

مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده مقاومت به ورس در لاین‌های خالص

نو ترکیب جو

Localization of QTLs conferring lodging resistance in barley recombinant inbred lines

حسین احمدی اوج‌تپه^۱، حسن سلطانیلو^{۲*}، سیده ساناز رمضان‌پور^۱، محمدرضا نقوی^۱، مهدی کلاته‌عربی^۳، حمیدرضا نیک‌خواه^۱، ساره یوسفی‌راد^۱

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیاران، دانشجوی دکتری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- به‌ترتیب استاد، دانشجوی دکتری، پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران

۳- عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی گلستان، گرگان

Ahmadi Ochtapeh H¹, Soltanloo H^{2*}, Ramezanpour SS², Naghavi MR³, KalateArabi M⁴, Nikkhah HR⁵, Yoosefi Rad S¹

1- PhD Student, Associate professors, PhD Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Iran

2- Professor, PhD Student, University College of Agricultural and Natural Resources, University of Tehran

3- Faculty staff of Golestan agricultural research station, Gorgan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: soltanlooh@gau.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۸ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۲۵)

چکیده

بیش‌تر صفات مهم زراعی وراثت کمی دارند و به‌وسیله تعداد زیادی ژن یا QTL کنترل می‌شوند. به‌منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده برخی صفات کمی مهم در جو، آزمایشی با ۱۶۲ لاین خالص نو ترکیب نسل F₈ به همراه دو والد (آریکاشار و ایگری) در قالب طرح آلفا-لاتیس با سه تکرار در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان اجرا شد. صفات کمی شامل ارتفاع گیاه، طول پدانکل، طول سنبله و مقاومت به ورس اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از نظر کلیه صفات مورد مطالعه بین لاین‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. پس از استخراج DNA از نمونه‌های برگی جوان، به‌ترتیب تعداد ۲۱ و ۱۳ ترکیب آغازگر ریزماهواره و AFLP چند شکل روی افراد جمعیت آزمون شدند. نقشه پیوستگی حاوی ۱۰۵ نشانگر ریزماهواره و AFLP با پوشش ژنومی ۵۱۳/۳ سانتی‌مورگان برای تجزیه QTL استفاده شد. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) انجام شد. در مجموع از هشت QTL شناسایی شده یک مورد برای صفات ارتفاع گیاه، دو مورد برای طول پدانکل، سه مورد برای طول سنبله و دو مورد برای مقاومت به ورس مکان‌یابی شد. مکان ژنی *QLrgH2.1a* با موقعیت ۶۰/۶ سانتی‌مورگانی از نشانگر *XBmag125* و مکان ژنی *QLrgH2.1b* در موقعیت ۷۲/۶ سانتی‌مورگانی از نشانگر *XE36-M49* بر روی کروموزوم 2H (H2.1) دو QTL محتمل مقاومت به ورس می‌باشند. نتایج حاصل از این آزمایش می‌تواند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر به منظور تولید ارقام مقاوم به ورس مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

جو

مقاومت به ورس

نقشه‌یابی QTL

مقدمه

تنوع ژنتیکی استفاده می‌شوند (Leisova et al. 2007). یکی دیگر از نشانگرهای مولکولی، AFLP می‌باشد که به‌طور گسترده در تهیه نقشه‌های ژنتیکی و تجزیه QTL، برای گونه‌های مختلف استفاده شده‌است (Klein et al. 2000). به‌منظور تعیین و تجزیه QTL، دو نوع داده یا اطلاعات ژنتیکی (داده‌های ژنوتیپی حاصل از نشانگرهای مولکولی و داده‌های فنوتیپی صفات مورد ارزیابی) مورد نیاز می‌باشد. در لاین‌های دابل‌هاپلوئید جو دو QTL برای ارتفاع گیاه روی کروموزوم 3H شناسایی شده که ۵۰ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کنند. همچنین دو QTL برای طول سنبله بر روی کروموزوم‌های 2H در موقعیت ۱۳۰ سانتی‌مورگان و 3H در موقعیت ۶۹ سانتی‌مورگان مکان‌یابی شده‌است (Wang et al. 2010). در جمعیت جو حاصل از Harrington/TR306 برای مقاومت به ورس، دو QTL بر روی کروموزوم‌های 2H و 7H مکان‌یابی شده‌است (Tinker et al. 1996). در جمعیت دابل‌هاپلوئید گندم دوروم، سه QTL مرتبط با مقاومت به ورس شناسایی شد که یک مکان روی کروموزوم 4BL و دو مکان روی کروموزوم 2AL قرار داشتند (Hoshmandand and Knox 2009). در آزمایشی رقابت برای دریافت نور در ارقام گندم و جو بررسی شد که نتایج نشان داد هنگامی که تراکم افزایش می‌یابد، رقابت برای دریافت نور نیز افزایش یافته و در نتیجه ارتفاع گیاه بلندتر می‌شود ولی قطر ساقه باریک مانده و منجر به خوابیدگی (ورس) می‌شود (Baker and Roosnegel 1988). در آزمایشی سه QTL برای خوابیدگی در لاین‌های دابل‌هاپلوئید جو شناسایی شد که این سه QTL، ۲۶ درصد واریانس فنوتیپی را توجیه کردند (Backes et al. 1995). همچنین در بعضی مطالعات دیگر، QTL‌هایی برای مقاومت به ورس شناسایی شدند که مکان مشابه با QTL‌های کنترل‌کننده ارتفاع گیاه داشتند (Keller et al. 1999; Borner et al. 2002). پاکوتاهی در جو موجب کاهش خوابیدگی و افزایش عملکرد دانه می‌شود. افزایش مقاومت به خوابیدگی اجازه مصرف کود و آب بیش‌تری را فراهم کرده و بنابراین ممکن است روی عملکرد تاثیر مثبت داشته باشد. همچنین، کاهش ارتفاع بوته می‌تواند موجب افزایش نفوذ نور به برگ‌های پایینی و افزایش شاخص برداشت شود که انتقال مواد به دانه را بهبود می‌بخشد (Eslami et al. 2010). در آزمایشی خوابیدگی جو

