



## مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده برخی صفات زراعی گندم نان تحت تنش خشکی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

جمیله عابدی<sup>۱</sup>، قاسم محمدی‌نژاد<sup>۲</sup> و امین باقی‌زاده<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران  
۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، (نویسنده مسوول: Mohammadinejad@uk.ac.ir)  
۳- گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران  
تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۸  
صفحه: ۱۶۰ تا ۱۶۷

### چکیده

به منظور شناسایی ریزماهوره‌های پیوسته با برخی صفات زراعی گندم در شرایط تنش خشکی انتهای فصل، جمعیتی شامل ۹۶ خانواده  $F_{2:4}$  حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های خارجی (والد محتمل) و کاسپارد (والد حساس) طی ۲ سال ارزیابی شدند. از میان ۹۲ ریز ماهوره برای ارزیابی والدین، ۳۲ ریزماهوره چند شکلی داشتند که در کروموزوم‌های ۲B، ۲D، ۳B، ۴A، ۴B، ۴D، ۵A، ۵B، ۵D، ۶B، ۷A، ۷B، ۷D گندم توزیع شده بودند. بر اساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، سه QTL برای صفت ارتفاع گیاه مکان‌یابی گردید که بر روی کروموزوم ۷B قرار داشتند و بالاترین QTL با بیشترین LOD برابر با ۳/۲۱ و در فاصله بین Xgwm369 و Xgwm274 قرار داشت و ۱۴/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کرد، برای صفت تعداد دانه در سنبله اصلی یک QTL بر روی کروموزوم ۲B و برای صفت شاخص برداشت نیز یک QTL بر روی کروموزوم ۴B شناسایی گردید. جایگاه مشترک برخی از QTL‌های مکان‌یابی شده بیانگر پیوستگی ژنی یا اثر پلئوتروپیک است. اشباع نقشه مورد نظر و ارزیابی پایداری صفات مورد بررسی می‌تواند با قابلیت بیشتری شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده را تأیید نماید و زمینه‌گزینش بر اساس نشانگر را فراهم نماید.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، گندم نان، SSR، QTL

### مقدمه

کمی و روش‌های مکان‌یابی ژن‌های کمی<sup>۱</sup> (QTL) تا حد زیادی مطالعه‌ی توارث صفات را برای محصولات زراعی از جمله گندم تسهیل نموده است (۱). شناسایی ریزماهوره‌های مولکولی کاملاً پیوسته با ژن مورد نظر و مکان‌یابی آن در روی کروموزوم یک هدف مهم در اصلاح نباتات برای کلون کردن ژن‌ها و گزینش به کمک نشانگر است (۲). مطالعه پیرامون مکان‌یابی<sup>۳</sup> و یا نشانمند کردن<sup>۳</sup>، اطلاعاتی را در مورد تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفت و محل این صفت در نقشه لینکاژی<sup>۴</sup> ارائه می‌دهد. تجزیه ژنتیکی صفات پیچیده از قبیل تحمل به خشکی و شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی امکان انتخاب به کمک ریزماهوره‌ها را فراهم کرده و نهایتاً سبب بهبود کارایی گزینش برای عملکرد می‌شود. استفاده از ریزماهوره‌ها به عنوان معیار انتخاب همچنین جانشین مهمی برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی است (۱۸). ریزماهوره‌ها<sup>۵</sup> یکی از کارآمدترین نشانگرهای مولکولی هستند. توزیع مناسب در ژنوم، سهولت استفاده، طبیعت چنداللی و هم بارز بودن از مزایای این نشانگرها است (۴). نقشه‌های ریزماهورکی گندم در سال ۱۹۹۸ توسط رودر و همکاران (۱۹) تهیه شد. با توجه به اینکه گندم ۲۱ گروه لینکاژی از سه ژنوم متفاوت A، B و D دارد، هرچه تعداد ریزماهوره‌ها در نقشه ژنتیکی گندم افزایش یابد، چارچوب نقشه کامل‌تر و اهداف بعدی که شامل اشباع کردن نقشه، یافتن مکان ژن‌ها و سایر موارد می‌باشد، راحت‌تر انجام می‌گیرد (۱۰). مطالعات مختلفی برای شناسایی QTL‌های گندم انجام گرفته است. شاه و همکاران (۲۱) در نقشه‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مهم زراعی گندم که روی کروموزوم ۳A قرار دارند چند QTL که ارتفاع گیاه را تحت

