینیومی، مشخصات نمونه روی فویل آلومینیومی یادداشت گردید. نمونه‌ها در ازت مایع منجمد و تا زمان استخراج DNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت استخراج DNA از نمونه‌های برگی، از روش CTAB (Saghai *et al*., 1984) و برای تعیین کمّیت و کیفیت نمونه‌های DNA، از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل اگارز ۰/۸ درصد استفاده شد (شکل۱).



شکل۱- الگوی نواری DNA ژنومی استخراج شده تعدادی از افراد جمعیت در ژل آگارز ۰/۸ درصد (اعداد نشان دهنده شماره لاین هاپلوئید مضاعف می‌باشد).

Figure 1- The banding pattern of extracted genomic DNA in 0.8% agarose gel.

چندشکلی والدین با استفاده از نشانگرهای ISSR، SSR و EST-SSR انتخاب شده از بخش‌های مختلف ژنوم جو (جدول ۱) بررسی شده و نشانگرهای چندشکل برای غربال افراد جمعیت استفاده گردید. دمای اتصال آغازگرها و طول قطعه تکثیر شده در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۱- مشخصات نشانگرهای SSR استفاده شده برای تهیه نقشه ژنتیکی.

Table 1- The SSR primers used for preparing linkage mapping.

کد نشانگر	منبع نشانگر	منبع
Bmac, EBmac	DNA ژنومی (AC repeats)	(Ramsay *et al*., 2000)
EBmatc	DNA ژنومی (ATC repeats)	(Ramsay *et al*., 2000)
GMS	Genomic DNA libraries	(Struss and Plieske, 1998; Li *et al*., 2003)
GBMS	Genomic DNA libraries	(Li *et al*., 2003)
HVM	Genomic DNA and genes	(Liu *et al*., 1996; Saghai Maroof *et al*.,1984, 1994)
GBM	ESTs جو	(Thiel *et al*.,2003; Varshney *et al*., 2006)
scSSR	ESTs جو	(Rostoks *et al*., 2005; Ramsay *et al*., 2004)

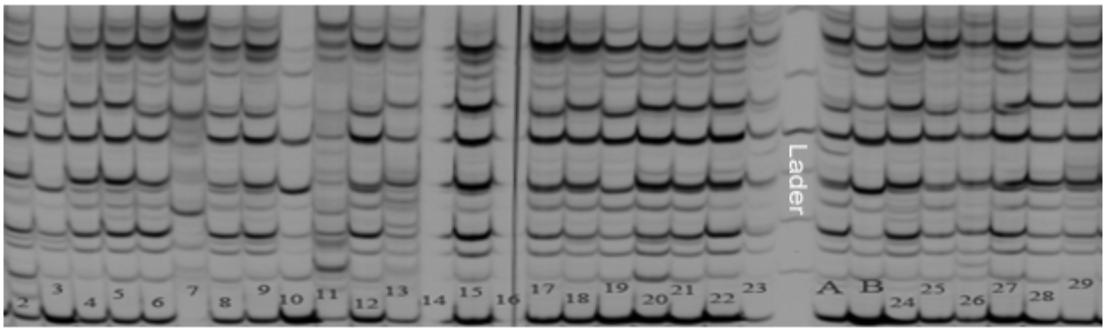
جدول ۲- اسامی آغازگرهای چند شکلی ISSR، توالی و دمای اتصال آن‌ها.

Table 2- The name, annealing temperature and sequences of ISSR primers.

نام آغازگر	دمای اتصال	توالی (`5-`3)
ISSR2	48	ACACACACACACACACAT
ISSR3	47	ACACACACACACACACTT
ISSR8	48	ATGATGATGATGATGATG
ISSR20	48	(AC)8CTG
ISSR21	51	(TC)8
ISSR23	48	(AGT)3(TC)7
ISSR33	51	AGAGAGAGAGAGAGAGAT
ISSR34	48	AGAGAGAGAGAGAGAGAA
ISSR35	49	(AG)8TA
ISSR37	51	TCT(GA) 7
ISSR38	51	GCT (GT) 7
ISSR39	49	ACGACGACGACGACGACG
ISSR40	46	CAT GGT GTT GGT CAT TGTTCC A
ISSR42	49	ACACACACACACACACCG

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹٤ ºC، ۳۵ چرخه با واسرشت‌سازی در دمای ۹٤ ºC به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر به مدت یک دقیقه در دمای اختصاصی آنها و بسط در دمای ۷۲ ºC به مدت ۲ دقیقه و نهایتا یک مرحله به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ ºC بود. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید ٤ درصد در دستگاه

ژل اسکن ۳۰۰۰ (شرکت Corbett Robotics) صورت گرفت. الگوی نواری نشانگرهای چند شکل در جمعیت بصورت A برای افراد مشابه والد Clipper و B برای افراد مشابه والد Sahara3771 امتیازدهی شد (شکل ۲).