امروزه جو از نظر اهمیت رتبه چهارم را بعد از گندم، برنج و ذرت به خود اختصاص داده است (Sreenivasulu et al. 2008). جو (*Hordeum vulgare* L.) نه تنها یک محصول اقتصادی مهم است، بلکه یک گونه گیاهی مدل برای مطالعات ژنتیکی و فیزیولوژیکی می‌باشد (Koornneef et al. 1997). سال‌های ۱۹۶۰ و ۱۹۷۰ یک دوره شناخته شده به نام انقلاب سبز بود که اصلاح کنندگان گیاهان با توسعه واریته‌های پاکوتاه گندم باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در افزایش عملکرد دانه شدند (Newbury 2003). در غلات، با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی آن‌ها، خوشه و دانه‌ها در قسمت انتهایی ساقه تشکیل می‌شود، بنابراین تناسب بین استحکام بخش پایینی بوته و وزن قسمت‌های بالای آن تعیین‌کننده میزان مقاومت گیاه نسبت به ورس است (Kashiwagi et al. 2005). به خوابیدگی ساقه و عدم برگشت آن به حالت اولیه خود ورس گفته می‌شود و به‌عنوان یک عامل محدود کننده تولید در غلات مطرح می‌باشد (Berry et al. 2004). در مطالعات اخیر همبستگی منفی ارتفاع بوته و عملکرد به علت حساسیت گندم به ورس گزارش شده‌است (Slafer et al. 1994). اکثر مطالعات نشان می‌دهند که بهبود عملکرد جو در اثر کاهش ارتفاع، بهبود مقاومت به خوابیدگی، افزایش مقاومت به بیماری‌ها و آفات و تسریع در گلدهی بوده است (Rigges et al. 1981). بیش‌تر صفات مهم زراعی وراثت کمی دارند و به‌وسیله تعداد زیادی ژن یا QTL^۱ کنترل می‌شوند (Han et al. 2003). خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیکی ساقه مقاومت به ورس را در جو تعیین می‌کند که این مقاومت مشروط به ژن‌های با اثرات افزایشی و اپیستازی است (Jezowski et al. 2001). به دلیل این‌که مقاومت به ورس یک صفت کمی است و توسط تعدادی زیادی ژن کنترل می‌شود تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (Keller et al. 1999). امروزه نشانگرهای مولکولی ابزارهای ارزشمندی برای اصلاح صفات کمی در تکمیل روش‌های سنتی اصلاح‌نباتات به شمار می‌روند (Vos et al. 1995). ریزماهورها به‌طور متداول برای تشخیص ژنوتیپ‌ها، مکان صفات کمی و

^۱ Quantitative trait loci

زمستانه Igrی در ارتباط با غلظت‌های مختلف سولفور دی اکسید بررسی شد و نتایج آناتومی ساقه نشان داد که مقاومت به ورس با صفت آناتومی ساقه و به ویژه با ضخامت دیواره‌های پیوسته سلول‌های اسکلارنشیم ارتباط دارد (Baker et al. 1990). در آزمایشی که با استفاده از لاین‌های نیمه پاکوتاه و پا بلند بعنوان شاهد، از نظر تأثیر تیمارهای مختلف آبیاری و خشکی بر روی عملکرد دانه انجام شد، مشخص شد که در شرایط آبیاری کامل، لاین‌های نیمه پاکوتاه، عملکردی بین ۱۳ تا ۱۵ درصد بیش‌تر از لاین‌های شاهد پایلند داشتند و حتی در شرایطی که در معرض خشکی زودرس و پایان فصل قرار بگیرند، عملکرد لاین‌های نیمه پاکوتاه به مقدار ۱۱ درصد بیش‌تر از لاین‌های شاهد پایلند می‌باشد (Austin 1987). در مطالعه‌ای اثر مکان‌های ژنی کنترل کننده QTL برای هشت صفت زراعی در جمعیت حاصل از تلاقی Steptoe × Morex در شرایط بدون آبیاری بررسی شد که در این مطالعه فاصله‌های اطمینان QTL‌های مربوط به عملکرد دانه، ارتفاع بوته و خوابیدگی گیاه بر هم منطبق بودند (Hayes et al. 1993). جمعیت RIL جمعیتی پایدار می‌باشد و همه افراد درون لاین از نظر ژنتیکی مشابه هستند. همچنین از آنجایی که این لاین‌ها را می‌توان در چند محیط و چند سال ارزیابی کرد، بنابراین به کمک آن‌ها می‌توان واریانس محیطی را تا حد زیادی کاهش داده و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط را محاسبه و از اثر ژنوتیپ جدا نمود (Young 1999). هدف از این آزمایش شناسایی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره و AFLP پیوسته با صفات ارتفاع بوته، طول پدانکل، طول سنبله و مقاومت به ورس و در نتیجه تعیین موقعیت کروموزومی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده آن‌ها در جمعیت نسل F₈ لاین خالص نوترکیب جو زراعی حاصل از دو والد Arigashar و Igrی و در نهایت پیشنهاد این QTL‌ها برای گزینش به کمک نشانگر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی

مواد گیاهی مورد استفاده در این بررسی شامل پنج لاین شاهد به اضافه ۱۶۲ لاین خالص نوترکیب نسل F₈ حاصل از تلاقی دو والد Arigashar و Igrی بود. رقم Arigashar یک رقم جو شش-

ارزیابی ژنوتیپی
استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Saghai-Marouf et al. 1984) با کمی تغییرات در مرحله دو برگی انجام شد. DNA استخراج شده با RNase تیمار و کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از ژل آگارز یک درصد و اسپکتروفتومتر تعیین شد. به منظور تهیه نقشه ژنتیکی از نشانگرهای مولکولی AFLP و SSR استفاده شد. به منظور بررسی چندشکلی روی دو والد مجموعه‌ای از ۱۵۰ نشانگر ریزماهواره که روی ۷ کروموزوم جو توزیع مناسب داشتند مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۱۳ جفت ترکیب آغازگری AFLP به منظور بررسی چندشکلی والدین استفاده شد. برای انجام روش AFLP، هضم آنزیمی DNA ژنومی با استفاده از آنزیم‌های EcoRI و MseI صورت گرفت. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ترموسایکلر PeQLab-

امکان انتخاب از بین لاین‌های مورد مطالعه برای صفات مورد نظر می‌باشد (جدول ۱). نتایج تجزیه همبستگی ساده نشان داد که همبستگی بین سه صفت طول پدانکل، طول سنبله و مقاومت به ورس با ارتفاع گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد. در بین سایر صفات، همبستگی‌های معنی‌داری مشاهده نشد. با افزایش ارتفاع گیاه ورس هم افزایش پیدا کرد در حالی که افزایش طول پدانکل و طول سنبله تاثیری بر روی افزایش یا کاهش ورس نداشت. میانگین امتیاز مقاومت به ورس برای والدین نشان می‌دهد رقم ایگری به‌عنوان یکی از والدین با میانگین صفر در مقایسه با والد دیگر یعنی آریگاشار با میانگین ۷/۳ نسبت به ورس مقاوم بود. میانگین ارتفاع گیاه و طول پدانکل برای والد ایگری به ترتیب ۹۱/۷ و ۳۱/۲ سانتی‌متر بود در صورتی که این مقادیر برای والد آریگاشار به ترتیب ۹۴/۴ و ۳۴/۴ سانتی‌متر به دست آمد. همچنین میانگین طول سنبله برای والد ایگری ۸/۷ سانتی‌متر و برای والد آریگاشار ۴/۹ سانتی‌متر بود (جدول ۲). دامنه تغییرات صفات در جمعیت لاین خالص نوترکیب بیان‌گر تفکیک متجاوز در برخی لاین‌ها در دو جهت افزایش و کاهش نسبت به والدین خود بود که نشان می‌دهد والدین این جمعیت تعداد ژن بیش‌تری در رابطه با افزایش یا کاهش میزان صفت به اشتراک گذاشته‌اند که تفرق و ترکیب مستقل و متفاوت آن‌ها باعث این میزان تفکیک متجاوز شده‌است. این نتیجه با نتایج Cardinal et al. (2003) مطابقت دارد (شکل ۱).

Biotechnologie GmbH به روش رامسی و همکاران (Ramsay et al. 2000) برای آغازگرهای SSR و به روش ووس و همکاران (Vos et al. 1995) برای نشانگرهای AFLP انجام شد. محصولات PCR بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید پنج درصد تفکیک و باندهای تشکیل شده به وسیله دستگاه ژل اسکن GS2000 (شرکت کوربت، استرالیا) آشکارسازی شد. نقشه لینکاژی با استفاده از ۲۱ آغازگر SSR و ۱۳ آغازگر AFLP به کمک نرم‌افزار JoinMap v. 3.0 (VanOoijen and Voorrips 2001) ترسیم شد. به منظور تبدیل فراوانی‌های نوترکیبی به فاصله ژنتیکی بر حسب سانتی‌مورگان از تابع کوزامبی استفاده شد (Kosambi 1944). نقشه پیوستگی با در نظر گرفتن LOD=3 به عنوان کم‌ترین مقدار LOD و فاصله ژنتیکی ۵۰ سانتی‌مورگان به عنوان بیش‌ترین فاصله ژنتیکی ایجاد شد. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب^۱ (CIM) و با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographer 2.5 انجام شد (Wang et al. 2005). آستانه LOD برای شناسایی QTL‌ها سه در نظر گرفته شد. میزان R^2 در تعیین سهم توجیه کننده هر QTL از تنوع کل یک صفت به کار رفت.