بیش از یک سوم جمعیت جهان، بیشتر از نصف کالری و پروتئین مورد نیاز روزانه خود را از فراورده‌های گندم تأمین می‌کنند و گندم یک منبع ارزان انرژی به خصوص برای مردم جهان سوم محسوب می‌شود (۲۰، ۱۱). گندم یکی از محصولات مهم و استراتژیک در ایران می‌باشد. سطح زیر کشت گندم در ایران و اکثر مناطق جهان بیشتر از سایر غلات است. بر اساس آمار و ارقام سازمان خواربار و کشاورزی سازمان ملل فائو، ایران نیز با تولید ۵/۱۳ میلیون تن گندم، دوازدهمین تولیدکننده بزرگ این محصول در سال ۲۰۱۰ محسوب می‌شود. خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید موفق محصولات زراعی از جمله گندم به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا و ایران است (۱۳). تریوتان و همکاران (۲۵) معتقدند حدود ۳۰ درصد از کل سطح زیر کشت گندم دنیا و حدود ۵۵ درصد از اراضی زیر کشت گندم کشورهای در حال توسعه، از جمله ایران به نحوی تحت تأثیر تنش خشکی قرار دارد. علی‌رغم تحقیقات متعدد، هنوز خشکی چالش بزرگی در تولید محصولات زراعی از جمله گندم می‌باشد که ناشی از غیرقابل پیش بینی بودن، شدت، زمان وقوع، طول دوره و واکنش‌های متقابل خشکی با سایر تنش‌های غیرزیستی می‌باشد (۷). بسیاری از مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی مکان‌یابی شده‌اند و ارتباط بین این مکان‌های ژنی و تحمل به خشکی از طریق عملکرد نسبی لاین‌ها در شرایط خشک ارزیابی شده است (۱۷). تحمل به خشکی صفت پیچیده و چندژنی است که گیاه را در تمام سطوح اعم از سلول، بافت و اندام تحت تأثیر قرار می‌دهد. ظهور و توسعه تکنیک‌های مولکولی در ژنتیک

1- Quantitative Trait Loci

2- Mapping

3- Tagging

4- Linkage map

5- Microsatellite markers

ساتی‌گرا، ۴۵ ثانیه در دماهای اتصال (دمایی که برای هر پرایمر پیشنهاد شده بود)، یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. محصولات PCR در ژل پلی‌اکریل آمید 8% با ولتاژ ۲۱۳ در بافر TBE(1X) به مدت 2 ساعت تفکیک شده و سپس توسط نیترا ت نقره رنگ آمیزی شدند. آغازگرها از نقشه‌های ریزماهواره ارائه شده توسط سایر محققین و همچنین از سایت گرامینه انتخاب شدند (۱۹). در مجموع ۹۲ جفت آغازگر SSR در بررسی چندشکلی والدین مورد استفاده قرار گرفتند و تعداد 32 ریزماهواره چند شکل الگوی نواریندی متفاوتی برای دو والد نشان دادند. در مرحله بعد نمونه‌های DNA افراد با استفاده از ۳۲ جفت آغازگر مذکور (جدول ۱) تکثیر شدند و فرآورده‌های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد، الکتروفورز شدند.

#### تجزیه آماری

برای تجزیه‌ی آماری، امتیازدهی به باندهای واضح به صورت کمی (حضور و عدم حضور و دو بانده بودن) به ترتیب (A, B, H) انجام شد و برای ۳۲ آغازگر مورد استفاده یک ماتریس تشکیل داده شد.

#### ترسیم نقشه‌ی پیوستگی و تجزیه QTL

برای ترسیم نقشه‌ی لینکاژی ابتدا ماتریس تهیه شده براساس وضعیت قرار گرفتن آلل‌ها در والدین به صورت حروف A, B و H که قابلیت استفاده و اجرا در MapManager و QGene را دارند درآمد. سپس نقشه ترسیم شد. نقشه‌یابی فاصله‌ی مرکب (CIM) برای داده‌های فنوتیپی ۹۶ خانواده F<sub>۴</sub> صورت گرفت. پیمایش برای QTL با استفاده از نرم‌افزار QTL Cartographe و QGene با در نظر گرفتن LOD آستانه‌ی نرم‌افزار که براساس چرخش داده‌ها با توزیع تجربی داده‌ها بدست می‌آید، صورت پذیرفت. نقشه‌یابی QTL به وسیله‌ی برنامه QTL Cartographer و براساس مکان‌یابی فاصله‌ی مرکب انجام گرفت. مکان‌یابی QTL‌ها براساس پویش ۲ ساتی‌مورگان در نظر گرفته شد. تجزیه QTL برای همه صفات مورد بررسی به طور جداگانه صورت پذیرفت. نهایتاً تجزیه QTL اطلاعات زیر را در اختیار قرار داد: تعداد و مکان QTL‌های موجود برای هر صفت، میزان اثر هر QTL، به عبارتی میزان تنوعی که توسط هر یک از QTL‌های شناسایی شده توجیه می‌شود و نوع عمل QTL.

