

مکان‌یابی ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL) عملکرد و اجزاء عملکرد در لاین‌های جو

QTL Mapping of Yield and Yield Components in Barley Lines

فهمیه شاهین نیا^۱، عبدالمجید رضایی^۲، بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی^۳
و سید ابوالقاسم محمدی^۴

۱- استادیار، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

۲ و ۳- استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۴- استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۰

چکیده

شاهین نیا، ف. رضایی، ع. م. سید طباطبایی، ب. ا. و محمدی، س. ا. ۱۳۹۳. مکان‌یابی ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL) عملکرد و اجزاء عملکرد در لاین‌های جو. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۳۰-۱: ۸۵-۱۰۱.

این پژوهش به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده عملکرد و اجزاء عملکرد در ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب نسل F₁₃ جو حاصل از تلاقی دو والد Kanto Nakate Gold و Azumamugi انجام شد. ثبت ارزش فنوتیپی لاین‌ها و والدین برای صفات تعداد سنبله در مترمربع، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، عملکرد دانه و وزن هزار دانه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در سال زراعی اول و سه تکرار در سال زراعی دوم انجام شد. نتایج تجزیه واریانس مؤید وجود تفاوت معنی‌دار در بین لاین‌ها برای کلیه صفات مورد مطالعه بود و برای کلیه صفات، نتایج متفاوت از والدین بودند. شناسایی QTL‌های کنترل کننده خصوصیات به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از نقشه پیوستگی ۱۰۰ نشانگر مولکولی، متشکل از ۶۲ نشانگر AFLP، ۳۴ نشانگر STS، ۲ نشانگر ایزوزایم و ۲ نشانگر مورفولوژیک در این جمعیت انجام شد. نتایج این مطالعه منجر به مکان‌یابی QTL جدیدی برای صفت تعداد سنبله در مترمربع شد. این QTL با توجیه حدود ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی در فاصله نشانگرهای ABG604 و 09m23.8.2، روی بازوی کوتاه کروموزوم 5H مکان‌یابی شد. QTL‌های مکان‌یابی شده در فاصله نشانگرهای *vrs1* و MWG503 روی بازوی بلند کروموزوم 2H توجیه کننده بیشترین واریانس فنوتیپی برای صفات تعداد دانه در سنبله، عملکرد دانه و وزن هزار دانه بودند. نتایج این مطالعه حاکی از مکان‌یابی مهم‌ترین QTL‌های کنترل کننده خصوصیات مورد بررسی در نزدیکی مکان ژنی سنبله دو ردیفه و شش ردیفه (*vrs1*) بود.

واژه‌های کلیدی: جو (*Hordeum vulgare* L.)، جمعیت ژنتیکی، نقشه‌یابی، صفات کمی.

مقدمه

غلات به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بیشترین اهمیت را در تغذیه انسان دارند و در این بین گندم، برنج، ذرت و جو مهم‌ترین نقش را ایفا می‌کنند. جو به‌عنوان یکی از متداول‌ترین غلات با مصارف علوفه‌ای، تغذیه‌ای و دارویی در مناطق مختلف دنیا کشت می‌شود. جو زراعی با نام علمی *Hordeum vulgare* L. متعلق به قبیله Triticeae و از خانواده گندمیان (Poaceae) است. جنس *Hordeum* شامل ۳۲ گونه است و در آن گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید وجود دارد. جو زراعی از زیر گروه *vulgare* و فرم وحشی آن از زیر گروه *spontaneum* و دارای $2n = 2x = 14$ کروموزوم هستند (von Bothmer et al., 1995). از زمان کشف قوانین مندل تا به امروز جو به‌عنوان یکی از گیاهان مهم در مطالعات ژنتیکی مطرح بوده است. علت استفاده از جو در تحقیقات ژنتیکی ماهیت دیپلوئیدی و داشتن تعداد کم کروموزوم، خودگشتی، دارابودن کروموزوم‌های طویل، وجود تنوع ژنتیکی در بین ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی، سهولت انجام دورگ‌گیری، سازگاری و انتشار وسیع جغرافیایی این گیاه است. ژنوم جو شامل ۷ جفت کروموزوم و اندازه ژنومی 5×10^9 جفت نوکلئوتید است. نقشه‌یابی مقایسه‌ای گندم و جو دلالت بر وجود همولوژی بین کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷

گندم به‌ترتیب با کروموزوم‌های ۷H، ۲H، ۳H، ۴H، ۱H، ۶H و ۵H در جو است (Slafer et al., 2002).

یکی از اهداف عمده اصلاح جو افزایش عملکرد دانه است. عملکرد دانه در جو بخش اقتصادی گیاه است که برحسب مقدار دانه یا ماده خشک در واحد سطح اندازه‌گیری می‌شود. عملکرد دانه جو حاصل ضرب اجزای عملکرد یعنی تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح و وزن دانه است (Zhu et al., 1999)، بنابراین یکی از روش‌های افزایش عملکرد می‌تواند براساس بهبود اجزای آن باشد. همچنین به‌دلیل این که عملکرد دارای کنترل چند ژنی بوده و تحت تأثیر عوامل محیطی است، یافتن خصوصیات که دارای همبستگی بالا با عملکرد هستند و تأثیرپذیری کمتری از عوامل محیطی دارند، منجر به افزایش کارایی انتخاب و روش‌های به‌نژادی برای بهبود عملکرد از طریق گزینش غیرمستقیم می‌شود.

نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات چند ژنی یا کمی که ممکن است شامل یک یا چند ژن پیوسته باشند، بنام مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) نامیده می‌شوند. مکان‌یابی این ژن‌ها براساس پیوستگی بین آن‌ها و نشانگرهای مولکولی است و تجزیه QTL شامل مکان‌یابی و تعیین اثر و سهم QTL در بروز فنوتیپی صفت است. وجود جمعیت ژنتیکی در حال تفرق برای مکان‌های نشانگری و صفت کمی موردنظر، ارزیابی ژنوتیپی افراد جمعیت

نحوه کنترل ژنتیکی و اثر ژن‌ها، افزایش دقت در آزمون فرضیه‌های ژنتیک کمی، مطالعه هرچه بهتر جنبه‌های تکاملی خصوصیات زراعی، توالی‌یابی و همسانه‌سازی ژن‌های با توارث کمی در برنامه‌های تولید گیاهان تراریخته و نهایتاً افزایش بازده ناشی از انتخاب بر مبنای نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی است.

با توجه به آنچه ذکر شد مهم‌ترین اهداف این مطالعه شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده (QTL) خصوصیات مرتبط با عملکرد و اجزاء آن، تعیین سهم و نحوه اثر QTL‌های شناسایی شده در تغییرات فنوتیپی صفت مورد نظر و تعیین وراثت‌پذیری صفات و سهم اثر افزایشی آلل‌های والدینی برای QTL‌های مکان‌یابی شده در تعدادی از لاین‌های جو بود.

مواد و روش‌ها

جمعیت گیاهی مورد مطالعه شامل ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب (RILs) نسل F13 جو حاصل از تلاقی دو والد زراعی ژاپنی (KNG) Kanto Nakate Gold و (AZ) Azumamugi بود. AZ ژنوتیپی شش‌ردیفه با گلچه‌های کناری کاملاً بارور، ریشک کوتاه و از نظر تیپ رشدی زمستانه و KNG ژنوتیپی دو‌ردیفه با گلچه‌های کناری عقیم، ریشک بلند و بهاره است. ارزیابی لاین‌ها به مدت دو سال در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در سال زراعی اول و سه

براساس نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی، ارزیابی فنوتیپی صفت کمی برای تک‌تک افراد جمعیت و روش‌های آماری و نرم‌افزارهای ویژه به‌منظور تجزیه داده‌های ژنوتیپی و فنوتیپی و پیوستگی بین نشانگر و QTL ابزارهای ضروری در تجزیه QTL هستند (Wu and Li, 1996).

هدف از مکان‌یابی QTL‌ها، تعیین و تشخیص مکان‌هایی در ژنوم است که رابطه معنی‌دار با تغییرات فنوتیپی صفت کمی مورد مطالعه دارند و تحقق این امر پیش‌نیاز انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای صفت مورد گزینش است. دستاورد مهم تجزیه QTL تسهیل مطالعه توارث پیچیده صفات کمی همانند توارث صفات مندلی ساده است (Zeng, 1994). نشانگرهای مولکولی به‌علت خنثی بودن و نداشتن آثار مستقیم بر صفت و نیز به‌دلیل عدم تأثیرپذیری از عوامل محیطی، ابزارهای مناسبی برای مکان‌یابی ژن‌های مختلف و گزینش غیرمستقیم برای صفت هدف هستند. استفاده بهینه از این روش‌ها نیازمند نشانگرهایی است که دارای توزیع ژنومی مناسب با بازدهی قابل قبول باشند (Darvasi et al., 1993).

نتایج حاصل از مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات زراعی مرتبط با عملکرد گامی در جهت تخمین تعداد مکان‌های ژنتیکی کنترل‌کننده صفت در جمعیت‌های در حال تفرق، بررسی آثار فنوتیپی، پلیوتروپی و ایستازی مکان‌های کمی بر یک دیگر، تعیین

عملکرد دانه: وزن دانه برداشت شده در سطح ۰/۶۵ مترمربع از هر واحد آزمایشی برحسب کیلوگرم اندازه‌گیری شد.

جهت مکان‌یابی ژن‌ها از نقشه ژنتیکی لاین‌های نوترکیب نسل F9 حاصل از تلاقی دو والد AZ و KNG استفاده شد (Mano et al., 2001). این نقشه شامل ۱۰۰ نشانگر مولکولی، متشکل از ۶۲ نشانگر AFLP، ۳۴ نشانگر STS، ۲ نشانگر ایزوزایم و ۲ نشانگر مورفولوژیک و در برگیرنده ۹۳۰/۴ سانتی‌مورگان از کل ژنوم با میانگین فاصله ۵ تا ۱۰ سانتی‌مورگان در هر مکان نشانگری است. تعیین فواصل نشانگرها روی نقشه با استفاده از تابع کوزامبی (Kosambi, 1944) برحسب سانتی‌مورگان و تجزیه پیوستگی و ترسیم نقشه با استفاده از نرم‌افزار MAPMAKER/EXP 3.0 (Lander et al., 1987) انجام شد.

تجزیه و تحلیل یک متغیره جهت محاسبه آمار توصیفی داده‌ها نظیر میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات فنوتیپی صفات با استفاده از گزینه PROC MEAN نرم‌افزار SAS انجام شد. همچنین تجزیه واریانس با استفاده از گزینه PROC ANOVA و تجزیه مرکب داده‌های فنوتیپی دو سال آزمایش پس از آزمون همگن بودن میانگین مربعات خطا با استفاده از گزینه PROC GLM این نرم‌افزار انجام شد.

