

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مرفولوژیک ذرت با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

آنیتا نماینده^۱، محمد مجتبی کامل منش^۲، مسعود زاد باقری^۳ و مهدی زارع^۴

چکیده

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی علاوه بر اطلاعات مفیدی که در زمینه جایگاه و تعداد ژن‌ها فراهم می‌کند، می‌تواند به نژادگران را در گزینش به کمک نشانگر یاری نماید. به منظور مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده تعداد ردیف دانه در بلال، تعداد دانه در ردیف، عرض تک دانه، ضخامت دانه و وزن دانه در هر بلال، جمعیتی شامل ۱۰۸ توده نسل سوم که از تلاقی دو اینبرد لاین K1264/1 و K47/2-2-1-3-3-1-1-1 حاصل شده بودند، ارزیابی گردیدند. نقشه پیوستگی جمعیت با استفاده از ۶۰ آغازگر ریزماهواره ترسیم گردید که، نشانگرها در سه گروه پیوستگی قرار گرفته و ۶۱۸/۲ سانتی‌مورگان از ژنوم ذرت را پوشش دادند. تجزیه بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای صفات مورد مطالعه، ۵۹ جایگاه صفت کمی شناسایی نمود. پنج جایگاه برای صفت کمی تعداد ردیف دانه در بلال شناسایی گردید که در مجموع ۷۸/۴۹ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کردند. نوزده جایگاه برای عرض دانه شناسایی شد، که جایگاه‌های اول با ۳/۴۹ سانتی‌مورگان فاصله از نشانگر phi104127 (بر روی کروموزوم شماره ۳) و جایگاه نهم با ۲ سانتی‌مورگان فاصله از نشانگر phi213984 (بر روی کروموزوم شماره ۴)، با توجه به فاصله کم آن‌ها از نشانگرهای مجاورشان می‌توانند به عنوان یک نشانگر جهت استفاده در انتخاب ژنوتیپ‌ها برای صفت مذکور معرفی گردند. برای تعداد دانه در ردیف نیز یک جایگاه مکان‌یابی شد که ۱۷/۹ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود. نوزده جایگاه برای ضخامت دانه و پانزده جایگاه برای وزن دانه شناسایی شد که به ترتیب ۹۸/۴ و ۸۷/۱۷ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. جایگاه‌های شناسایی شده در صفات وزن، ضخامت و عرض دانه و تکرار تعدادی از آن‌ها نشان از پیوستگی صفات مذکور می‌باشد و می‌توانند جهت تعیین محل ژن‌های مهم این صفات، مورد استفاده قرار گیرند، همچنین نشانگرهای ریز ماهواره که با این صفات پیوستگی نزدیکی دارند، می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی و از طریق روش گزینش به کمک نشانگر استفاده گردند.

کلمات کلیدی: ذرت (*Zea mays* L.)، مکان‌یابی صفات کمی، نشانگر ریزماهواره.

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۳/۲۵
۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه باغبانی، شیراز، ایران. (نویسنده مسئول)

E-mail: anitanemayandeh@yahoo.com

۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه گیاه‌پزشکی، شیراز، ایران.

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه باغبانی، شیراز، ایران.

۴. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه زراعت و اصلاح نباتات، شیراز، ایران.

مقدمه و بررسی منابع علمی

مطالعه تنوع صفات کمی، از جمله عملکرد و اجزاء آن با تجزیه و تحلیل میانگین، واریانس و ... صورت می‌گرفت و تنوع فنوتیپی به اجزاء مختلف ژنتیکی و غیر ژنتیکی تجزیه می‌شد، ولی اطلاعاتی در خصوص محل و اثر مکان‌های ژنی کنترل کننده این صفات را فراهم نمی‌کرد. اصلاح‌گران نبات در پی کسب اطلاعات در خصوص مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی^۵ بوده تا با دست کاری آن‌ها، صفت مورد نظر را بهبود بخشند (Mohammadi and Baum, 2008). دانستن این‌که ژن‌های خاص در چه محلی از کروموزوم قرار دارند، می‌تواند کمک مؤثری در تشخیص آثار پیوستگی و چند شکلی ژن‌ها باشد، هم‌چنین آن نواحی از ژنوم را که تأثیر معنی‌داری بر فنوتیپ صفت کمی دارند را آشکار می‌نماید (Sadat Noori and Fazel Najaf Abadi, 2006). نشانگرهای ریز ماهواره به دلیل چند شکلی بالا، همباز بودن، مکان کروموزومی مشخص، قرار گرفتن در نواحی کد نشده ژنوم، سادگی و هزینه نسبتاً پایین کاربرد بسیار زیادی در تهیه نقشه‌های پیوستگی پیدا کردند (Goldstein and Schlotterer, 2000; Gupta and Varshney, 2000). نقشه‌یابی QTL علاوه بر اطلاعات مفیدی که در زمینه جایگاه و تعداد ژن‌های کنترل کننده صفات کمی فراهم می‌کند، می‌تواند به نژادگران را در گزینش به کمک نشانگر یاری نماید.