شکل۲- نحوه امتیازدهی الگوی نواری آغازگرهای ریزماهواره ISSR در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام جو Clipper و Sahara3771. A: وجود نوار در والد Clipper، B: وجود نوار در والد Sahara3771. چاهک A: Clipper، چاهک B: Sahara3771، چاهک‌های ۲۹-۲: لاین‌های هاپلوئید مضاعف.

Figure 2- The band pattern of ISSR primers in doubled-haploid (DH) population derived from Clipper × Sahara3771.

مفروضات تجزیه واریانس شامل نرمال بودن توزیع خطاها، یکنواختی واریانس درون تیمارها و اثر افزایشی بلوک با تیمار به ترتیب با استفاده از آزمون‌های کولموگراف-اسمیرنوف، بارتلت و توکی انجام گردید. همگنی واریانس‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و MSTATC انجام شد. قبل از تجزیه پیوستگی، برای نشانگر-های چند شکل، پس از بررسی تفرق مندلی، آزمون نسبت ۱:۱ برای هر جایگاه با نرم‌افزار MapDisto (Boston *et al*., 2006; Lorieux, 2012) انجام شد. تهیه نقشه پیوستگی با استفاده از برنامه JoinMap 4 (Van Ooijen, 2006) با فرض حداقل LOD=۳ و حداکثر فاصله ۵۰ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور رسم گردید. داده‌های حاصل به برنامه Cartographer 2.5 Windows (Wang *et al*., 2005& 2012) بر اساس روش مکان‌یابی مرکب منتقل و برای QTLهای مکان‌یابی شده اثر افزایشی و سهم آن-ها در تبیین واریانس فنوتیپی صفات تعیین شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس بین افراد جمعیت هاپلوئید مضاعف از نظر وزن هزار دانه و عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳) که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی برای این صفات بود. محدوده عملکرد دانه در جمعیت بین ۰/۷۱ و ۱/۷ گرم در هر بوته به دست آمد که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی مناسب برای این صفت در جمعیت می‌باشد. عملکرد دانه والد Clipper، ۱/۳۷ گرم و والد Sahara 3771، ۱/۱۳ گرم در هر بوته بود که والدین از تفاوت معنی‌داری برای این صفت برخوردار بودند. حداقل و حداکثر میانگین وزن هزار دانه در جمعیت به ترتیب ۲۵/۵۰ و ٥٤ گرم بود که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی مناسب برای این صفت در جمعیت می‌باشد. وزن هزار دانه برای والد Clipper، ۵۰ گرم و برای والد Sahara 3771، ۳۲ گرم بدست آمد و اختلاف معنی‌دار بین میانگین والدین مشاهده شد ($LSD_{0.05}$ = ۲/۹۲).

برای صفات مورد بررسی لاین‌های هاپلوئید مضاعف در خارج از محدوده دو والد قابل مشاهده هستند که نشانگر وجود تفکیک متجاوز در هر دو جهت است (شکل ۳). وجود تفکیک متجاوز احتمال شناسایی QTLها برای صفات را افزایش داده و نشان می‌دهد که هر دو والد شامل آلل‌های مطلوب و نامطلوب در صفات مختلف هستند.