با توجه به این که روش مکان‌یابی فاصله‌ای

تکرار در سال زراعی دوم در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. تعداد ۲۰۰ بذر از هر لاین به همراه والدین در چهار ردیف ۲ متری کشت شد. فاصله کشت هر دو بذر در یک ردیف ۵ سانتی‌متر و فاصله ردیف‌ها از یک دیگر ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. خصوصیات زراعی عملکرد، تعداد سنبله در واحد سطح، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، عملکرد دانه و وزن هزار دانه برای کلیه لاین‌ها و والدین اندازه‌گیری شد. ثبت ارزش فنوتیپی لاین‌ها برای کلیه صفات با در نظر گرفتن ۲۰ سانتی‌متر حاشیه از طرفین و از دو ردیف وسط بر اساس واحد آزمایشی یا ده بوته تصادفی از هر واحد آزمایشی انجام شد. از میانگین صفات ده بوته یا ده سنبله در تجزیه‌ها استفاده شد. نحوه اندازه‌گیری صفات به شرح زیر بود:

تعداد سنبله در واحد سطح: در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک و قبل از برداشت، تعداد سنبله در سطح ۰/۶۵ متر مربع شمارش شد.

تعداد دانه در سنبله: پس از اندازه‌گیری وزن سنبله و برای همان ده سنبله انتخابی تعداد دانه شمارش شد.

وزن دانه در سنبله: پس از شمارش تعداد دانه در ده سنبله، دانه‌ها با استفاده از ترازویی با دقت یک هزارم گرم وزن شدند.

وزن هزار دانه: تعداد ۱۰۰۰ دانه شمارش و با ترازویی با دقت یک هزارم گرم توزین شدند.

نتایج و بحث

نتایج آمار توصیفی خصوصیات ارزیابی شده در لاین‌ها و والدین نشان داد که والد AZ از میانگین بالاتری برای خصوصیات تعداد سنبله در مترمربع، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله در مقایسه با والد KNG برخوردار بود (جدول ۱). همچنین بالاترین ضریب تنوع در لاین‌های مورد مطالعه برای صفات تعداد دانه در سنبله و وزن دانه در سنبله مشاهده شد (جدول ۱). توزیع فراوانی فنوتیپی صفات ارزیابی شده در لاین‌ها و والدین نیز برای کلیه خصوصیات، لاین‌های متفاوت از والدین و تفرق فنوتیپی قابل ملاحظه نشان داد (شکل ۱).

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه مؤید وجود تفاوت معنی‌دار در میان لاین‌ها برای کلیه خصوصیات زراعی مورد مطالعه بود (جدول ۲). اثر متقابل لاین \times سال برای صفت تعداد سنبله در مترمربع و عملکرد دانه معنی‌دار شد که نشان‌دهنده تأثیرپذیری متفاوت این صفات از آثار محیطی است (جدول ۳). وراثت‌پذیری عملکرد دانه حدود ۵۰ درصد برآورد شد. در بین صفات مرتبط با اجزای عملکرد، تعداد دانه در سنبله (۸۵٪) و وزن دانه در سنبله (۵۴٪) از وراثت‌پذیری قابل ملاحظه‌ای برخوردار بودند. هم‌چنین بالاترین همبستگی (***) بین تعداد دانه در سنبله و وزن دانه در سنبله مشاهده شد. نمایش گرافیکی مکان‌یابی QTL‌های شناسایی شده، خط آستانه و مقادیر LOD برای صفات مورد مطالعه بر مبنای

مرکب (Composite Interval Mapping: CIM) در مقایسه با روش‌های تجزیه تک نشانگری (Single Marker Analysis: SM) مکان‌یابی فاصله‌ای ساده (Simple Interval Mapping: SIM) از کارایی و قدرت آزمون بسیار بالایی برخوردار است (Kearsey and Pooni, 1996)، از نتایج حاصل از روش CIM در تجزیه پیوستگی و مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده خصوصیات مورد مطالعه استفاده شد. گزینش کوفاکتورها به فاصله یک سانتی‌مورگان روی ژنوم به روش گزینش پیش‌رونده - حذف پس‌رونده مدل ۶ رگرسیون نرم‌افزار Windows QTL Cartographer (Wang *et al.*, 2004) انجام شد. تعیین حد آستانه معیار آزمون و اندازه (Logarithm of Odds: LOD) برای تشخیص وجود QTL یا QTL‌ها در حوزه نشانگری در سطح احتمال $\alpha=0/05$ و انجام ۲۰۰۰ بار نمونه‌گیری تصادفی از داده‌های فنوتیپی به روش آزمون تبدیل انجام شد (Doerge, and Churchill, 1996)؛ نقطه اوج منحنی حاصل از برآزش مقادیر LOD در فواصل نشانگری روی نقشه و بزرگ‌تر از حد آستانه معیار آزمون، به‌عنوان محتمل‌ترین مکان وجود پیوستگی نشانگر و QTL کنترل‌کننده صفت در نظر گرفته شد.

جدول ۱- آمار توصیفی مربوط به صفات مورد مطالعه در جمعیت RILs و والدین بر مبنای میانگین داده‌های دو سال

Table 1. Descriptive statistics of RILs and parents based on mean of data obtained from two years of experiment

صفت Trait	میانگین Mean			انحراف معیار STD			CV%
	AZ	KNG	RILs	AZ	KNG	RILs	
تعداد سنبله در مترمربع Spike no. per m ²	679.00	601.50	604.31	90.50	47.37	80.24	13.27
تعداد دانه در سنبله Kernel no. per spike	38.00	20.00	30.13	9.89	5.65	11.07	36.77
وزن دانه در سنبله Kernel weight per spike(g)	1.48	1.16	1.21	0.35	0.14	0.33	27.65
عملکرد دانه Yield (kg/unit area)	413.01	498.37	363.61	38.25	74.69	86.84	23.88
وزن هزار دانه 1000 kernels weigh (g)	33.16	48.73	37.82	10.47	9.99	4.34	11.47