#### مکان‌یابی QTL‌ها، طراحی نقشه پیوستگی و تجزیه آماری

نقشه لینکاژی ریزماهواره‌ها با استفاده از نرم‌افزار Map Manager QTX ترسیم شد و فاصله ژنومی (ساتی‌مورگان) با استفاده از تابع کوزامبی با فاصله کمتر از ۵۰ ساتی‌مورگان محاسبه گردید. نقشه‌یابی فاصله‌ی مرکب (CIM) برای داده‌های فنوتیپی ۹۶ خانواده و داده‌های ژنوتیپی ۹۶ تک بوته صورت گرفت. پیمایش برای QTL‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای QTL Cartographer و Qgene در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

تاثیر قرار می‌دادند روی این کروموزوم گزارش کرده‌اند. سوردیل و همکاران (۲۴) در مطالعه مکان‌های ژنی صفات زراعی مهم گندم، چهار QTL کنترل‌کننده ارتفاع گیاه را مکان‌یابی نمودند. در مطالعات متعددی برای عملکرد دانه گندم QTL‌های مختلفی مکان‌یابی شده‌اند که بطور غیر یکنواخت در کل ژنوم روی کروموزوم‌ها توزیع شده‌اند. بیشترین تعداد QTL روی کروموزوم‌های 3B، 2B و 4A شناسایی شده است (۲۷). کومار و همکاران (۱۴) با استفاده از ریزماهواره‌ها در ۱۰۰ لاین اینبرد نو ترکیب گندم حاصل از تلاقی ارقام PH132 و w1711، شش QTL روی کروموزوم‌های 2B، 4D، 2A و 1A مکان‌یابی کردند. هدف از این تحقیق شناسایی ریزماهواره‌های مرتبط با ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در نسل F<sub>4</sub> گندم نان حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های گاسپارد و خارچیا تحت شرایط تنش خشکی و تعیین سهم هر یک از این ریزماهواره‌ها در توجیه تنوع فنوتیپی صفات مذکور بود.

#### مواد و روش‌ها

##### بررسی فنوتیپی

در این آزمایش از تلاقی ژنوتیپ متحمل خارچیا و ژنوتیپ حساس گاسپارد گندم نان استفاده شد. ۹۶ خانواده F<sub>4</sub> در پلات‌هایی با مساحت یک و نیم متر مربع بر روی ۳ خط با فاصله بین ردیف ۳۰ سانتی متر در ۱۰ بلوک به همراه والدین در قالب طرح آگمنت تحت تنش خشکی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته واقع در ۳۰ کیلومتری شهر کرمان کاشته شد. به منظور اعمال تنش خشکی انتهای فصل، تا قبل از سنبله‌دهی آبیاری به طور مرتب صورت گرفت و با شروع ظهور سنبله‌ها، آبیاری تا انتهای رشد قطع شد. در نهایت صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در سنبله اصلی و شاخص برداشت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

##### ارزیابی ژنوتیپی

نمونه‌های برگی از ۹۶ تک بوته F<sub>2</sub> حاصل از تلاقی گاسپارد و خارچیا تهیه شد. DNA ژنومی طبق روش تغییر یافته دلاپورتا از برگ‌های جوان استخراج گردید (۶). تعیین کمی و کیفیت DNA ژنومی با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز ۰/۶ درصد و اسپکتروفتومتری انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر اپندورف در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام گردید. مخلوط واکنش حاوی ۱ میکرولیتر بافر PCR (۵۰۰ میلی‌مول کلریدپتاسیم و ۲۰۰ میلی‌مول تریس-اسیدکلریدریک با PH= ۸/۴)، ۰/۲۵ میکرولیتر ۱/۵MgCl<sub>2</sub> میلی‌مولار با غلظت ۵۰ میلی‌مول، ۰/۲۵ میکرولیتر dNTP با غلظت ۱۰ میلی‌مول برای هر کدام بازا (dATP، dGTP، dCTP و dTTP)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۵ میلی‌مولار، تک‌پلیمرز ۰/۲۵ میکرولیتر و ۵۰ نانو گرم از DNA الگو و ۴/۲۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. به منظور تکثیر قطعات DNA چرخه‌های PCR به شرح زیر انجام شد: بعد از ۵ دقیقه واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل: یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه

**نتایج و بحث**

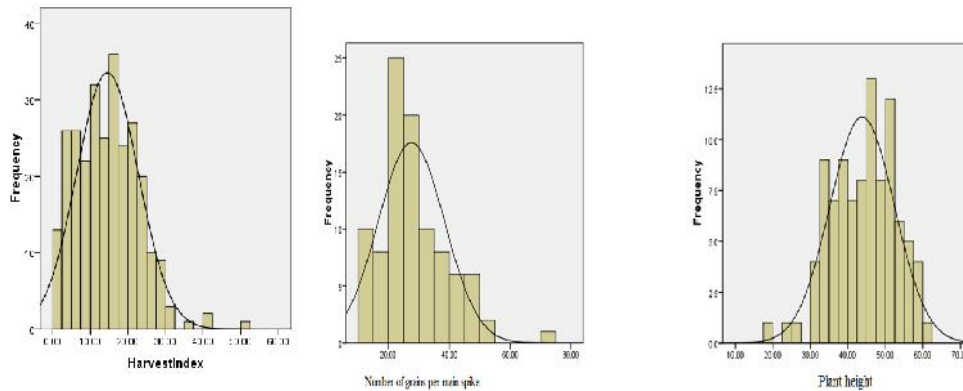
**نتایج ارزیابی فنوتیپی**

پراکنش صفات در خانواده F<sub>4</sub> در شکل (۱) نشان می‌دهد که صفات مورد مطالعه دارای توزیع نرمال هستند، توزیع فنوتیپی پیوسته و نرمال صفات اندازه‌گیری شده در جامعه مورد مطالعه

حاکمی از وراثت پلی‌ژن در صفات مورد بررسی است. میانگین و دامنه صفات مورد بررسی در والدین و خانواده F<sub>4</sub> حاصل از تلاقی گاسپارد و خارچیا در جدول (۲) آورده شده است. این جدول گویای آن است که والدین و همچنین خانواده F<sub>4</sub> از نظر صفات مورد مطالعه متفاوت بوده و تنوع دارند.

جدول ۱- اسامی ریزماهواره‌ها، دمای اتصال، مکان کروموزومی و طول قطعه نشانگرهای چندشکل در سطح والدین مورد استفاده در گندم نان  
Table 1. Microsatellite marker names, annealing temperature, chromosomal location and length of a piece of multimodal markers at the level of parents used in bread wheat

نشانگر ریزماهواره	دمای اتصال	توالی تکراری (موتیف)	مکان کروموزومی	طول قطعه
Xgwm6	55	(GA)40	4B	196-207bp
Xgwm44	60	(GA)28	7D	176-178bp
Xgwm46	60	(GA)2GC(GA)33	7B	176-179bp
Xgwm102	60	(CT)15	2D	145-153bp
Xgwm114	60	(GA)53	3B	142-168bp
Xgwm148	55	(CA)22	2B	152-167bp
Xgwm186	60	(GA)26	5A	106-132bp
Xgwm249	55	(GA)11(GGA)8	2D	150-154bp
Xgwm251	55	(CA)28	4B	109-110bp
Xgwm257	60	(GT)30	2B	190-192bp
Xgwm261	55	(CT)21	2D	164-194bp
Xgwm271	60	(CT)4imp(GA)10	5D	179bp
Xgwm274	50	(GT)27	1B, 7B	177-184bp
Xgwm285	60	(GA)27	3B	222-227bp
Xgwm295	60	(GA)25	7D	254-258bp
Xgwm297	55	(GT)12(GA)18	7B	150-168bp
Xgwm320	55	(GT)9(GA)15	2D	226bp
Xgwm332	60	(GA)36	7A	290-211bp
Xgwm340	60	(GA)26	3B	159bp
Xgwm350	55	(GT)14	7A	209-215bp
Xgwm368	60	(AT)25	7B	259-271bp
Xgwm400	60	(CA)21	7B	143-150bp
Xgwm408	55	(CA)>22(TA)(CA)7(TA)9	5B	148-182bp
Xgwm428	60	(GA)22	7D	133-137bp
Xgwm437	50	(CT)24	7D	109-111bp
Xgwm484	55	(CT)29	2D	43-153bp
Xgwm495	60	(GA)20	4B	160-178bp
Xgwm539	60	(GA)27	2D	143-157bp
Xgwm565	60	(CA)10	5D	142-150bp
Xgwm601	60	(CT)17	4A	142-152bp
Xgwm608	60	(GA)16	4D	144-151bp
Xgwm613	60	(CT)23	6B	114-118bp