تجزیه پیوستگی

چندشکلی والدین Clipper و Sahara3771 با ١٤ نوع آغازگر ISSR بررسی و ۳۰ نشانگر چندشکل برای غربال جمعیت به نقشه پیوستگی قبلی جمعیت اضافه شد (Sadeghzadeh, 2008). البته ۱۹ نشانگر به هیچ گروه پیوستگی منتسب نشدند. در مجموع ٤٩٦ نشانگر مشتمل بر ٢٤٦ نشانگر SSR و EST-SSR، ۲۳۸ نشانگر RFLP، یک نشانگر مورفولوژیک و ۱۱ نشانگر ISSR، ١٤٦٠ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را با متوسط فاصله دو نشانگر مجاور برابر ۳ سانتی‌مورگان تحت پوشش قرار دادند و کروموزوم ۲ با طول ۲۳۸ سانتی‌مورگان شامل ۸٤ نشانگر و کروموزوم ۱ با طول ۲۰٦ سانتی‌مورگان و ۵۵ نشانگر به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد نشانگر را به خود اختصاص دادند (شکل ٤).

مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب

در ارتباط با صفت وزن هزار دانه، سه QTL روی کروموزوم‌های 2H و 1H شناسایی شد که در مجموع ٧٤ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را تبیین کردند (جدول ٤ و شکل ٥). تعداد دو QTL واقع در کروموزوم 2H (بین نشانگرهای abc257-HvCSLC1 و Vrs1-Bmag0125) به ترتیب ٦٩ و ۳ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کردند. همه QTLهای شناسایی شده برای وزن هزار دانه دارای اثر افزایشی مثبت بودند که نشان دهنده اهمیت آلل‌های منتقل شده از والد Clipper در افزایش وزن هزار دانه می-

باشد چرا که Clipper وزن دانه بیشتری نسبت به Sahara دارد. در تحقیق مشابه با استفاده از ۹۹ نشانگر RFLP در جمعیت دابلدهاپلوئید حاصل از تلاقی دو رقم جو بهاره Kym و Bleheim، چهار QTL برای وزن هزار دانه روی کروموزوم-های 2H، 3H، 4H و 5H شناسایی گردید (Bezant *et al.*,۱۹۹۷). در مطالعه‌ای Xue et al (۲۰۱۰) از یک جمعیت دابلدهاپلوئید جو مشتق شده از دو والد Yerong و Franklin برای مکان‌یابی نواحی ژنومی کنترل کننده عملکرد دانه و اجزای آن استفاده کردند. با استفاده از ٤۹٦ نشانگر DarT، ۸۰ نشانگر AFLP و ۲۸ نشانگر SSR، در مجموع ۳۲ ناحیه ژنومی برای صفات مورد مطالعه مکان‌یابی گردید. برای صفت وزن هزار دانه یک QTL، روی کروموزوم 2H با تبیین ٦/۵ درصد از تغییرات کل شناسایی شد و آلل‌های انتقال یافته از والد Franklin باعث افزایش وزن دانه شدند. با استفاده از جمعیت BC3DH حاصل از تلاقی ارقام Brenda و HS213، یک QTL در کروموزوم 2H پیوسته با نشانگر GBMS216 و با تبیین فنوتیپی ۹ درصد برای وزن دانه در جو گزارش گردید، که با QTL شناسایی شده روی کروموزوم 2H در این تحقیق، مطابقت دارد (Li *et al.*,۲۰۰٤).

در ارتباط با عملکرد دانه، تعداد پنج QTL روی کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 6H با مجموع تبیین فنوتیپی ۵۷ درصد شناسایی شدند (جدول ۵ و شکل ۵). دو QTL واقع بر کروموزوم 2H بین نشانگرهای MGB391-GBM1158 و ksuF2-mwg892 به ترتیب با ۵ و۲۰ درصد به ترتیب کمترین و بیشترین تغییرات فنوتیپی را تبیین کردند. اثر افزایشی این QTLها از والد Sahara3771 به نتاج منتقل شده بود. سه QTL دیگر در کروموزوم‌های 4H، 5H و 6H، اثر افزایشی مثبت داشته و از والد Clipper به ارث رسیده بودند. این نتایج با عملکرد بالای Clipper به عنوان یک رقم تجاری در مقایسه با Sahara3771 به عنوان یک رقم بومی مطابقت دارد. در پژوهشی در یک جمعیت BC3-DH جو بهاره متشکل از ۱۸۱ لاین، با استفاده از نقشه پیوستگی ٦۰ نشانگر ریزماهواره، تعداد سه QTL (Qyld1.1، Qyld2.1 و Qyld3.1) به ترتیب روی کروموزوم‌های 1HS، 2HS و 3HL پیوسته با نشانگرهای Bmac90، GBMS229 و Ebmag705 برای عملکرد دانه شناسایی گردید (Li *et al.*,۲۰۰۵) که مطابق با نتایج این تحقیق QTL مکان‌یابی شده بر روی کروموزوم 2H بود. همچنین در تحقیقی دیگر، برای عملکرد دانه جو، سه QTL بر روی کروموزوم 1H، چهار QTL در کروموزوم 2H، سه QTL در کروموزوم 5H و دو QTL در کروموزوم 6H گزارش گردید (Saal *et al.*,۲۰۱۱)، که QTL پیوسته با نشانگر GBM1052 در کروموزوم 2H با بیشترین مقدار تبیین فنوتیپی (۲۵ درصد) با QTL شناسایی شده روی کروموزوم 2H در این تحقیق مطابقت داشت.برای عملکرد و اجزای عملکرد دانه در لاین های خالص حاصل از تلاقی ارقام روشن و فلات گندم نان تعداد ۲٤ QTL روی 13