جدول ۲- میانگین مربعات لاین و خطا و میزان وراثت پذیری عمومی صفات مورد مطالعه در جمعیت RILs در سال‌های اول و دوم آزمایش

Table 2. Mean squares of line and error and general heritability of the traits in RILs based on data obtained from the first and second year of experiment

صفت Trait	لاین Line		خطای آزمایش Experimental error		وراثت پذیری عمومی (%) General heritability (%)
	سال دوم Second year	سال اول First year	سال دوم Second year	سال اول First year	تجزیه مرکب دو سال § Pooled analysis over years
تعداد سنبله در مترمربع Spike no. per m ²	19854.73**	33137.57**	15539.61	19148.70	0.01±12
تعداد دانه در سنبله Kernel no. per spike	575.69**	189.47**	109.59	101.08	0.08±85
وزن دانه در سنبله Kernel weight per spike	0.27**	0.30**	0.07	0.07	1.24±54
عملکرد دانه Yield	19626.53**	32417.60**	10831.60	16825.00	0.01±45
وزن هزار دانه 1000 kernels weight	115.29**	40.60**	82.44	10.14	0.15±52

**Significant 1% probability level.

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

§ وراثت‌پذیری عمومی بر مبنای تجزیه مرکب دو سال با استفاده از اجزای متشکله واریانس در جدول ۳ محاسبه شده است.

§General heritability has been calculated based on pooled analysis over years using components of variance in table 3.

نتایج حاصل از مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای تعداد سنبله در مترمربع (جدول ۴) حاکی از تظاهر یک QTL واقع بر بازوی کوتاه کروموزوم ۵H در فاصله نشانگرهای ABG604

میانگین دو سال در شکل ۲ خلاصه شده است. به طوری که ملاحظه می‌شود بازوهای کوتاه و بلند کروموزوم ۲H در برگیرنده QTL‌های کنترل‌کننده کلیه صفات مورد مطالعه بودند.

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در جمعیت RILs در دو سال آزمایش
Table 3. Pooled analysis of variance across two years of experiment for the traits evaluated in the RILs population

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	عملکرد دانه Yield	وزن دانه در سنبله Kernel weight per spike	تعداد دانه در سنبله Kernel number per spike	تعداد سنبله در مترمربع Spike number per m ²	وزن هزار دانه 1000 kernels weight
Block (Year)	بلوک (سال)	3	101068.96	0.89	13986.68	1293078.95	110.33
Line (L)	لاین	98	33646.03**	0.71*	670.32**	28262.55**	105.43**
L × Y	لاین × سال	98	18398.10*	0.32	94.84	24729.75**	50.42
Error	خطا	294	12829.40	0.50	106.75	16832.64	58.34

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۴- کروموزوم، فاصله نشانگری، مکان، مقدار LOD، اثر افزایشی و نسبت واریانس فنوتیپی توجیه شده (R²) QTL های کنترل کننده صفات در جمعیت RILs حاصل از تلاقی دو والد AZ × KNG بر مبنای میانگین دو سال آزمایش

Table 4. The chromosome, map interval, location, LOD score, additive effect and percent of explained variance (R²) by QTLs detected for the traits in the RILs derived from AZ × KNG based on mean over years

Trait	صفت	کروموزوم Chromosome	فاصله نشانگری Map interval	مکان (cM) Location ¹	LOD ²	اثر افزایشی ^۳ Additive effect ³	R ²
Spike number per area	تعداد سنبله در متر مربع	2HS	ABG602-e13m23.6	49.41	3.70	32.10	0.10
		5HS	ABG604-e09m23.8.2	35.91	3.61	-28.28	0.10
Kernel number per spike	تعداد دانه در سنبله	2HS	e13m23.6-e13m31.7.1	51.41	7.68	-2.88	0.05
		2HL	vrs1-MWG503	79.71	40.82	9.86	0.66
Kernel weight per spike	وزن دانه در سنبله	2HS	e13m23.6-e13m31.7.1	51.41	3.17	-0.10	0.06
		2HL	MWG801-vrs1	78.71	17.38	0.24	0.45
Yield	عملکرد دانه	2HS	e13m23.6-e13m31.7.1	52.91	3.50	-30.37	0.10
		2HL	vrs1-MWG503	79.91	4.47	36.8	0.13
1000 kernels weight	وزن هزار دانه	2HL	vrs1-MWG503	79.71	14.90	-3.15	0.37