در سنوات اخیر تجزیه صفات کمی به طور فزاینده‌ای حول استفاده از نشانگرهای ملکولی برای تعیین مکان و اندازه‌گیری اثرات انفرادی ژن‌های کم اثر و پوشیده، متمرکز شده است. شناسایی و تعیین مکان‌های کنترل کننده صفات کمی نظیر عملکرد و اجزای آن در اصلاح نباتات از اهمیت زیادی برخوردار است.

در حال حاضر تعداد زیادی جایگاه مرتبط با عملکرد دانه معرفی شده است (Goque and Gallais, 2006; Ribaut et al., 2007; Sabadin et al., 2008). اما استفاده از لاین‌های والدینی متفاوت و جوامع در حال تفکیک می‌تواند نتایج متفاوتی از تعداد جایگاه‌ها، موقعیت و اثر آن‌ها بدهد. بنابراین بایستی والدین و جوامع متفاوتی جهت تعیین جایگاه‌های وابسته به عملکرد دانه و اجزای آن انتخاب شود (Christov et al., 2004; Tomlecova, 2010). لیو و همکاران (Liu et al., 2008) با استفاده از جمعیت اینبرد و دو سطح کودی نیتروژن، برای عملکرد دانه ذرت، شش جایگاه را معرفی نمودند، که بر روی کروموزوم‌های شماره یک (یک جایگاه) شش (یک جایگاه) هشت (دو جایگاه) و نه (دو جایگاه) قرار داشتند. لی و همکاران (Li et al., 2010) در بررسی دیگری که بر روی ۲۱۰ توده نسل سوم انجام گرفت، ۶۹ جایگاه برای صفات عملکرد دانه، تعداد ردیف دانه در بلال، تعداد دانه در ردیف، وزن صد دانه، طول بلال و قطر بلال در دو شرایط کودی فسفر معرفی شد. در تحقیقی، جایگاه‌های صفات مرتبط با اجزاء عملکرد در ذرت‌های مناطق گرم مورد بررسی قرار

بذر استفاده گردید. برای ارزیابی ژنوتیپی و نیز تولید توده‌های نسل سوم، ۱۰۸ بوته نسل دوم، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز کشت گردید. استخراج DNA از برگ‌های بوته نسل دوم، در مرحله ۶ تا ۸ برگی نمونه‌گیری و پس از انجماد در نیتروژن مایع به دمای ۸۰- درجه سلسیوس منتقل گردید و تا زمان استخراج DNA در این دما نگهداری شدند. برای تولید توده‌های نسل سوم، بوته‌های نسل دوم در مرحله قبل از گرده‌افشانی پاکت گذاری شدند تا نتاج نسل سوم در نتیجه خودباروری، هر بوته تولید گردد. توده‌های نسل سوم حاصل برای ارزیابی فنوتیپی استفاده شدند.

استخراج DNA و ارزیابی ژنوتیپی:

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB انجام گرفت (Gowel and Jarret, 1991). کمیت و کیفیت DNA توسط روش اسپکتروفوتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. نمونه‌های DNA پس از تعیین غلظت، به غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رسیده و در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد استفاده قرار گرفتند. برای ارزیابی ژنوتیپی از ۶۰ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد. این آغازگرها بر اساس تحقیقات قبلی بر روی ذرت انتخاب شدند و توسط شرکت Metabion آلمان سنتز گردید (جدول ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر با اجزاء ۵۰ نانوگرم DNA، سه میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۲۵ میلی‌مول از هر dNTPs، ۰/۲۵

گرفت که با استفاده از ۴۰۰ توده نسل سوم و ۱۱۷ آغازگر ریزماهواره انجام شد و در مجموع سی و دو جایگاه شناسایی گردید. از جایگاه‌های شناسایی شده سه جایگاه برای صفت وزن بلال، سه جایگاه برای تعداد بلال، شش جایگاه برای طول بلال، ده جایگاه برای تعداد ردیف دانه در بلال، پنج جایگاه برای قطر بلال و پنج جایگاه برای تعداد دانه در هر ردیف بلال تعیین شد (Sabadin et al., 2008). شناسایی بیست و شش جایگاه نیز نتیجه بررسی ۲۱۳ توده نسل سوم در دو تیمار نیتروژن با استفاده از ۱۸۹ آغازگر ریزماهواره برای چهار صفت وابسته به عملکرد، شامل عملکرد دانه (هشت جایگاه) مقدار روغن (هفت جایگاه) مقدار پروتئین (شش جایگاه) مقدار نشاسته (پنج جایگاه) بود (Liu et al., 2008).