نتایج

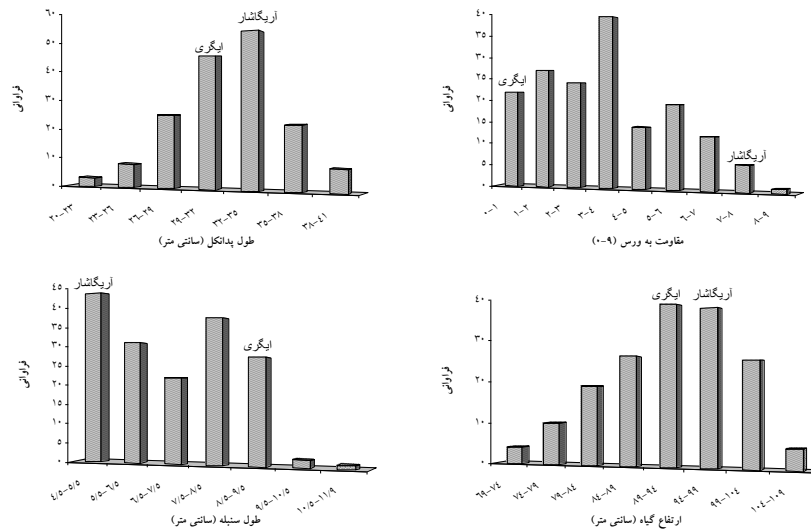
نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که از نظر کلیه صفات مورد مطالعه بین لاین‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود دارد که نشان‌دهنده وجود تنوع برای این صفات و

² Composite Interval Mapping

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده

منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	طول پدانکل	طول سنبله	مقاومت به ورس
تکرار	۲	۱۹۵۸/۱۴۳۰**	۳۶۳/۹۹۷۷**	۵۱/۵۷۷۴**	۲۳۳/۳۶۶۸**
بلوک تصحیح شده	۳۶	۱۲۵/۱۷۴۴**	۱۱/۰۷۴۴ ^{ns}	۰/۵۷۵۰ ^{ns}	۲۱/۹۶۴۱**
تیمار	۱۶۸	۲۱۱/۲۹۹۰**	۴۵/۷۶۸۴**	۶/۵۷۱۸**	۱۲/۲۹۶۸**
تیمار تصحیح شده	۱۶۸	۱۸۸/۸۱۰۲**	۴۱/۳۳۸۲**	۶/۲۱۰۳**	۹/۱۷۶۶**
خطای آزمایشی	۳۰۰	۴۹/۰۳۹۹	۱۲/۹۶۶۱	۰/۴۵۱۲	۴/۶۱۷۴
کل	۵۰۶	۱۱۵/۸۷۵۰	۲۵/۱۰۹۹	۲/۶۹۴۲	۹/۳۰۵۴

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۱- توزیع فراوانی افراد جمعیت و جایگاه دو والد (ایگری و آریگاشار) برای صفات طول پدانکل، مقاومت به ورس، طول سنبله و ارتفاع گیاه

اثرات آلی و واریانس فنوتیپی QTL‌های شناسایی شده برای ارتفاع گیاه، طول پدانکل، طول سنبله و مقاومت به ورس نشان داده شده‌است. در تحقیق حاضر برای ارتفاع گیاه یک QTL (*QPlgH2.2*) بر روی کروموزوم 2H شناسایی شد در صورتی‌که Wang et al. (2010) QTL دیگری برای ارتفاع روی کروموزوم 3H شناسایی کردند. دو QTL (*QPedlg4H* و *QPedlgL2*) برای طول پدانکل بر روی کروموزوم 4H و گروه لینکاژی ناشناخته L2 شناسایی شد. آل افزایشنده این مکان ژنی از والد آریگاشار ناشی شده بود. برای طول پدانکل در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی *Wi2291 × Tadmor* تعداد چهار QTL بر روی کروموزوم‌های دو، سه، چهار و شش در منطقه تل‌هادیا و تعداد سه QTL واقع بر کروموزوم‌های سه، چهار و هفت در منطقه بردا تشخیص داده شد (Mohamadi and Baum 2007). برای طول سنبله، سه QTL (*QSlgH2.2a*، *QSlgH2.2b* و *QSlgH2.2c*) شناسایی شد که هر سه بر روی کروموزوم 2H قرار داشتند. گزارشات اخیر نیز QTL‌های کنترل کننده طول سنبله بر روی کروموزوم 2H شناسایی شده‌است (Wang et al. 2010; Sameri et al. 2006). در این تحقیق دو QTL (*QLrgH2.1a* و *QLrgH2.1b*) برای مقاومت به ورس بر روی کروموزوم 2H مکان‌یابی شد.