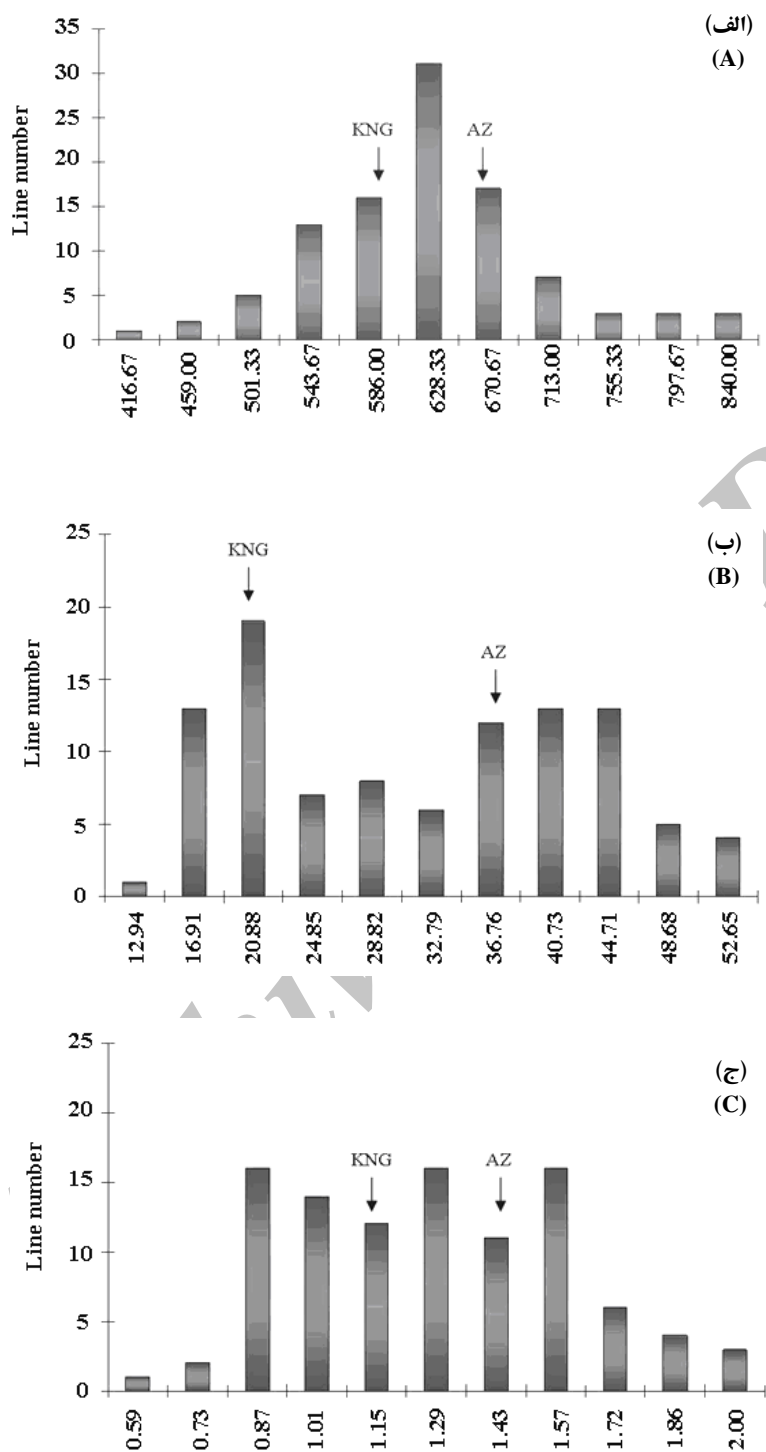
۱. فاصله نقطه اوج مقدار LOD از نشانگر سمت چپ نقشه پیوستگی. ۲. مقدار معنی دار منحنی LOD در فاصله نشانگری. ۳. اثر افزایشی آلل‌های والد AZ در کنترل هر صفت.

1. Distance of peak LOD score position from the left side marker. 2. Peak LOD score of significant marker interval. 3. Additive effect of Azumamugi allele in controlling of each trait.

داشت به طوری که آلل‌های والد AZ در این مکان ژنی از نقش افزایشنده در تعداد سنبله برخوردار بودند.

برای تعداد دانه در سنبله (جدول ۴) یک QTL در فاصله نشانگرهای e13m23.6 و e13m31.7.1 روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲H با توجیه ۴ درصد از کل واریانس فنوتیپی و

و e09m23.8.2 با اثر کاهشنده آلل‌های والد AZ در این مکان ژنی و توجیه ۱۰ درصد از تغییرات فنوتیپی مرتبط با این صفت بود. همچنین برای این صفت تنها یک QTL دیگر در فاصله نشانگرهای ABG602 و e13m23.6 واقع بر بازوی کوتاه کروموزوم ۲H با توجیه ۱۰ درصد از تغییرات فنوتیپی مرتبط با این صفت وجود



شکل ۱- توزیع فراوانی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در لاین‌های اینبرد نوترکیب جو حاصل از تلاقی دو والد AZ و KNG بر مبنای میانگین داده‌های دو سال. الف) تعداد سنبله در متر مربع ب) تعداد دانه در سنبله ج) وزن دانه در سنبله د) عملکرد دانه ه) وزن هزار دانه. فراوانی فنوتیپی والدین بر روی نمودار نمایش داده شده است.

Fig. 1. Frequency distribution of the traits in the RILs of Azumamugi × Kanto Nakate Gold cross based on means over two years. A) Spike number per m², B) Kernel number per spike, C) Kernel weight per spike, D) Yield, E) 1000 kernels weight. Phenotypic distribution of the parents is shown in the graph.