با توجه به نتایج تحقیقات انجام گرفته، به منظور شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با جایگاه‌های برخی صفات وابسته به عملکرد از جمله: تعداد ردیف دانه در بلال، تعداد دانه در ردیف، عرض تک دانه، ضخامت دانه و وزن دانه در هر بلال، هم‌چنین تعیین سهم هر کدام از جایگاه‌ها در تبیین تغییرات فنوتیپی صفات در گیاه ذرت انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: جمعیت نسل سوم حاصل از تلاقی دو اینبرد لاین K_{47/2-2-1-3-3-1-1-1} و K_{1264/1} تهیه شده از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و

ارزیابی فنوتیپی: مزرعه قبل از کاشت در اواسط فروردین به عمق ۳۰ سانتی‌متر شخم زده شد. هر توده در یک ردیف ۳۰ بوته‌ای به فاصله ۲۰ سانتی‌متر، که در هر کپه ۲ بذر قرار گرفت، کشت شد و پس از سبزشدن در مرحله ۳ تا ۵ برگی تنک شدند و فقط یک بوته نگه داشته شد. مقدار ۲۰۰ کیلوگرم کود نیتروژنی قبل کاشت به همراه ۳۰۰ کیلوگرم کود فسفات آمونیوم به خاک داده و بقیه کود نیتروژنی در زمان ۹ برگی بوته‌ها به عنوان سرک به زمین داده شد. از هر ردیف ۱۵ بوته به طور تصادفی انتخاب و صفات تعداد ردیف دانه در هر بلال، تعداد دانه در ردیف، عرض دانه، ضخامت دانه و وزن دانه در هر بلال اندازه‌گیری شدند.

تجزیه آماری پیوستگی نشانگرهای چند

شکل: تجزیه پیوستگی نشانگرهای چند شکل پس از آزمون انحراف تفرق در هر جایگاه با فرض حداکثر فاصله ۵۰ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور و نسبت احتمال لگاریتمی (LOD) با آستانه برابر سه انجام گردید. رابطه بین داده‌های ژنوتیپی و فنوتیپی برای مکان‌یابی جایگاه‌های فرضی با استفاده از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ارزیابی شد. تجزیه پیوستگی با استفاده از نرم افزارهای Map manager/QTL و مکان‌یابی آن‌ها توسط نرم افزار QTL Cartographer انجام گرفت.

میکرومول آغازگر، یک واحد Taq DNA polymerase و بافر IX انجام گرفت.

برنامه تکثیر به صورت ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه برای واسرشته سازی اولیه و به دنبال آن ۳۰ چرخه شامل، سه مرحله ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، دمای اتصال به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه جهت بسط و نهایتاً مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت هفت دقیقه انجام شد. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید واسرشته ساز ۶ درصد تفکیک و از طریق رنگ‌آمیزی نیترات نقره (CIMMYT, 1984) آشکار سازی شد.

امتیازدهی الگوهای نواری: الگوهای نواری

جایگاه‌های ریزماهواره چند شکل در جمعیت به شکل زیر انجام شد: افراد مشابه با والد اول و دوم به ترتیب با حروف A و B و افراد هتروزیگوت با حرف H امتیازدهی شدند. در برخی از جایگاه‌ها، مثل نشانگرهای غالب، تکثیر فقط در یکی از والدها انجام شده بود به طوری که یک والد دارای نوار و والد دیگر فاقد نوار بود. در صورت عدم وجود نوار در والد اول و وجود آن در والد دوم، افراد فاقد نوار در جمعیت با حرف A و افراد دارای نوار با حرف C امتیازدهی شدند. در صورتی که نوار در والد اول وجود داشته باشد و والد دوم فاقد آن باشد افراد دارای نوار، حرف D و فاقد نوار علامت B را گرفتند.

جدول ۱- توالی‌های تکراری آغازگرهای ریزماهواره چند شکل در ذرت

Table 1- Repeated sequences for polymorphic Simple Sequence Repeat markers in corn