جدول ۲- دامنه تغییرات و میانگین لاین‌های خالص نوترکیب و میانگین والدین برای صفات اندازه‌گیری شده

صفات اندازه‌گیری شده	لاین‌های خالص		والدین	
	نوترکیب		نوترکیب	
	آریگاشار	ایگری	آریگاشار	ایگری
ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	۶۹/۸-۱۰۶/۴	۹۱/۱	۹۴/۴	۹۱/۷
طول کلنوتیل (سانتی‌متر)	۲۰/۲-۴۰/۷	۳۱/۸	۳۴/۴	۳۱/۲
طول سنبله (سانتی‌متر)	۴/۵-۱۱/۹	۶/۹	۴/۹	۸/۷
مقاومت به ورس (۰-۹)	۰-۸/۳	۳/۱	۷/۳	۰

نقشه پیوستگی ژنتیکی استفاده شده برای تجزیه QTL شامل دوازده گروه لینکاژی بود که کلیه کروموزوم‌های جو را پوشش می‌دهد. این نقشه پیوستگی با ۱۰۵ نشانگر ریزماهواره و AFLP با پوشش ژنومی ۵۱۳/۳ سانتی‌مورگان تهیه شد (Ahmadi-Ochtapeh et al. 2015) که شامل دوازده گروه پیوستگی (یک گروه پیوستگی برای کروموزوم 1H، دو گروه پیوستگی برای کروموزوم 2H (H2.1 و H2.2)، یک گروه پیوستگی برای کروموزوم 3H، یک گروه پیوستگی برای کروموزوم 4H، یک گروه پیوستگی برای کروموزوم 5H، سه گروه پیوستگی برای کروموزوم 6H و دو گروه پیوستگی برای کروموزوم 7H و دو قطعه کروموزومی ناشناخته L1 و L2 می‌باشد. در جدول ۳ نزدیک‌ترین نشانگر به QTL، موقعیت، حدود اطمینان، LOD.

جدول ۳- مشخصات QTL های مکان یابی شده برای صفات ارتفاع، طول پدانکل، طول سنبله و مقاومت به ورس در جو

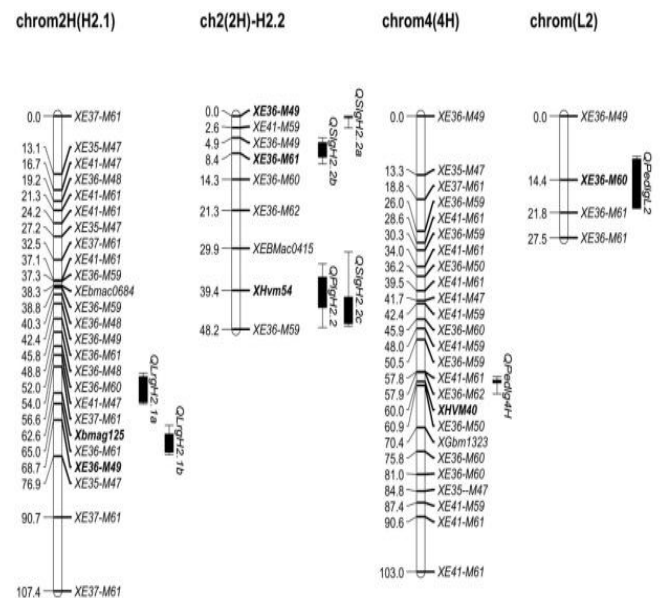
صفت	نام کروموزوم	QTL	نزدیک ترین نشانگر	موقعیت QTL	حدود اطمینان	LOD	اثر آلی (افزایشی)*	R ²	R ² کل
ارتفاع گیاه	H2.2	<i>QPlgH2.2</i>	<i>XHvm54</i>	۳۹/۴	۳۶/۴-۴۳/۳	۷/۶	۳/۳	۰/۲	۰/۲
طول پدانکل	L2	<i>QPedlL2</i>	<i>XE36-M60</i>	۱۶/۴	۹/۱-۲۰/۹	۳/۴	-۱/۳۳	۰/۱	۰/۱
	4H	<i>QPedl4H</i>	<i>XHvm40</i>	۵۹/۷	۵۸/۹-۶۲/۸	۲/۶	۱/۰۲	۰/۰۷	۰/۱۷
طول سنبله	H2.2	<i>QSlgH2.2a</i>	<i>XE36-M49</i>	۰/۱	۰-۲/۷	۲/۵	۰/۲۴	۰/۰۳	۰/۰۳
	H2.2	<i>QSlgH2.2b</i>	<i>XE36-M61</i>	۶/۹	۴/۹-۱۰/۸	۳/۰۱	۰/۲۶	۰/۰۵	۰/۰۵
	H2.2	<i>QSlgH2.2c</i>	<i>XHvm54</i>	۴۱/۳	۴۰/۹-۴۶/۹	۳۱/۱	۱/۲۴	۰/۰۶	۰/۰۶
مقاومت به ورس	H2.1	<i>QLrgH2.1a</i>	<i>XBmag125</i>	۶۰/۶	۵۸/۱-۶۵/۱	۳/۲	-۰/۷۱	۰/۱۱	۰/۱۱
	H2.1	<i>QLrgH2.1b</i>	<i>XE36-M49</i>	۷۲/۶	۷۱/۹-۷۶	۳/۷	-۰/۸۷	۰/۱۷	۰/۲۸

* علامت - (منفی) نشان دهنده منشاء آلی افزایشی از رقم حساس و علامت + (مثبت) نشان دهنده منشاء آلی افزایشی از رقم مقاوم می باشد.