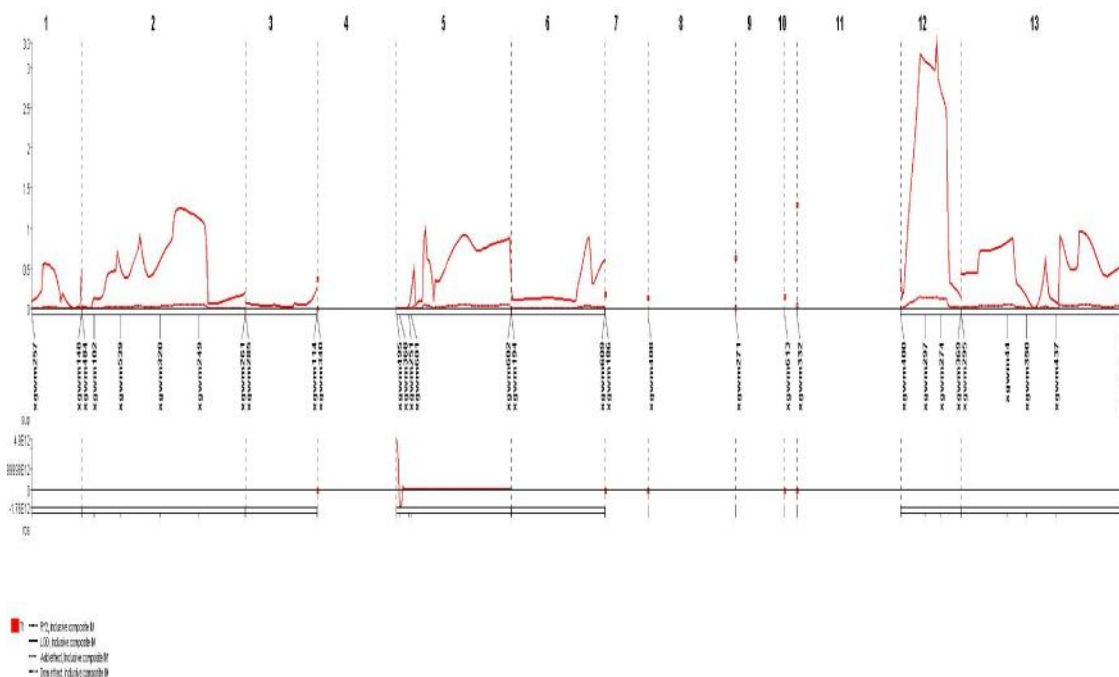
الف ب ج  
 شکل ۱- توزیع فراوانی صفات زراعی در شرایط تنش خشکی در نسل F<sub>4</sub>: (الف) ارتفاع گیاه، (ب) تعداد دانه در سنبله اصلی، (ج) شاخص برداشت  
 Figure 1. Frequency distribution of different traits in drought stress conditions in F<sub>4</sub> generation a) Plant height, b) Grain weight per main spike, c) Harvest index

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مختلف در شرایط تنش خشکی در والدین گاسپارد، خارچیا و نسل F<sub>4</sub>  
 Table 2. Comparison of the mean of different traits in drought stress conditions in parents of Gaspard, Charchia and F<sub>4</sub> generation

صفات گیاهی	P1		P2		F4	
	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه
ارتفاع گیاه	۴۱/۶۵	۲۵	۴۴/۸۵	۲۸/۵	۴۳/۸۱	۴۱/۵
تعداد دانه در سنبله اصلی	۲۴/۶۹	۵۴	۱۷/۴۷	۳۵	۲۷/۵۳	۶۰
شاخص برداشت	۱۳/۲۱	۵۶/۰۲	۱۲/۲۲	۳۹/۱۶	۱۵/۴۴	۴۹/۴۱

جدول ۳- QTLهای شناسایی شده به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای صفات مختلف در جمعیت‌های نسل چهارم در شرایط تنش خشکی در گندم نان  
 Table 3. Identified QTLs by mapping composite interval method for different traits in fourth generation populations in drought stress conditions in bread wheat

QTL	اثر غالبیت	اثر افزایشی	R <sup>2</sup>	کروموزوم	LOD	موقعیت	صفت
QH-7B-a	-۴۸/۱۸۱	-۲۲۲/۹۶۷	۰/۱۱۳	۲/۹۸۵	7B	۳۰	ارتفاع گیاه
QH-7B-b	-۱۲۴/۲۳۲	-۱۷۳/۷۸۶	۰/۱۱۳	۲/۹۶۶	7B	۳۲	
QH-7B-c	-۷/۳۶۴	۱/۰۲	۰/۱۱۴۳	۳/۲۱۱	7B	۴۴	
QNGPMS-2B-a	-۲۲۰۸/۸۸	-۱۱۱۹/۷۷	۰/۱۱	۲/۵	2B	۳۰	تعداد دانه در سنبله اصلی شاخص برداشت
QHI-4B-a	-۱۴۵۱۲۱	-۴۱۵۵/۶۸	۰/۱۱۴۲	۳/۱۹۴	4B	۳۰	