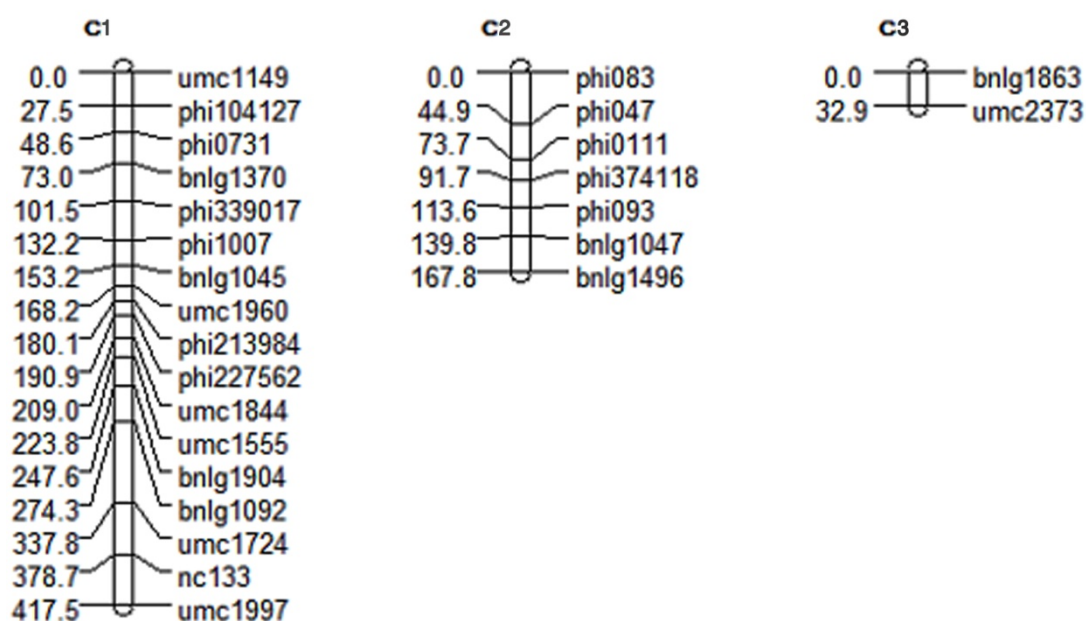
ردیف Line	آغازگرها Primer	توالی تکراری Repeated sequences	ردیف Line	آغازگرها Primer	توالی تکراری Repeated sequences
1	phi 006	CCT	31	bnlg 1257	AG
2	phi 0021	-	32	bnlg 1335	AG
3	phi 021	AG	33	bnlg 1370	AG
4	phi 029	AG/AGCG	34	bnlg 1447	AG
5	phi 046	ACGC	35	bnlg 1496	AG
6	phi 047	ATC	36	bnlg 1523	AG
7	phi 053	ATAC	37	bnlg 1556	AG
8	phi 064	ATCC	38	bnlg 1863	AG
9	phi 072	AAAC	39	bnlg 1904	AG
10	phi 079	AGATG	40	nc 133	GTGTC
11	phi 083	AGCT	41	Umc 0471	-
12	phi 093	AGCT	42	Umc 1060	CGG
13	phi 0111	-	43	Umc 1062	AGC
14	phi 127	AGCT	44	Umc 1109	ACG
15	phi 0152	-	45	Umc 1149	AG
16	phi 0731	-	46	Umc 1161	GCTGGG
17	phi 96100	ACCT	47	Umc 1360	ACA
18	phi 102228	AAGC	48	Umc 1509	TG
19	phi 104127	ACCG	49	Umc 1555	TTCA
20	phi 109188	AAAG	50	Umc 1692	CGAT
21	phi 213984	ACC	51	Umc 1724	CGA
22	phi 227562	ACC	52	Umc 1741	TC
23	phi 339017	AGG	53	Umc 1844	TC
24	phi 374118	ACC	54	Umc 1847	CGC
25	phi 389203	AGC	55	Umc 1915	ACA
26	phi 453121	ACC	56	Umc 1960	-
27	bnlg 1007	AG	57	Umc 1997	-
28	bnlg 1045	AG	58	Umc 2256	AG
29	bnlg 1047	AG	59	Umc 2373	GCT
30	bnlg 1092	AG	60	Umc 2376	ACACAC

مجاور متناسب شدند و حدود ۶۱۸/۲ سانتی مورگان

از ژنوم ذرت را پوشش دادند (شکل ۱).

نتایج و بحث

به منظور تهیه نقشه ژنتیکی و شناسایی جایگاه‌های صفات مورد مطالعه، از ۶۰ نشانگر ریزماهواره استفاده شد که ۳۵ نشانگر در والدین چند شکلی ایجاد نمودند و از این نشانگرهای چند شکل برای ارزیابی ۱۰۸ فرد از جمعیت نسل دوم استفاده گردید. در شناسایی جایگاه‌های صفات مورد مطالعه ۲۶ نشانگر در سه گروه پیوستگی با متوسط فاصله ۲۳/۷۷ سانتی مورگان بین دو نشانگر



شکل ۱- نقشه گروه‌های پیوستگی صفات ذرت

Figure 1- Linkage groups map of corn traits

برای این صفت شناسایی نموده و گزارش کردند که کروموزوم‌های ۱، ۵ و ۱۰ مؤثرترین کروموزوم‌ها بودند. در تحقیق دیگری که توسط لیو و همکاران (Liu et al., 2010) انجام گرفت سه جایگاه برای صفت تعداد ردیف دانه در بلال معرفی گردید که دو جایگاه بر روی کروموزوم شماره ۴ و یک جایگاه بر روی کروموزوم شماره ۱۰ قرار داشت که ۴۴/۵۵ درصد از تغییرات فنوتیپی مربوط به این صفت را توجیه نمودند. دیگر جایگاه‌های یافت شده در مطالعه حاضر برای این صفت با نشانگرهایی بر روی کروموزوم‌های شماره ۱، ۳ و ۴ نزدیک‌ترین فاصله را داشتند که می‌توان به مؤثر بودن کروموزوم‌های مذکور در این صفت اشاره نمود (جدول ۲).