بحث

با توجه به وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد بین لاین های مورد بررسی برای تمام صفات مورد مطالعه در این تحقیق امکان انتخاب از بین لاین های مورد بررسی برای صفات مورد نظر وجود داشت. همچنین نتایج تجزیه همبستگی بیانگر این بود که با افزایش ارتفاع گیاه میزان ورس نیز افزایش پیدا می کند. از طرفی افزایش طول پدانکل و طول سنبله تأثیری بر روی افزایش یا کاهش ورس نداشت. مقاومت به ورس یک صفت پیچیده است که تحت تأثیر عوامل محیطی پیچیده ای قرار می گیرد و اطلاعات اندکی در ارتباط با مقاومت به ورس در جو گزارش شده است. ارتفاع گیاه به عنوان صفت اصلی برای مقاومت به ورس در بسیاری از مطالعات مطرح شده است. با این حال، ژن های نیمه پاکوتاهی و پاکوتاهی برای کاهش خسارت خوابیدگی در جو و QTL های مقاومت به ورس که کنترل کننده کاهش ارتفاع جو هستند، شناسایی شده اند (Sameri et al. 2009). در مجموع، برای چهار صفت اندازه گیری شده، هشت QTL شناسایی شد که شش QTL بر روی کروموزوم شماره ۲ (2H) قرار داشتند. بنابراین کروموزوم شماره ۲ یکی از مهم ترین کروموزوم ها برای صفات اندازه گیری شده می باشد. از بین هشت QTL شناسایی شده، QTL مربوط به طول سنبله (*QSlgH2.2c*) دارای بیشترین مقدار LOD (LOD=31.1) بود. R² بالا نشان داد که پیوستگی بین نشانگرها و QTL ها زیاد بوده و می توانند در برنامه های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند (Vienne 2003). بررسی های موجود نشان داد که دسته هایی از QTL ها در نواحی

این دو QTL با فاصله ۸ سانتی مورگان از هم قرار داشتند و به احتمال زیاد با یکدیگر تفرق می یابند. همچنین این دو QTL مقاومت به ورس مکان یابی شده، با QTL شناسایی شده توسط Tinker et al. (1996) که روی کروموزوم 2H مکان یابی کرده بودند تقریباً هم مکان بودند. مکان تخمینی تمام QTL های شناسایی شده برای صفات کمی اندازه گیری شده بر روی کروموزوم های ۲ و ۴ و گروه لینکاژی نامشخص L2 در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲- مکان کروموزومی QTL های شناسایی شده برای صفات کمی ارتفاع گیاه (PI)، طول پدانکل (Pedl)، طول سنبله (SI) و مقاومت به ورس (Lr) بر روی کروموزوم های ۲ و ۴ و گروه لینکاژی نامشخص L2. نزدیک ترین نشانگر به QTL با رنگ تیره (Bold) مشخص شده است.

مرتبط با ورس مکان‌یابی شد (Chen et al. 2014). در مطالعه‌ای برای مقاومت به ورس، یک QTL روی کروموزوم 3H شناسایی شد (Ye et al. 2010). شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مقاومت، یک فاکتور کلیدی در استفاده موثر برای تحقیقات بیشتر می‌باشد (Bent 1996). پس از شناسایی نشانگرهای پیوسته با ژن‌ها یا QTL‌های مورد نظر، به‌نژادگران می‌توانند از آل‌های نشانگر اختصاصی DNA به‌عنوان یک ابزار تشخیصی جهت شناسایی گیاهان حامل آن ژن‌ها یا QTL‌ها استفاده نمایند که این، در واقع همان روش MAS (انتخاب به کمک نشانگرها) می‌باشد. صرف نظر از این‌که آیا این QTL‌ها برای انتخاب به کمک نشانگر استفاده شوند یا خیر، اطلاعات مربوط به آن‌ها درک بهتری از کنترل ژنتیکی این صفات مهم فراهم می‌کند.

سپاسگزاری

از کارشناسان ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان و جناب آقای مهندس بهزاد نجفی به‌خاطر همکاری در بخش فنوتایپینگ این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Ahmadi Ochtapeh H, Soltanloo H, Ramezani SS, Naghavi MR, Nikkiah HR, Yoosefi Rad S (2015) QTL mapping for salt tolerance in barley at seedling growth stage. *Biologia Plantarum* 59: 283-290.
Austin RB (1987) Some crop characteristics of wheat and their influence on yield and water use. In: Drought tolerance in winter cereals. Wiley inter science, New York 321- 336.
Backes G, Graner A, Foroughi-Wehr B, Fischbeck G, Wenzel G, Jahoor A (1995) Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 90 : 294-302.
Baker CK, Fullwood AE, Colls JJ (1990) Lodging of winter barley (*Hordeum vulgare* L.) in relation to its degree of exposure to sulphur dioxide. *New Phytologist* 114: 191-197.
Baker RJ, Roos negel BG (1988) Interplot competition between wheat and barley cultivars of differing heights. *Canadian Journal of Plant Science* 68: 1129-1132.
Bent AF (1996) Plant disease resistance genes: function meets structure. *The Plant cell* 8: 1757-1771.