شکل ۲- QTL‌های مکان‌یابی شده در برخی کروموزوم‌ها برای صفت ارتفاع بوته  
Figure 2. QTLs Found on some chromosomes for Plant Height

### نتایج تجزیه QTL

نتایج تجزیه QTL به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب برای صفات مورد بررسی در جدول (۳) خلاصه شده است. شکل (۲) QTL‌های مکان‌یابی شده در برخی کروموزوم‌ها را برای ارتفاع گیاه نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول (۳) و شکل (۲) ملاحظه می‌شود برای ارتفاع گیاه، سه QTL شناسایی گردید که هر سه QTL بر روی کروموزوم 7B قرار دارند، بیشترین LOD در بین آن‌ها برابر با ۳/۲۱ و در فاصله بین ریزماهوره Xgwm274 و Xgwm369 قرار داشت و ۱۴/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد. این QTL از والد حساس انتقال یافته و در زمینه ژنتیکی نتاج بیان شده است. مکافری و همکاران (۱۶) سه QTL روی کروموزوم‌های ۱B، ۳A و ۷A برای ارتفاع گیاه تشخیص دادند. هانگ و همکاران (۱۲) چهار QTL برای ارتفاع گیاه گزارش کردند. لیودانگ و همکاران (۸) با بررسی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفت ارتفاع گیاه هفت QTL مطلوب تأثیرگذار بر ارتفاع گیاه را به ترتیب روی کروموزوم‌های ۴B، ۱B (دو ناحیه)، ۶A (دو ناحیه)، ۶D و ۷A تشخیص دادند که تنوع فنوتیپی توسط هر QTL از ۵/۲ تا ۵۰/۱ درصد متغیر بود. گفتنی است مطالعاتی که با استفاده از رگه‌های جایگزین کروموزومی انجام شده، نشان می‌دهد که تمامی ۲۱ کروموزوم گندم در تظاهر صفت ارتفاع دخالت دارند (۲۳). ورنلد و همکاران (۲۶) گزارش کرده‌اند که ریزماهوره Xgwm261 روی کروموزوم ۲D با ژن پا کوتاهی Rht8 پیوستگی دارد. یکی از دلایل عدم انطباق این نتایج از لحاظ موقعیت کروموزومی با نتایج دیگران استفاده از نشانگرها و جمعیت مختلف می‌باشد. برای صفت تعداد دانه در سنبله

اصلی یک QTL شناسایی گردید. این QTL روی کروموزوم ۲B قرار داشت که QTL قرار گرفته بر روی کروموزوم ۲B کوچک اثر می‌باشد. لو و همکاران (۱۵) با ارزیابی ۱۳۲ لاین دابل هاپلوئید دو QTL برای این صفت گزارش نمودند. دشتی و همکاران (۵) در تجزیه و تحلیل QTL برای مقاومت به خشکی در گندم با استفاده از لاین‌های دابل هاپلوئید پنج QTL برای صفت تعداد دانه هر خوشه شناسایی کردند. همچنین سیشن و همکاران (۲۲) نیز در سال ۲۰۰۷ چند QTL برای تعداد دانه در سنبله گزارش کردند. گوپتا و همکاران (۹) در سال ۲۰۰۷ چهار QTL روی کروموزوم‌های ۲A، ۴B و ۷A برای تعداد دانه در سنبله پیدا کردند. برای صفت شاخص برداشت یک QTL بر روی کروموزوم ۴B یافت شد که ۱۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه می‌کرد. عدم شناسایی QTL‌های مشترک بین آزمایش حاضر و تحقیقات سایر محققان با دلایل مختلفی از قبیل وجود اثر متقابل ژنوتیپ × محیط، خطاهای آزمایشی، عدم پوشش کامل ژنومی، نوع جمعیت نقشه‌یابی و عدم چندشکلی در مکان‌های کروموزومی مورد نظر در جمعیت حاضر ارتباط داشته است. در مقابل وجود موقعیت‌های مشابه برای QTL‌های مختلف در آزمایش‌های مختلف، نشانه کنترل ژنتیکی مشابه صفات در زمینه‌های ژنتیکی متفاوت می‌باشد (۳). انتخاب برای یک صفت کمی براساس اثرات افزایشی برآورد شده از نشانگرها می‌تواند مؤثرتر از انتخاب براساس فنوتیپ (خصوصاً صفاتی که دارای وراثت‌پذیری پایینی هستند) باشد. وقتی که نشانگرهای ژنتیکی در طرفین یک QTL قرار بگیرند، آنگاه انتخاب براساس نشانگرها (MAS)، انتخاب براساس ژنوتیپ خواهد بود و پاسخ به انتخاب به