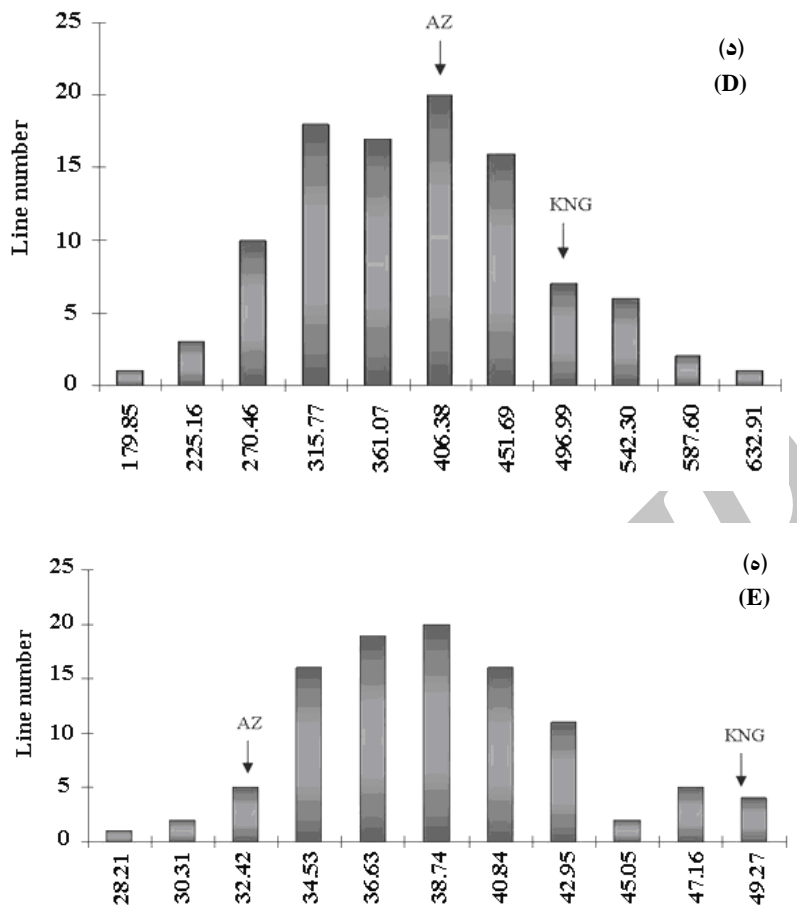


Fig. 1. Continued

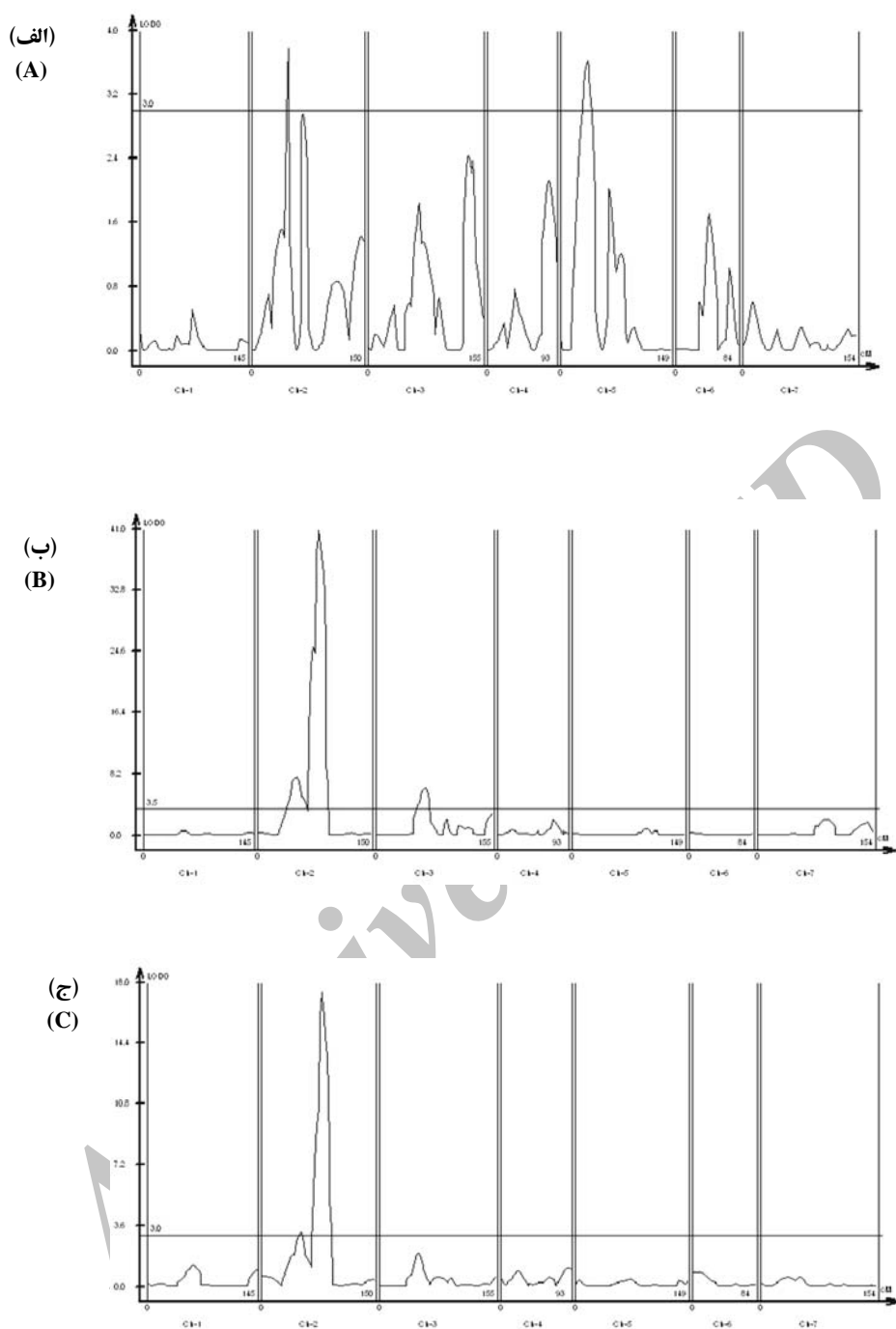
ادامه شکل ۱

توجه ۳۴ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت مشاهده شد. آلل‌های والد AZ در این مکان ژنی از نقش افزاینده برای این صفت برخوردار بودند. روی بازوی کوتاه این کروموزوم QTL دیگری در فاصله نشانگرهای *e13m23.6* و *e13m31.7.1* با نقش کاهشده آلل‌های والد AZ برای این صفت شناسایی شد.