کروموزوم مختلف برای ۱۲ صفت با اثرات افزایشی مکان‌یابی شد که ٤ عدد QTL ضریب تبیین بالای ۱۰ درصد داشتند (Dorrani *et al*.,۲۰۱۶).

به طور خلاصه می‌توان گفت که شناسایی QTLهای بزرگ اثر برای وزن دانه و عملکرد دانه جو، سودمندی استفاده از مارکرهای مولکولی در نقشه‌یابی ژنی برای صفات مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد دانه را نشان می‌دهد که از این پتانسیل می‌توان برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در آینده‌ای نزدیک در برنامه‌های اصلاح برای بهبود عملکرد جو استفاده کرد.

جدول ۳- تجزیه واریانس وزن هزار دانه و عملکرد دانه در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771.

Table 3- Analysis of variance for the grain weight and yield of doubled-haploid (DH) population derived from Clipper × Sahara3771.

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of Squares	
		وزن هزار دانه TKW	عملکرد دانه Grain Yield
ژنوتیپ (Genotype)	149	156.61**	0.11**
خطا (error)	300	3.35	0.02
ضریب تغییرات (٪) (CV)		4.70	10.60

**معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ٤- QTL های شناسایی شده برای صفت وزن هزار دانه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب.

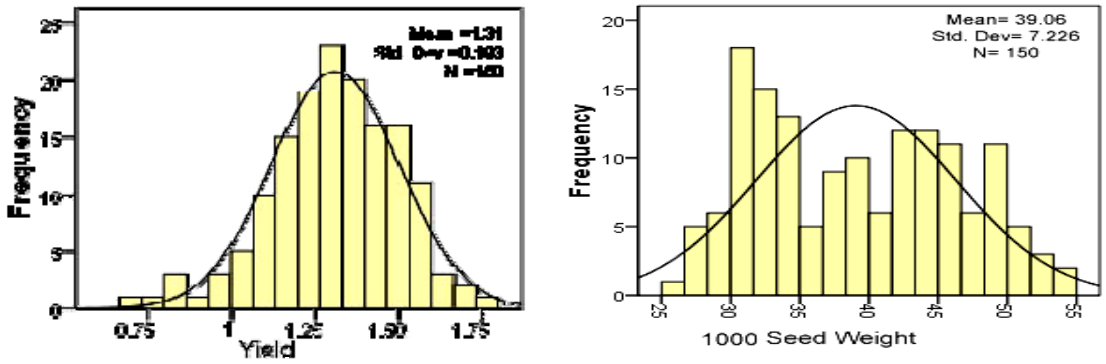
Table 4- Identified QTLs for TKW using composite interval mapping method.

نشانگرهای مجاور Adjacent markers	جایگاه QTL از ابتدای کروموزوم Position (cM)	کروموزوم Chromosome	اثر افزایشی Additive effect	LOD	تغییرات فنوتیپی تبیین شده (٪) Explained phenotypic variations
abc257-HvCSLC1	75	1H	1	3	2
Vrs1-Bmag0125	147	2H	6	50	69
bcd339-bg123	230	2H	1	4	3

جدول ۵- QTL های شناسایی شده برای صفت عملکرد دانه به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب.

Table 5- Identified QTLs for grain yield using Composite Interval Mapping method.