کروموزومی معینی وجود داشته و برخی از QTL‌ها در کنترل چندین صفت دخالت دارند. به‌عنوان مثال در جمعیت جو حاصل از تلاقی ۱۲۷۷ و ZQ320 نهایتاً پنجاه و سه QTL مرتبط با مقاومت به ورس روی هفت کروموزوم شناسایی شد که از این تعداد، شش QTL با اثر پلیوتروپیک که ارتباط منفی با مقاومت به ورس داشتند روی کروموزوم 4H و در فاصله نشانگری *Bmag353* و *GBM1482* مکان‌یابی شدند (Chen et al. 2014). وجود QTL‌های موثر بر چندین صفت نیز معمول است (Hayes et al. 1997). در تحقیق حاضر نیز دو QTL هم مکان (*QPlgH2.2* و *QSlgH2.2c*) بر روی کروموزوم شماره ۲ برای ارتفاع گیاه و طول سنبله در فاصله نشانگری *XHvm54* مشاهده شد. از نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری نمود که دو QTL، *QLrgH2.1a* و *QLrgH2.1b* در موقعیت‌های ۶۰/۶ و ۷۲/۶ سانتی‌مورگانی در فاصله نشانگری *XBmag125* و *XE36* روی کروموزوم 2H (H2.1)، QTL‌های محتمل برای مقاومت به ورس هستند و این دو ناحیه می‌تواند به‌عنوان هدف خوبی برای مکان‌یابی دقیق، همسانه‌سازی ناحیه‌ای و جداسازی ژن مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعات اخیر یک QTL بر روی کروموزوم 2H در فاصله نشانگری *GBM1187* و *Bmag0378*

Berry PM, Sterling JH, Spink C, Baker R, Sylvester-Bradley S, Mooney A, Tams B, Ennos A (2004) Understanding and reducing in cereals. *Advances in Agronomy* 84: 217-271.
Börner A, Schumann E, Furste A, Cöster H, Leithold B, Röder M, Weber W (2002) Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 105: 921-936.
Cardinal AJ, Lee M, Moore KJ (2003) Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 106:866-874.
Chen WY, Liu ZM, Deng GB, Pan ZF, Liang JJ, Zeng XQ, Tashi NM, Long H, Yu MQ (2014) Genetic relationship between lodging and lodging components in barley (*Hordeum vulgare*) based on unconditional and conditional quantitative trait locus analyses. *Genetics and Molecular Research* 13: 1909-1925.
Eslami F, Pasbane Eslam B, Tajbakhsh M, Taymoorpour H (2010) Evaluation of grain yield and yield components in 20 lines of winter barley in Tabriz condition. *Journal of Agricultural Sciences Azad University of Tabriz* 4: 1-10. (In Farsi)