برای عملکرد دانه (جدول ۴) نیز دو QTL با توجه ۱۰ و ۱۳ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت در فاصله نشانگرهای *e13m23.6* و *e13m31.7.1* و نشانگرهای *vrs1* و *MWG503* با

نقش کاهشده آلل‌های والد AZ در کنترل این صفت شناسایی شد. مهم‌ترین QTL کنترل‌کننده تعداد دانه در سنبله، در فاصله نشانگرهای *vrs1* و *MWG503* واقع بر بازوی بلند کروموزوم ۲H شناسایی شد. این مکان در توجه ۶۶ درصد از تنوع فنوتیپی تظاهر یافته نقش داشت. همچنین بالاترین اثر افزایشی آلل‌های توارث یافته از والد AZ در این مکان ژنی مشاهده شد.

برای وزن دانه در سنبله (جدول ۴) یک QTL بزرگ اثر روی بازوی بلند کروموزوم ۲H در فاصله نشانگرهای *vrs1* و *MWG503* با



شکل ۲- نمایش گرافیکی مکان‌یابی QTL های شناسایی شده، خط آستانه و مقادیر LOD برای صفات مورد مطالعه بر مبنای میانگین دو سال. الف) تعداد سنبله در متر مربع ب) تعداد دانه در سنبله ج) وزن دانه در سنبله د) عملکرد دانه ه) وزن هزار دانه. در این شکل مقادیر LOD به ترتیب ۷ کروموزوم جو از سمت بازوی کوتاه هر کروموزوم نمایش داده شده است. مقادیر LOD بالاتر از خط آستانه نشان‌دهنده معنی‌داری وجود QTL در فاصله دو نشانگر برای هر صفت است.

Fig. 2. The logarithm of odds (LOD) score plots of QTLs detected for traits based on means over years. A) Spike number per area, B) Kernel number per spike, C) Kernel weight per spike, D) Yield, E) 1000 kernels weight. LOD score profiles of chromosomes are shown in the order of 7 chromosomes in barley, oriented from short arm. LOD scores above the threshold show significant interval of QTLs for each trait.

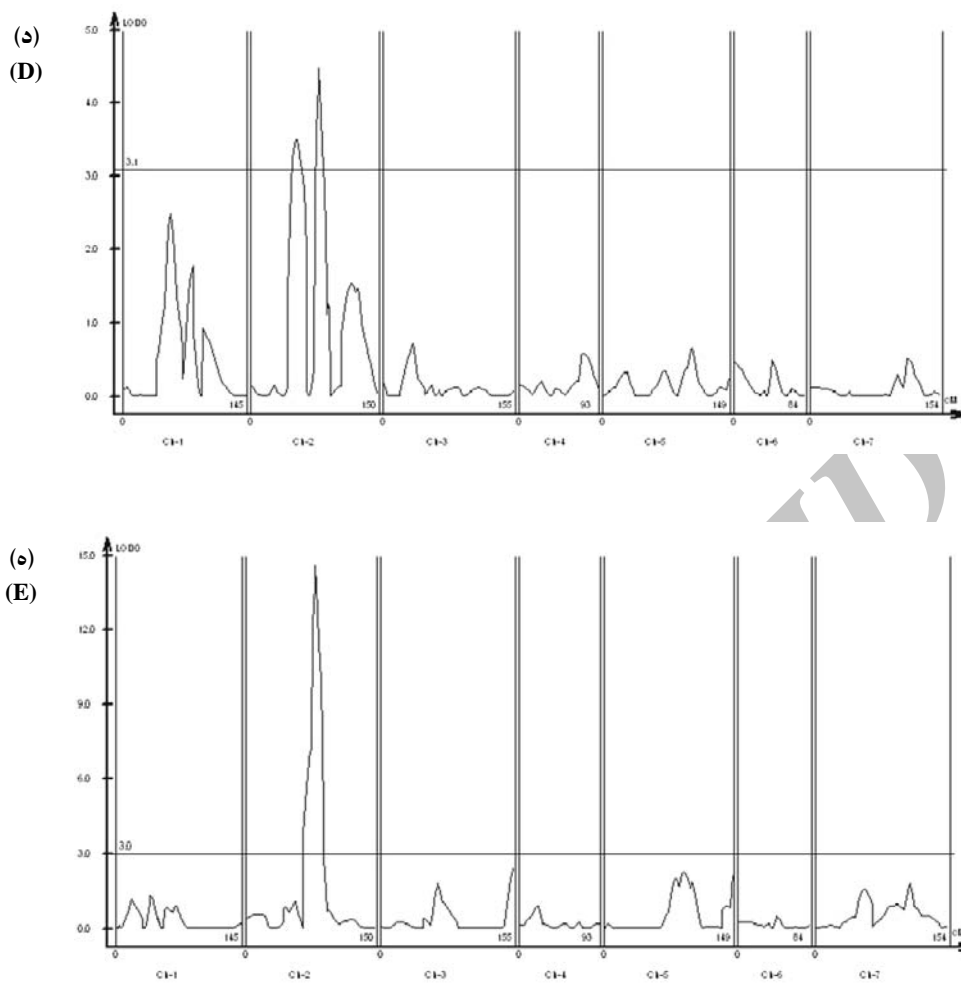


Fig. 2. Continued

ادامه شکل ۲

شده برای خصوصیات مورد بررسی با ژن‌ها و QTL های گزارش شده در مطالعات قبل از نقشه‌های BIML (Qi et al., 1996)، IMM (Kleinhofs, 2002؛ Kleinhofs, 2004) و کی و همکاران (Qi et al., 1998) استفاده شد. این مقایسه‌ها با کسر مقدار یک از حداکثر LOD برای طرفین فاصله نشانگرهای پیوسته با QTL شناسایی شده برای حصول ۹۰ درصد دامنه اطمینان (Lander and Botstein, 1989) انجام شد. بر اساس این مقایسه، مکان ژنی *vrs1*

شناسایی شدند. این دو مکان به ترتیب با نقش کاهنده و افزاینده آلل‌های والد AZ در کنترل عملکرد دانه سهیم بودند.