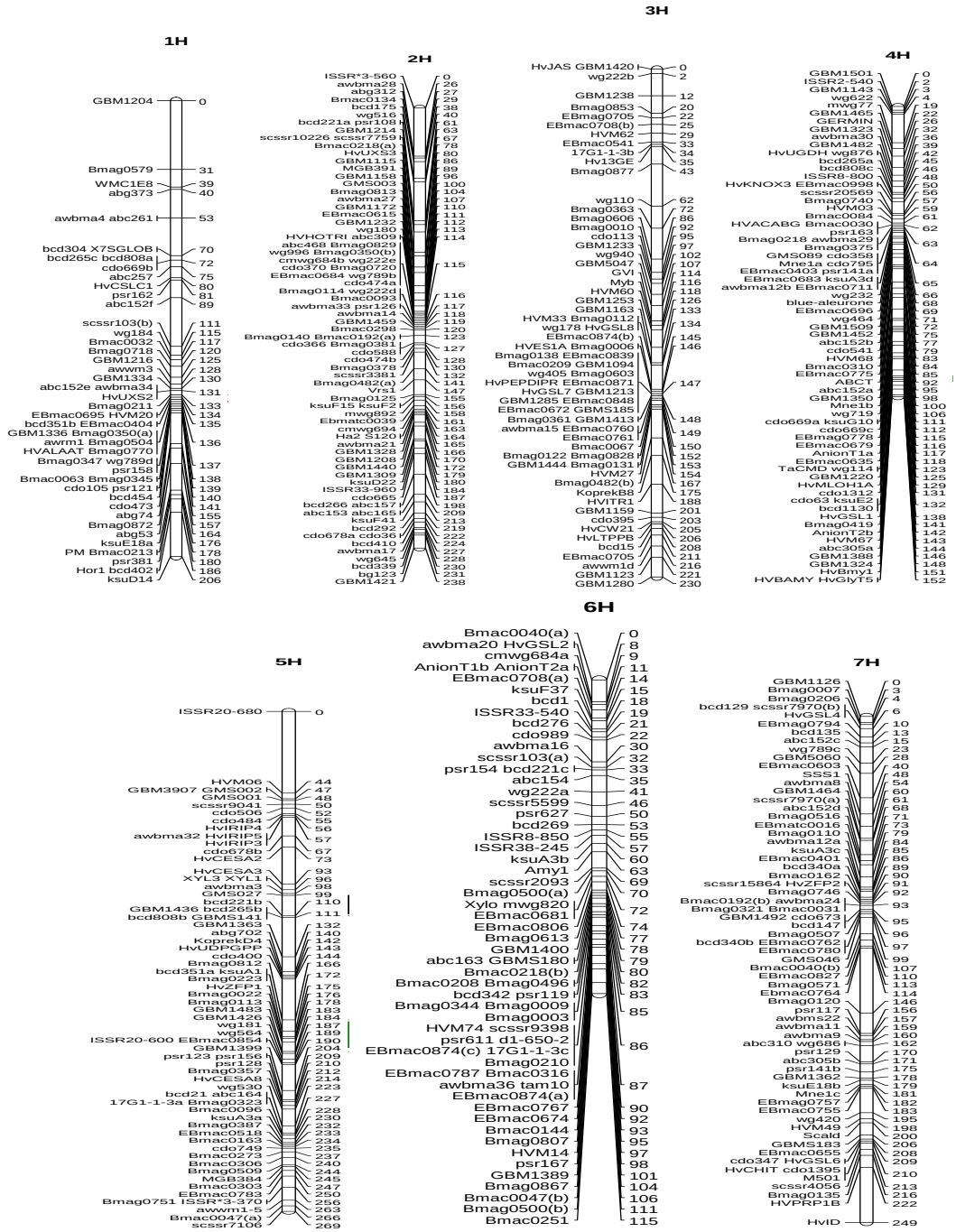
تغییرات فنوتیپی تبیین شده (٪) Explained phenotypic variations	LOD	اثر افزایشی Additive effect	کروموزوم Chromosome	جایگاه QTL از ابتدای کروموزوم Position (cM)	نشانگرهای مجاور Adjacent markers
5	3	-0.05	2H	89	MGB391-GBM1158
20	1	-0.09	2H	156	ksuF2-mwg892
10	6	0.07	4H	63	Bmag0375-GMS089
9	5	0.06	5H	156	cdo400-Bmag0812
13	7	0.07	6H	106	Bmac0047(b)-Bmag0500(b)