- Jezowski S, Surma M, Adamski T (2001) Genetic control of morphological and physical characteristics determining resistance to lodging in barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Agrophysics* 15:157-160.
- Han F, Ullrich SE, Romagosa I, Clancy JA, Froseth JA, Wesenberg DM (2003) Quantitative genetic analysis of acid detergent fibre content in barley grain. *Journal of Cereal Science* 38: 167-172.
- Hayes PM, Lui BH, Knapp SJ, Chen F, Jones B, Blake T, Franckowiak J, Rasmusson D, Sorrells D, Ullrich SE, Wesenberg D, Kleinhofe A (1993) Quantitative trait loci, effect and environmental interaction in a sample of North American barley germplasm. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 392-401.
- Hayes PM, Cereno J, Witsenhoer H, Kuiper M, Zabeau M, Sato K, Kleinhofs A, Kudrna D, Kilian A, Saghai-Marooof MA, Hoffman DL (1997) Characterizing and exploiting genetic diversity and quantitative traits in barley (*Hordeum vulgare*) using AFLP markers. *Journal of Quantitative Trait Loci* 3:1-15.
- Hoshmand S, Knox RE (2009) Identification of some quantitative trait loci for lodging in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. Durum) using microsatellite markers. *Iranian journal of crop sciences* 10: 389-399. (In Farsi).
- Kashiwagi T, Sasaki H, Ishimaru K (2005) Factors responsible for decreasing sturdiness of the lower part in lodging of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Production Science* 8: 166-172.
- Keller M, Karutz CH, Schmid JE, Stamp P, Winzeler M, Keller M, Messmer M (1999) Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat x spelt population. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 1171-1182.
- Klein PE, Klein RR, Cartinhour SW, Ulanich PE, Dong J, Obert JA, Morishige DT, Schlueter SD, Childs KL, Ale M, Mullet JE (2000) A high-throughput AFLP-based method for constructing integrate genetic and physical maps: progress toward a sorghum genome map. *Genome Research* 10:789-807.
- Koornneef M, Alonso-Blanco C, Peeters AJM (1997) Genetic approaches in plant physiology. *New Phytologist* 137: 1-8.
- Kosambi DD (1944) The estimation of the map distance from recombination values. *Annals of Eugenics* 12: 172-175.
- Leisova L, Kucera L, Dotlacil L (2007) Genetic resources of barley and oat characterized by Microsatellites. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 43: 97-104
- Mohamadi M, Baum M (2007) QTLs analysis for morphological traits in barley double haploid. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 12: 111-120. (In Farsi)
- Newbury HJ (2003) *Plant molecular breeding*. CRC Press, USA, Canada 50-71.
- Ramsay L, Macaulay M, Degliivanisovich S, Maclean K, Carsle L, Fuller J, Edwards KJ, Turesson S, Morganter M, Massari E, Marmioli N, Sjakste T, Ganai M, Powel W, Waugh W (2000) A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics* 156: 1997-2005.
- Riggles TJ, Hanson PR, Star ND, Miles MD, Morgan CL, Ford MA (1981) Comparison of spring barley varieties grown in England and Wales between 1180 and 1980. *The Journal of Agricultural Science* 97:599-610.
- Saghai-Marooof MA, Soliman KM, Gorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81:8014-8018.
- Sameri M, Takeda K, Komatsuda T (2006) Quantitative trait loci controlling agronomic traits in recombinant inbred lines from a cross between oriental- and occidental-type barley cultivars. *Breeding Science* 56: 243-252.
- Slafer GA, Satorre EH, Andrade FH (1994) Increases in grain yield in bread wheat from breeding and associated physiological changes. In: *Genetic Improvement of Field Crops* (Ed. G.A. Slafer) Marcel Dekker, Inc. New York 1-68.
- Sreenivasulu N, Graner A, Wobus U (2008) Barley genomics: An Overview. *International Journal of Plant Genomics* 1-13.
- Tinker NA, Mather DE, Rosnagel BG, Kasha KJ, Kleinhofs A, Hayes PM, Falk DE, Ferguson T, Shugar LP, Legge WG, Irvine RB, Choo TM, Briggs KG, Ullrich SE, Franckowiak JD, Blake TK, Graf RJ, Dofing SM, SaghaiMarooof MA, Scoles GJ, Hoffman D, Dahleen LS, Kilian A, Chen F, Biyashev RM, Kudrna DA, Steffenson BJ (1996) Regions of the genome that affect agronomic performance in tow-row barley. *Crop Science* 36: 1053-1062.
- VanOoijen JW, Voorrips RE (2001) JoinMap 3.0, software for the calculation of genetic linkage maps. *Plant Research International B.V-Wageningen*. 120.
- Vienne DD (2003) *Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology*. CRC Press, France. 248.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kupier M, Zabeau M (1995) AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acid research* 23: 4407-4414.
- Wang S, Basten CJ and Zeng ZB. 2005. *Windows QTL Cartographer 2.5* Raleigh Department of making quality in wheat and spelt. *Plant Breeding* 120: 13-9.
- Wang J, Yang J, Mcneli 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.
- Young ND (1999) A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. *Molecular Breeding* 5: 505-510.

Localization of QTLs conferring lodging resistance in barley recombinant inbred lines

Ahmadi Ochtapeh H¹, Soltanloo H^{2*}, Ramezanzpour SS², Naghavi MR³, KalateArabi M⁴, Nikkhah HR⁵, Yoosefi Rad S¹

1. PhD Student, Associate professors, PhD Student, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Iran

2. Professor, PhD Student, University College of Agricultural and Natural Resources, University of Tehran

3. Faculty staff of Golestan agricultural research station, Gorgan

* Corresponding Author, Email: soltanlooh@gau.ac.ir

ABSTRACT

Important agronomic traits have quantitative heritability and are controlled by many genes or QTLs. To locate QTLs controlling some important quantitative traits in barley, the present experiment was conducted with 162 recombinant inbred lines (RILs) derived from F₈ generation plus the two parents (Arigashar and Igri) in an alpha-lattice design with three replications in Gorgan Agricultural Research Station in 2010. Quantitative traits inclusive plant height, peduncle length, spike length, and resistance to lodging were measured. Analysis of variance showed that all the traits of the lines were significantly different at one percent level. After extracting DNA from the young leaf sample, 21 SSR polymorphic primers and 13 AFLP polymorphic primers were evaluated on the individuals of the population. Linkage map with 542 centiMorgan (cM) including 105 SSR and AFLP markers were used for QTL analysis. QTL analysis using composite interval mapping (CIM) was performed. Totally, eight QTLs were detected including one for plant height, two for peduncle length, three for spike length and two for resistance to lodging, respectively. *QLrgH2.1a* at marker distance of 60.6 cM to *Xbmag125* and *QLrgH2.1b* at marker distance of 72.6 cM to *XE36-M49* on chromosome 2H (H2.1) are most likely QTLs for lodging resistance. The results of this experiment can be used in marker assisted selection (MAS) for production of lodging resistance varieties.

Key Words

Barley, QTL Mapping, Lodging resistance