تعداد ردیف دانه در بلال: پنج جایگاه در گروه‌های پیوستگی یک و دو (به ترتیب ۲ و ۳ جایگاه) شناسایی شد که ۷۸/۴۹ درصد از تغییرات فنوتیپی مربوط به این صفت را توجیه نمودند (جدول ۲). چهارمین جایگاه که در گروه دوم با فاصله‌ای برابر با ۱۰ سانتی مورگان از نشانگر phi093 واقع در کروموزوم شماره چهار شناسایی شد، توانست ۷۴/۴۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت مذکور را توجیه نماید. این جایگاه که دارای LOD برابر با ۳/۴ می‌باشد می‌تواند به عنوان یک جایگاه بزرگ اثر و یک ژن معرفی گردد.

لی و همکاران (Li et al., 2010) با بررسی جایگاه‌های صفت تعداد ردیف دانه در دو شرایط تیماری فسفر بالا و پایین، پنج جایگاه را در شرایط فسفر بالا و هفت جایگاه را در شرایط فسفر پایین

کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶ و ۹ مؤثر می‌باشند. در این تحقیق برای صفت تعداد دانه در ردیف ۵ جایگاه گزارش شد که توانستند ۶۲/۱۵ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نماید. لی و همکاران (Li et al., 2010) نیز در دو شرایط فسفر بالا و پایین ۶ و ۵ جایگاه برای این صفت گزارش کردند و کروموزوم‌های شماره ۱، ۵ و ۱۰ و ۱ مؤثرترین کروموزوم‌ها در این صفت معرفی نمودند (Li et al., 2010).

تعداد دانه در ردیف: برای صفت تعداد دانه در ردیف یک جایگاه شناسایی شد که از نشانگر phi213984 واقع در کروموزوم شماره ۴، ۵/۸۹ سانتی مورگان فاصله داشت و توانست ۱۷/۹ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نماید (جدول ۲). در این جایگاه برای این صفت، افراد هتروزیگوت از میانگین والدین برتر بودند و با توجه به مثبت بودن اثرات افزایشی مشخص شد که آلل‌های افزایشنده از والد برتر با تعداد دانه در ردیف بیشتر، به نتاج انتقال یافته است.

لی و همکاران (Li et al., 2010) گزارش کردند که برای صفت تعداد دانه در ردیف

جدول ۲- جایگاه‌های صفات تعداد ردیف دانه در بلال و تعداد دانه در ردیف

Table 2- The QTLs related to number of row per ear and number of seed per row

درصد توجیه تغییرات فنوتیپی R ² (%) phenotypic variance	نسبت احتمال لگاریتمی log ₁₀ of odds ratio (LOD)	اثر غالبیت Dominance effect	اثر افزایشی additive effect	فاصله از نزدیکترین نشانگر Distance from nearest marker	نزدیکترین نشانگر nearest marker	گروه پیوستگی Linkage group	جایگاه QTL	صفت Trait
1.53	5.1	-2.2560	0.8904	6.00	bnlg1370	1	1	تعداد ردیف دانه در بلال Number of row per ear
1.67	7.2	0.7063	-0.8696	2.69	phi1007	1	2	
0.98	2.8	-0.3602	0.6974	9.79	phi093	2	3	
74.41	3.4	-0.5531	6.2713	10.00	phi093	2	4	
0	7.8	1.8555	0.6336	6.00	bnlg1496	2	5	
17.90	3.1	-7.2272	6.7087	5.89	phi213984	1	1	تعداد دانه در ردیف Number of seed per row

کروموزوم شماره ۳، ۴۴/۸۸ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود که می‌توان این جایگاه را به عنوان یک جایگاه پراثر شناخته و به عنوان یک ژن آن را معرفی نمود. هم‌چنین جایگاه‌های اول با phi104127 سانتی مورگان فاصله از نشانگر phi104127 (بر روی کروموزوم شماره ۳) و جایگاه نهم با ۲

عرض دانه: برای صفت عرض دانه ۱۹ جایگاه در گروه‌های پیوستگی یک و دو شناسایی شد که مجموعاً ۹۱/۳۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند (جدول ۳). در بین جایگاه‌های شناسایی شده برای این صفت، شانزدهمین جایگاه با فاصله ۶ سانتی مورگان از نشانگر phi374118 از

کروموزوم شماره ۴ و جایگاه نه با فاصله دو سانتی‌مورگان از نشانگر phi213984 بر روی کروموزوم شماره ۴، جایگاه‌های مناسبی جهت انتخاب برای صفت مذکور، با توجه به فاصله کم آن‌ها از نشانگرهای فوق آل‌های افزایشنده از والدی با ضخامت دانه کمتر به نتاج منتقل شده‌اند. در بین جایگاه‌های معرفی شده، برای صفت مذکور یازده جایگاه (جایگاه‌های ۱، ۲، ۴، ۵، ۶، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۷، ۱۸ و ۱۹) از نوزده جایگاه یافت شده عیناً در صفت عرض تک دانه نیز شناسایی شده است (جدول ۳ و ۴). با توجه به همبستگی مثبت، بالا و معنی‌دار صفات عرض دانه با ضخامت دانه ($r=0.7^{**}$) و نتیجه مذکور دور از ذهن نمی‌باشد (جدول ۵) و چنین می‌توان نتیجه گرفت که این دو صفت توسط ژن‌های یکسان کنترل می‌گردند.