B ب A الف

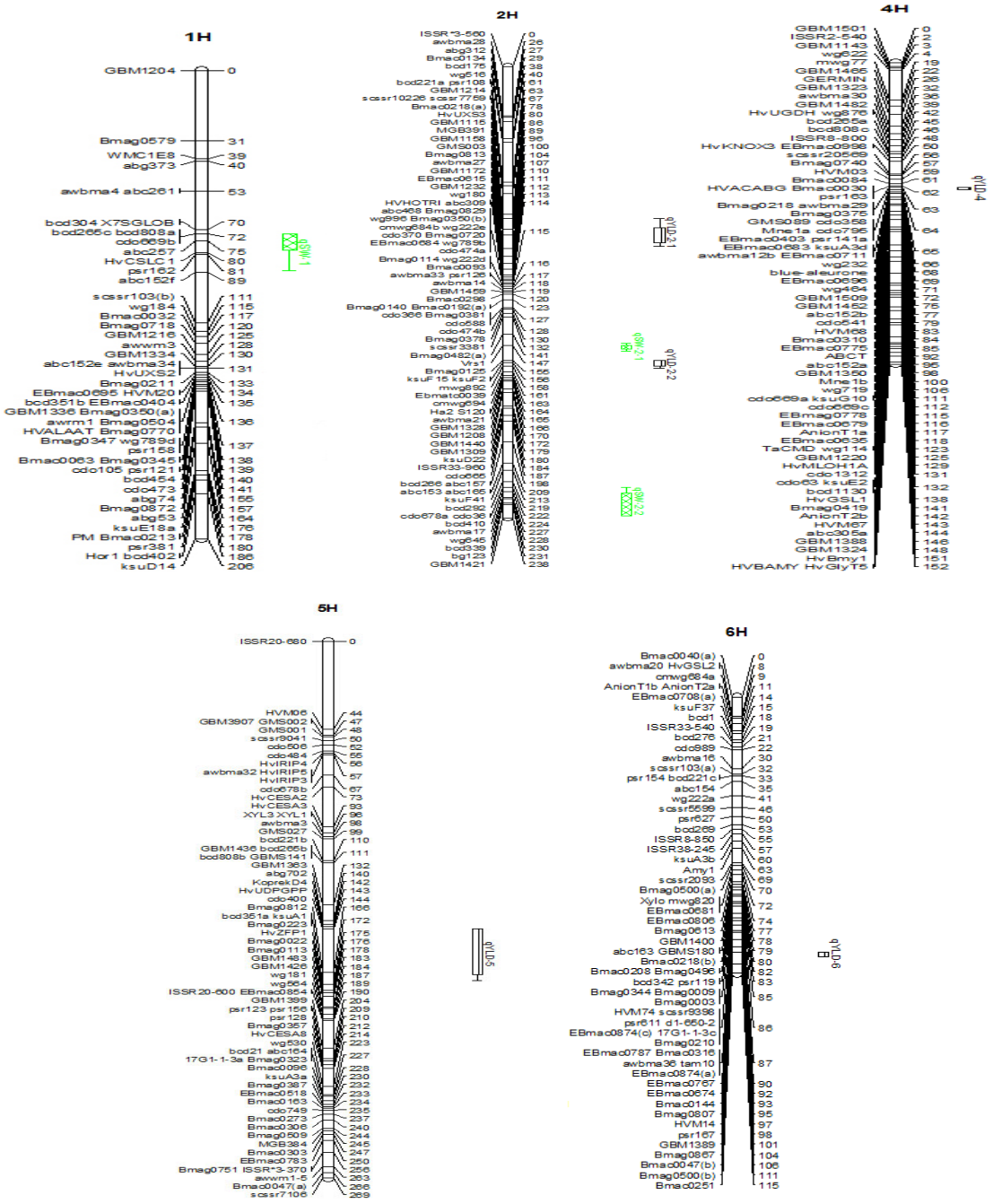
شکل ۳- نمودار ستونی صفات مورد بررسی، الف) وزن هزار دانه ب) عملکرد دانه.

Figure 3- Histogram of evaluated traits, A. grain weight, B. grain yield.



شکل ٤- نقشه پیوستگی جمعیت هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper.

Figure 4- linkage map of doubled-haploid (DH) population derived from Clipper × Sahara3771.