1- Marker-Assisted selection

به طور کلی می‌توان با جمع‌آوری QTL‌های مفید در یکی از والدین از طریق تلاقی یا در یک لاین با استفاده از انتخاب، سطح بالاتری از تحمل به خشکی را ایجاد کرد و در نتیجه عملکرد بالاتری را در شرایط تنش خشکی به دست آورد.

حداکثر می‌رسد. از آنجائی که QTL‌های شناسایی شده برای این صفات کوچک اثر تشخیص داده شد، لذا تا این مرحله هنوز قابلیت کاربرد در انتخاب را نداشته و نیاز به مطالعات بیشتر در شرایط محیطی می‌باشد.

### منابع

1. Abdul, Q., R. Abdul, A. Muhammad and M.A. Jenks. 2011. Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content. *African Journal of Biotechnology*, 10: 14038-14045.
2. Arif, M. 2002. Molecular mapping of genes/QTLs affecting resistance to *Xanthomonas oryzae pv. Oryza* and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). PhD thesis, University of Philippines in Los Banos, Philippines.
3. Blanco, A., R. Simeone and A. Gadaleta. 2006. Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 112: 1195-1204.
4. Bryan, G.J., A.J. Collins, P. Stephenson, A. Orry and J.B. Smith. 1997. Isolation and characterization of microsatellite from hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 557-563.
5. Dashti, H., B. Yazdi Samadi, S. Abdmyshany and M.R. Ghannadha. 2001. QTL analysis of cold tolerance traits and heading date in wheat using double Haploids *Journal of Agricultural Science*, 32: 177-157 (In Persian).
6. Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 4: 19-21.
7. Diab, A.A., A.H. Fahmy, O.S. Hassan, M.M. Nachit and O.A. Momtaz. 2007. Identification of chromosomal region and genetic contribution of gene controlling yield and other agronomic traits in durum wheat grown under different Egyptian environmental conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3: 401-422.
8. Dong-Cheng, L., G. Mu-Qiang, G. Rong-Xia, L. Run-Zhi, C. Shuang-He, L. Xiao-Li and A.M. Zhang. 2002. Mapping Quantitative Trait Loci for Plant Height in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using a F<sub>2:3</sub> Populations, *Journal of Genetics and Genomics*, 29(8): 706-71.
9. Gupta, P.K., H.S. Balyan, P.L. Kulwal, N. Kumar, A. Kumar, R.R. Mir, A. Mohan, J. Kumar and J. Zhejiang. 2007. QTL analysis for some quantitative traits in bread wheat. *University Science B*, 8: 807-814.
10. Gupta, P.K., H.S. Balyan, K.J. Edwards, P. Isaac, V. Korzun, M.S. Roder, F. Gautier, P. Joudrier, A.R. Schlatter, J. Dobcovsky, R. Delapena, M. Khairallah, G. Penner, M.J. Hayden, P. Sharp, B. Keller, R.C. Wang, J.P. Hardouin, P. Jack and P. leory. 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat, *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 413-422.
11. Hassan, S.E. and I. Khaliq. 2008. Quantitative inheritance of some physiological traits for spring wheat under two different population densities. *Pakistan Journal of Botany*, 40: 581-587.
12. Huang, X.Q., S. Cloutier, L. Lycar, N. Radovanovic, D.G.N.J.S. Humphreys, D.J. Somers and P.D. Brown. 2006. Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheats (*Triticum aestivum* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 113: 753-766.
13. Kirigwi, F.M., M. Van Ginkel, R.G. Trethowan, R.G. Sears, S. Rajaram and G.M. Paulsen. 2004. Evaluation of selection strategies for wheat adaptation across water regimes. *Euphytica*, 135: 361-367.
14. Kumar, A. and S.C. Sharma. 2007. Genetics of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research Communications*, 1: 43-52.
15. Lu, C., L. Shen, Z. Tan, Y. Xu, Y. Chen and L. Zhu. 1997. Comparative mapping of QTLs for agronomic traits of rice across environments using a doubled-haploid population, *Theoretical and Applied Genetics*, 93: 1211-1217.
16. Maccaferri, M., M.C. Sanguineti, S. Corneti, J.L.A. Ortega, M.B. Salem, J. Bort, E. Deambrogio, L.F.G. Moral, A. Demontis, A. Eh-Ahmed, F. Maalouf, H. Machlab, V. Martos, M. Moragues, J. Motawaj, M. Nachit, N. Nserallah, H. Ouabbou, C. Royo, A. Slama. 2008. Tuberosa, Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum Desf.*) across a wide range of water availability, *Genetics*, 178: 489-511.
17. MacKill, D.J. 2003. What molecular tools are available for selection for drought tolerance? In: Fischer, K. S., Laffite, R., and Fukai, S. (eds.) *Environments*. IRRI, Philippines, 55-61.
18. Price, A. and B. Courtois. 1999. Mapping QTLs associated with drought resistance in rice: progress, problems and prospects. *Plant Growth Regulators*, 29: 123-133.
19. Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Placocke, M.H. Tixier, P. Lerou and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 144: 2007-2023.
20. Sami, U.A., A.S. Khan, A. Raza and S. Sadique. 2010. Gene action analysis of yield and yield related traits in spring wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture Biology*, 12: 125-128.