سانتی‌مورگان فاصله از نشانگر phi213984 (بر روی کروموزوم شماره ۴)، با توجه به فاصله کم آنها از نشانگرهای مجاورشان می‌توانند به عنوان یک نشانگر جهت استفاده در انتخاب ژنوتیپ‌ها برای صفت مذکور معرفی گردند. هم‌چنین در جایگاه‌های نامبرده (با اثر افزایشی منفی) آل‌های افزایشنده از والدی با عرض دانه کمتر منتقل شده است.

ضخامت دانه: در صفت ضخامت دانه نیز ۱۹ جایگاه در گروه‌های پیوستگی اول و دوم شناسایی گردید (جدول ۴) که جمعاً ۹۸/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. از بین جایگاه‌های شناسایی شده، جایگاه یک با فاصله ۳/۴۹ سانتی‌مورگان از نشانگر phi104127 بر روی کروموزوم شماره ۳، جایگاه هشت با فاصله ۳/۹ سانتی‌مورگان از نشانگر phi213984 بر روی

جدول ۳- جایگاه‌های صفت عرض تک دانه

Table 3- The QTLs for Grain width

درصد توجیه تغییرات فنوتیپی R ² (%) Phenotypic variance	نسبت احتمال لگاریتمی log ₁₀ of odds ratio (LOD)	اثر غالبیت Dominance effect	اثر افزایشی additive effect	فاصله از نزدیکترین نشانگر Distance from nearest marker	نزدیکترین نشانگر nearest marker	گروه پیوستگی Linkage group	جایگاه QTL	صفت Ttrait
0.36	26.1	-0.0896	-0.1042	3.49	phi104127	1	1	عرض تک دانه Grain width
0.27	27.2	-0.1193	-0.1014	7.1	phi0731	1	2	
0.04	29.1	-0.1892	-0.0384	10.4	bnlg1370	1	3	
0	28.3	-0.2249	-0.0159	6.00	bnlg1370	1	4	
0.63	29.0	-0.0192	-0.1462	6.7	bnlg1007	1	5	
1.24	29.7	0.1049	-0.2282	9.00	bnlg1045	1	6	
1.96	28.1	0.2267	-0.3217	7.00	umc1960	1	7	
1.41	27.1	-0.0872	-0.3189	5.9	phi213984	1	8	
4.04	43.1	0.5895	-0.5382	2.00	phi213984	1	9	
8.41	11.3	3.3159	-0.6831	9.00	umc1844	1	10	
1.55	28.5	0.1469	-0.2611	6.00	umc1844	1	11	
1.23	29.7	0.0468	-0.2140	10.00	umc1555	1	12	
0.52	27.4	-0.0941	-0.1296	10.00	bnlg1904	1	13	
0.26	27.1	-0.1696	-0.0849	16.10	bnlg1092	1	14	
15.93	30.1	-0.1916	0.7529	6.8	phi0111	2	15	
44.88	32.2	-0.3097	3.1130	6.00	phi374118	2	16	
0	33.1	-0.2595	0.6362	8.10	phi374118	2	17	
8.89	28.3	-0.2965	0.3215	12.00	phi093	2	18	
0	29.1	-0.2746	0.6612	10.00	bnlg1496	2	19	

جدول ۴- جایگاه های صفت ضخامت دانه

Table 4- The QTLs for Grain thickness

درصد توجیه تغییرات فنوتیپی R^2 (%) Phenotypic variance	نسبت احتمال لگاریتمی \log_{10} of odds ratio(LOD)	اثر غالبیت Dominancy effect	اثر افزایشی additive effect	فاصله از نزدیکترین نشانگر Distance from nearest marker	نزدیکترین نشانگر nearest marker	گروه پیوستگی linkage group	جایگاه QTL	صفت Trait
0.96	78.1	-0.0123	-0.0992	3.49	phi104127	1	1	
1.26	79.2	-0.0095	-0.1245	7.1	phi0731	1	2	
0.68	80.1	-0.0656	-0.0887	10.4	bnlg1370	1	3	
0.12	78.2	-0.1039	-0.0348	10.0	bnlg1370	1	4	
0.10	78.2	-0.1283	0.0035	6.7	bnlg1007	1	5	
0.15	77.3	-0.0984	-0.0439	9.0	bnlg1045	1	6	
1.77	79.2	0.0930	-0.1736	5.0	umc1960	1	7	
1.32	82.3	-0.0927	-0.1794	3.9	phi213984	1	8	
1.45	78.1	-0.0879	-0.1862	2.0	phi213984	1	9	ضخامت دانه
1.55	80.3	-0.0013	-0.1672	8.0	phi227562	1	10	Grain
1.99	79.3	0.1332	-0.1676	6.8	umc1555	1	11	thickness
1.80	78.2	0.0783	-0.1473	10.0	umc1555	1	12	
0.91	75.6	-0.0282	-0.0958	8.0	bnlg1904	1	13	
0.32	77.4	-0.0897	-0.0522	16.1	bnlg1092	1	14	
15.69	75.3	-0.1127	0.5373	4.8	phi0111	2	15	
25.56	79.2	-0.0753	1.9673	8.0	phi374118	2	16	
13.48	84.1	-0.0972	1.9752	8.1	phi374118	2	17	
29.39	85.3	-0.1495	1.2556	12.0	phi093	2	18	
0	83.2	0.6223	-0.1556	10.0	bnlg1496	2	19	