شکل ۵- جایگاه کروموزومی QTLهای شناسایی شده برای صفات در جمعیت هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper. نامگذاری QTLها بر اساس روش McCouch (۲۰۰۸).

Figure 5- Identified QTLs for traits of doubled-haploid (DH) population derived from Clipper × Sahara3771.

منابع

Babu R, Nair SK, Prasanna BM, Gupta HS (2004). Integrating marker-assisted selection in crop basic concepts. Euphytica 142: 169-196.

Bezant J, Laurie D, Pratchett N, Chojecki J, Kearsey M (1997). Mapping QTL controlling yield and yield components in a spring barley (Hordeum vulgare L.) cross using marker regression. Molecular Breeding 3: 29-38.

Boston MA (2006). MapDisto. 2 Raleigh Department of Statistics, North Carolina State University, USA. breeding – Prospects and challenges. Current Science. 5: 607-619.

Cakir M, Poulsen D, Galwey N W, Ablett G A, Chalmers K J, Platz G J, Moody D B (2003). Mapping and QTL analysis of the barley population Tallon× Kaputar. Crop and Pasture Science 54(12), 1155-1162

Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. Euphytica 142: 169-196.

Cuesta-Marcos A, Casas AM, Hayes PM, Gracia, MP, Lasa JM, Ciudad F, Codesal P, Molina J.L, Igatua E (2009). Yield QTL affected by heading date in Mediterranean grown barley. Plant Breeding 128: 46–53.

Dorrani-Nejad M, Mohammadi-Nejad G, Nakhoda B(۲۰۱۶). QTL mapping of grain yield and yield components in pure lines derived from Roshan × Falat bread wheat varieties (Triticum aestivum L.) under limited irrigation condition. Journal of Agricultural Biotechnology; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500.

Daghaghelh R, Sabouri H, Hosseini Moghaddm H, Jorjani E, Fallahi H.A (۲۰۱۷). Mapping of spike and grain using F3 and F4 families in Becher × Kavir cross in barly .Journal of Agricultural Biotechnology; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

FAO (2012). FAOSTAT. FAO. RomeT, www. Fao.org.

FAO (2013). FAOSTAT. http://faostat.fao.org/site/567.htm.

Garcia del Moral LF, Rharrabti Y, Villegas D, Royo C (2003). Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: An ontogenic approach. Agronomy Journal 95: 266-274.

Kicherer S, Backes G, Walther U, Jahoor A (2000). Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (Hordeum vulgare L.). Theoretical and Applied Genetics 100: 881-888.

Li J (2004). Mapping of new microsatellite markers and molecular identification of quantitative trait locus (QTL) for agronomically important traits in barley. MSc Thesis Martin Luther University Halle-Wittenberg, China.

Li JZ, Huang XQ, Heinrichs F, Ganal MW, Roder MS (2005). Analysis of QTLs for yield, yield components, and malting quality in a BC3-DH population of spring barley. Theoretical and Applied Genetics 110: 356–363.

Li JZ, Sjakste TG, Roder MS, Ganal MW (2003). Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. Theoretical and Applied Genetics 107: 1021–1027.

Liu ZW, Biyashev RM, Saghai Maroof MA (1996). Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. Theoretical and Applied Genetics 93: 869–876.

Lorieux M (2012). MapDisto: fast and efficiency computation of genetic linkage map Mol. Breed. 30: 1231-1235.

McCouch SR (2008). Gene Nomenclature System for Rice. Rice 1: 72–84.

Ramsay L, Russell J, Macaulay M, Booth A, Thomas WTB, Waugh R (2004). Variation shown by molecular markers in barley: Genomic and genetic constraints. Aspects of Applied Biology 72: 147-154.

Ray JD, Samson B.K, Sinclair TR (2000). Vegetative growth and soil water extraction of two maize hybrids during water deficits. Field Crop Res 25: 135-142.

Rostoks N, Mudie S, Cardle L, Russell J, Ramsay L, Booth A, Svensson JT, Wanamaker SI, Walia H, Rodriguez EM, Hedley PE, Liu H, Morris J, CloseTJ, Marshall DF, Waugh R (2005). Genome-wide SNP discovery and linkage analysis in barley based on genes responsive to abiotic stress. Molecular Genetics and Genomics 274: 515–527.