21. Shah, M.M., K.S. Gill, P.S. Baenziger, Y. Yen, S.M. Kaeppler and H.H. Ariyaratne. 1999. Molecular mapping of loci for agronomic traits on chromosome 3A of bread wheat. *Crop Science*, 39: 1728-1732.
22. Sishen, L., J. Jizeng and W. Xyanyun. 2007. An interval genetic map and QTL analysis for height in wheat using a doubled-haploid population, *Theoretical and Applied Genetics*, 96: 933-940.
23. Snape, J.W., C.N. Law and A.J. Worland. 1977. Whole-chromosome analysis of height in wheat. *Heredity* 38: 25-36.
24. Sourdille, P., T. Cadalen, H. Guyomarc, H.J.W. Snape, M.R. Perretant, G. Charmet, C. Boeuf, S. Bernard and M. Bernard. 2003. An update of the Courtot  $\times$  Chinese spring intervarietal molecular marker linkage map for QTL detection of agronomic traits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 530-538.
25. Trethowan, R.M., M. VanGinkel and S. Rajaram. 2002. Progress in breeding wheat for yield and adaptation in global drought affected environments. *Crop Science*, 42: 1441-1446.
26. Worland, A.J. and C.N. Law. 1986. Genetic analysis of chromosome 2D of wheat. *Z Pflanzenzuecht*, 96: 331-345.
27. Zhang, L.Y., D.C. Liu, X.L. Guo, W.L. Yang, J.Z. Sun, D. Wang and A. Zhang. 2009. Distribution in genome of quantitative trait loci (QTL) for yield and yield-related traits in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 43-52.

## Mapping of Loci Controlling Some of Agronomic Traits in Bread Wheat Under Drought Stress Conditions using Microsatellite Markers

Jamileh Abedi<sup>1</sup>, Ghasem Mohammadi Nejad<sup>2</sup> and Amin Baghizadeh<sup>3</sup>

1- Graduate Student, University of Advanced Technology, Kerman, Iran

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, (Corresponding author: Mohammadinejad@uk.ac.ir)

3- Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman-Iran

Received: May 12, 2015 Accepted: September 30, 2018

### Abstract

In order to identify microsatellite markers linked to some traits of wheat under drought stress at the end of the season, the population included 96 family F2:4 genotypes derived from the cross Kharchia (tolerant parent) and Gaspard (susceptible parent) were evaluated for 2 years. Of the 92 microsatellite markers used to assess parents, 32 markers were polymorphic that located on chromosomes 2B, 2D, 3B, 4A, 4B, 4D, 5A, 5B, 5D, 6B, 7A, 7B, 7D. Based on composite interval mapping was found 3 QTL for plant height trait which were located on chromosome 7B and the highest QTL with the largest LOD equal to 3.21 was located between Xgwm274 and Xgwm369 and justified 14.3 percent of phenotypic variation. For number of seeds per main spike trait, 1 QTL was detected on chromosome 2B and 1 QTL was identified on the chromosome 4B for harvest index trait. The common position of some of the located QTLs indicates a genetic linkage or pleiotropic effect. The saturation of the desired map and the evaluation of the stability of the studied traits can confirm the ability to identify the controller QTLs and provide the basis for Marker-Assisted Selection.

**Keywords:** Bread Wheat, Drought Stress, QTL, SSR