جایگاه‌های ۱۶ و ۱۸ به ترتیب با R^2 ، ۲۵/۵۶ و ۲۹/۳۹ بر روی کروموزوم‌های ۳ و ۴، جایگاه‌های پر اثر می‌باشند که می‌توان آن‌ها را به عنوان ژن‌های مؤثر در ایجاد صفت مذکور معرفی نمود و مؤثرترین کروموزوم‌ها برای این صفت کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ بودند.

وزن دانه در هر بلال: پانزده جایگاه واقع در کروموزوم‌های شماره ۱، ۲، ۳ و ۴ شناسایی شدند که ۸۷/۱۷ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. از بین جایگاه‌های شناسایی شده جایگاه شماره ۸ با ۰/۱ سانتی‌مورگان فاصله از نشانگر Umc1844 بر روی کروموزوم شماره ۳ و جایگاه شماره ۵ با یک سانتی‌مورگان از نشانگر bnlg1045 در کروموزوم شماره ۲، جایگاه‌های مناسبی جهت

انتخاب برای صفت مذکور تشخیص داده شدند. هم‌چنین جایگاه شماره ۱۳ از گروه پیوستگی دوم توانست ۴۵/۸۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کند. بنابراین، با توجه به R^2 بالای این صفت می‌توان آن‌را به عنوان یک جایگاه پر اثر و یک ژن جهت ایجاد صفت مذکور معرفی نمود.

جایگاه‌های اول، پنجم، هجدهم و نوزدهم جایگاه‌هایی بودند که برای صفات ضخامت دانه و عرض تک دانه نیز تکرار شده بودند، که حاکی از پیوستگی صفات مذکور می‌باشد (جدول ۳، ۴ و ۶). همبستگی وزن دانه در هر بلال با عرض دانه، مثبت و معنی‌دار می‌باشد ($r=0.8^{***}$) و این مورد برای ضخامت دانه نیز ($r=0.51^*$) صدق می‌کند (جدول ۵). بنابراین صفات ضخامت دانه، عرض دانه و

وزن دانه در بلال صفات پیوسته‌ای هستند که با تعدادی ژن مشابه کنترل می‌گردند. زیائو و همکاران (Xiao et al., 2005) با استفاده از ۱۲۱ نشانگر ریزماهواره در دو شرایط آبیاری بهینه و تنش خشکی برای این صفت به ترتیب ۲ و ۳ جایگاه را شناسایی کردند و کروموزوم‌های ۱ و ۹ را مؤثرترین کروموزوم‌ها تشخیص دادند.

جدول ۵- ضرایب همبستگی صفات ذرت

Table 5- Correlation coefficients of corn traits

تعداد ردیف دانه	ضخامت دانه (mm)	عرض دانه (mm)	وزن دانه (gr)	صفت
Number of row per ear	Grain thickness	Grain width	Grain weight per ear	Trait
			۰/۸۰**	عرض دانه (mm) Grain width
		۰/۷۰**	۰/۵۱*	ضخامت دانه (mm) Grain thickness
	-۰/۷۶**	-۰/۶۳*	-۰/۵۰	تعداد ردیف دانه Number of row per ear
-۰/۱۰	-۰/۱۵	۰/۰۹	-۰/۱۳	تعداد دانه در ردیف Number of seed per row

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

* and ** significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۶- QTL های صفت وزن دانه در هر بلال

Table 6- The QTLs for Grain weight per ear

درصد توجیه تغییرات فنوتیپی	نسبت احتمال لگاریتمی	اثر غالبیت	اثر افزایشی	فاصله از نزدیکترین نشانگر	نزدیکترین نشانگر	گروه پیوستگی	جایگاه QTL	صفت
R ² (%)	log ₁₀ of odds ratio (LOD)	Dominance effect	additive effect	Distance from nearest marker	nearest marker	linkage group	QTL	Trait
0.09	27.1	-5.6059	-0.6105	3.49	phi104127	1	1	وزن دانه در هر بلال Grain weight per ear
0.14	29.2	-2.7090	-2.1218	9.10	phi0731	1	2	
0	29.3	-3.8493	-0.2382	10.0	phi0731	1	3	
0.05	26.9	-3.1851	1.2802	10.0	bnlg1370	1	4	
4.94	34.2	13.283	-13.153	1.0	bnlg1045	1	5	
0.21	23.3	-8.9428	3.7392	5.9	phi213984	1	6	
0.09	23.1	-7.6593	2.4309	4.8	phi227562	1	7	
8.92	35.3	19.1458	-17.974	0.1	Umc1844	1	8	
0.86	30.2	3.5720	-5.3082	7.8	bnlg1904	1	9	
0.01	44.2	-6.0515	0.5401	18.1	bnlg1904	1	10	
7.93	42.1	-4.6096	15.247	6.8	phi0111	2	11	
16.71	40.2	-2.4280	7.9287	8.0	phi0111	2	12	
45.83	40.3	-4.0422	10.639	10.1	phi374118	2	13	
1.69	38.4	-1.0856	6.3639	12.0	phi093	2	14	
0	42.3	-10.436	0.3639	10.0	bnlg1496	2	15	