Saal B, von Korff M, Leon J, Pillen K (2011). Advanced-backcross QTL analysis in spring barley: IV. Localization of QTL × nitrogen interaction effects for yield-related traits. Euphytica 177: 223–239.

Sadeghzadeh B (2008). Mapping of chromosome regions associated with seed Zn accumulation in barley. PhD Thesis, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, The University of Western Australia, Perth, Australia.

Saghai M, Maroof A, Soliman K, Tprgensen RA, Allard RW (1984). Ribosomal DNA Spacer Lenth polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal loCation and population dynamics. Proc .Natl. ACad. Sci. USA 81:8014-8018.

Saghai Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 91: 5466-5470.

Saghai Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984). Ribosimal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, choromosomal location, and population dynamics. Proceeding of the National Academy of Sciences of America 81: 8014–8018.

Shahinnia F, Rezaei AM, Seyed-Tabatabaei B E, Mohammadi A (2014). QTL Mapping of Yield and Yield Components in Barley Lines. Seed and Plant Improvment Journal.

Struss P, Plieske J (1998). The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. Theoretical and Applied Genetics 97: 308–315.

Thiel T, Michalek W, Varshney RK, Graner A (2003). Exploiting EST databases for the development of cDNA derived microsatellite markers in barley (Hordeum vulgare L.). Theoretical and Applied Genetics 106: 411–422.

Van Ooijen JW (2006). JoinMap4, Software for the calculation of genetic linkage map in experimental populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.

Varshney RK, Grosse I, Hauhnel U, Siefken R, Prasad M, Stein N, Langridge P, Altschmied L, Graner A (2006). Genetic mapping and BAC assignment of EST-derived SSR markers proves non-uniform distribution of genes in the barley genome. Theoretical and Applied Genetics 113: 239–250.

Von Korff M, Wang H, Leon J, Pillen K (2006). AB-QTL analysis in spring barley: II. Detection of favourable exotic alleles or agronomic traits introgressed from wild barley (H. vulgare ssp. spontaneum). Theoretical and Applied Genetics 112: 1221–1231.

Wang J, Yang J, McNeil DL, Zhou M (2010). Identification and molecular mapping of a dwarfing gene in barley (Hordeum vulgare L.) and its correlation with other agronomic traits. Euphytica 175: 331–342.

Wang S, Basten CJ, Zeng ZB (2005). Windows QTL Cartographer 2.5 Raleigh Department of Statistics, North Carolina State Universitiy , USA.

Wang S, Basten CJ, Zeng Z-B (2012). Windows QTL Cartographer V2.5-011. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University.

Xue D, Zhou M, Zhang X, Chen S, Wei K, Zeng F, Mao Y, Wu F, Zhang G (2010). Identification of QTLs for yield and yield components of barley under different growth conditions. Journal of Zhejiang University Science 11: 169–176.

Iddentification of QTLs for grain weight in barley doubled haploid population

Parikhani Z.[*1], Sadeghzadeh B.[2], Mohammadi S.A.[3]

[1]MSc Graduate of Agricultural Biotechnology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran.
[2]Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran.
[3]Professor at Department of Plant Breeding and Biotechnology Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

Abstract

To identify the QTLs affecting grain weight and yield, 148 doubled-haploid (DH) population derived from a cross between Clipper (high yield) and Sahara3771 (low yield) were screened under controlled conditions. The experiment was conducted in CRD with 3 replications. The new 30 ISSR marker loci were added to a backbone of 466 loci on the Clipper × Sahara DH linkage map. The map spanned 1460 centimorgans (cM) and had a mean density of 2 loci per 3 cM. The QTL analysis led to identification of 5 QTLs on 2H, 4H, 5H and 6H chromosomes for grain yield. These QTLs could explain 57% of the total phenotypic variation, and the QTL on chromosome 2H (*ksuF2-mwg892*) with 20% had the largest effect. For grain weight, 3 QTLs were identified, and the QTL on 2H could explain 69% of total phenotypic variation. The identification of QTLs with large effects on grain weight and yield illustrates the usefulness of molecular markers in gene mapping and suggest that marker-assisted selection will be feasible in the near future in barley breeding programs.

Keywords: *Barley yield, Molecular markers, Quantitative traits loci (QTL).*

[*] Corresponding Author: Parikhani Z. Tel: 09144124424 Email: : z.parikhani@yahoo.com