نتیجه گیری کلی

نتایج متفاوتی به دست می آید که شاید شناسایی آنها در مناطق دیگر، به دلیل استفاده از ارقام و لاین‌های متفاوت کاربردی نداشته باشد. پیشنهاد می‌شود که مطالعات گسترده‌تری به طور موازی در مناطق مختلف و هم‌زمان در تلاقی‌های متفاوت، طی سال‌های گوناگون انجام گردد تا مشخص شود آیا می‌توان جایگاه‌های ثابتی برای صفات در جمعیت‌های تفرق یافته گوناگون یافت نمود.

با توجه به جایگاه‌های متفاوت ژنی برای صفات تعداد ردیف دانه در بلال، تعداد دانه در ردیف، عرض تک دانه، ضخامت دانه و وزن دانه در هر بلال می‌توان چنین بیان نمود که آزمایشات، بسته به لاین‌ها و ارقامی که در هر منطقه مورد استفاده قرار می‌گیرند انتخاب شده و به کار روند، زیرا با تغییر والدین و جمعیت‌های در حال تفرق،

References

منابع مورد استفاده

- ✓ Christov, N. K., E. G. Todorovska., D. A. Fasoula., I. M. Ioannides., A. I. Atanassov, and K. N. Hristov. 2004. Molecular characterization of chemical mutagenesis induced diversity in elite maize germplasm. *Genetika*. 36 (1): 47- 60.
- ✓ CIMMYT. 1984. Ambionet laboratory protocols.
- ✓ Coque, M., and A. Gallais. 2006. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1205-1220.
- ✓ Goldstein, D. B., and C. Schlotterer. 2000. *Microsatellites, evaluation and application.* Oxford Univ. Press. Pp: 512.
- ✓ Gowel, N. J., and R. J. Jarret. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for *Musa* and *Ipomoea*. *Plant Mol. Bio. Rep.* 9: 262- 266.
- ✓ Gupta, P. K., and R. K. Varshney. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*. 113: 163- 185.
- ✓ Li, M., X. Guo., M. Zhang., X. Wang., G. Zhang., Y. Tian, and Z. Wang. 2010. Mapping QTLs for grain yield and yield components under high and low phosphorus treatments in maize (*Zea mays* L.). 52: 1321- 1333.
- ✓ Liu, X., Z. Zheng., Z. Tan., Z. Li., C. He., D. Liu., D. G. Zhang, and Y. Luo. 2010. QTL mapping for controlling anthesis-silking interval based on RIL population in maize. *African J. of Bio.* 9 (7): 950- 955.
- ✓ Liu, X. H., S. L. He., Z. P. Zheng., Y. B. Huang., Z. B. Tan, and X. Wu. 2010. QTL identification for row number per ear and grain number per row in maize. *Maydica* 55: 127-133
- ✓ Liu, Z. H., H. L. Xie., G. W. Tian., S. J. Chen., C. L. Wang., Y. M. Hu, and J. H. Tang. 2008. QTL mapping of nutrient components in maize kernels under low nitrogen conditions. *Plant Breeding*. 127: 279- 285.
- ✓ Mohammadi, M., and M. Baum. 2008. Analysis of QTLs for morphological traits in barley double haploid populations. *J. of Agri. Sci. and Tech.* 111: 45- 120. (In Persian)
- ✓ Ribaut, J. M., Y. Fracheboud., P. Monneveux., S. Vargas, and M. C. Jiang. 2007. Quantitative trait loci for yield and correlated traits under high and low soil nitrogen conditions in tropical maize. *Mol. Breed.* 20: 15- 29.

-
- ✓ Sabadin, P. K., Jr. C. L. Souza., A. P. Souza, and A. A. F. Garcia. 2008. QTL mapping for yield components in a tropical maize population using microsatellite markers. *Hereditas* 145: 194- 203.
 - ✓ Sadat Noori, A., and M. Fazel Najaf Abadi. 2006. *Quantitative Genetics*. Tehran Univ.Press. 290 Pp. (In Persian)
 - ✓ Tomlekova, N. B. 2010. Induced mutagenesis for crop improvement in Bulgaria. *Plant Mut. Rep.* 2 (2): 4- 27.
 - ✓ Xiao, Y. N., X. H. Li., M. L. George., MM. S. Li., S. H. Zhang, and Y. L. Zheng. 2005. Quantitative trait loci analysis of drought tolerance and yield in maize in china. *Plant Mol. Bio. Rep.* 23: 155- 165.

Archive of SID