برای وزن هزار دانه (جدول ۴) یک QTL اصلی در فاصله نشانگرهای *vrs1* و *MWG503* واقع بر بازوی بلند کروموزوم ۲H با توجیه به ترتیب ۳۷ درصد از تغییرات فنوتیپی. آلل‌های والد AZ در این مکان ژنی از نقش کاهنده برای این صفت برخوردار بودند.

به منظور تحلیل و مقایسه QTL‌های شناسایی

در ناحیه‌ای از کروموزوم ۲H را به علت فرض وجود کلاسترهای ژنی چند مکانی در ژنوم جو برای کنترل این صفات عنوان کردند. تجمع QTL‌های کنترل‌کننده خصوصیات زراعی در مرتبط با عملکرد و مکان ژنی *vrs1* در این پژوهش نیز مؤید صحت این فرضیه است. لین و همکاران (Lin *et al.*, 1995) احتمال وجود ژن‌های مستقل بسیار پیوسته در این نواحی ژنوم را بیشتر از احتمال وجود مکان یک تک ژن اصلی در کنترل همزمان چند صفت گزارش کردند. آن‌ها همچنین پدیده پلیوتروپیسیم یا پیوستگی بسیار شدید و نزدیک پلی ژن‌های مختلف را علت مشاهده QTL‌های شناسایی شده در حوزه نشانگری مشابه برای چند صفت گزارش کردند. پترسون و همکاران (Paterson *et al.*, 1991) معتقد هستند که با توجه به این که آثار پلیوتروپیک ژن‌های اصلی و پیوستگی شدید تعداد زیادی ژن از عوامل اصلی در پیدایش همبستگی بین خصوصیات زراعی است، بنابراین خصوصیات همبسته از نواحی ژنومی مشابه در نقشه‌یابی QTL‌ها برخوردارند. بوک-سورلین (Buck-Sorlin, 2002) نیز گزارش کرد که اثر یک QTL در نزدیکی یک ژن اصلی در واقع نشان‌دهنده اثر ژن اصلی است. در این حالت تنوع پیوسته مشاهده شده برای یک صفت کمی می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپیک یک ژن اصلی یا گروه ژنی در نزدیکی ژن اصلی باشد. سؤالی که در این زمینه مطرح

یا ژن کنترل‌کننده سنبله شش ردیفه در جو واقع بر بازوی بلند کروموزوم ۲H بیشترین اثر پلیوتروپی را در کنترل تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه نشان داد. این نتیجه قابل انتظار حاکی از نقش مکان ژنی *vrs1* به‌عنوان اصلی‌ترین مکان تعیین‌کننده فنوتیپ تعداد ردیف در جو است. بنابراین در افزایش تعداد دانه (سنبله شش ردیفه) و یا وزن دانه (سنبله دو ردیفه) نقش دارد. در عمل عملکرد دانه کمتر ژنوتیپ‌های دو ردیفه به علت کاهش تعداد دانه تا حدودی با افزایش تعداد سنبله جبران می‌شود. با وجود این جو و همکاران (Jui *et al.*, 1997) در بررسی تفاوت‌های ژنتیکی دابل‌هاپلوئیدهای حاصل از تلاقی جو شش ردیفه و دو ردیفه گزارش کردند که ارتباط مکان ژنی *vrs1* با افزایش عملکرد در زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مختلف متفاوت است و در برخی موارد کاهش عملکرد نیز مشاهده می‌شود. همچنین مارکویز-سدیلو و همکاران (Marquez-Cedillo *et al.*, 2001) نیز وجود رابطه بین مکان‌های کنترل‌کننده صفات کمی با *vrs1* را بیشتر به دلیل پیوستگی این مکان‌ها با یک دیگر و کمتر به علت نقش پلیوتروپی ژن *vrs1* در کنترل صفات کمی می‌دانند.

کی-چرر و همکاران (Kicherer *et al.*, 2000) تجمع انحصاری QTL‌های کنترل‌کننده تعدادی از خصوصیات زراعی نظیر تاریخ سنبله‌دهی، ارتفاع و وزن دانه

آمارای تجزیه QTL، کمی فراوانی نوترکیبی، اثر متقابل QTL × محیط و وجود ایستازی بین QTLها منجر به اریب برآوردها در شناسایی و اثر QTLها و در نتیجه مشکل بودن استفاده از آن‌ها در برنامه‌های بهبود ارقام زراعی شده است. با وجود این استفاده محققین از جمعیت‌های ژنتیکی در حال تفرق، نقشه‌های اشباع پیوستگی نشانگرهای مولکولی و طرح‌های آزمایشی و روش‌های آماری مناسب تا حدی این مشکلات را مرتفع کرده است. انتخاب QTLهای با ثبات و اصلی در جمعیت‌ها و محیط‌های مختلف آزمایشی فرصت مناسبی را برای گزینش لاین‌های والدی در برنامه‌های تلاقی برای افزایش پتانسیل خصوصیات زراعی فراهم نموده است. بررسی آثار افزایشی QTLها کمکی مؤثر به شناسایی والدین کاهنده یا افزایش دهنده یک صفت نموده است، زیرا بزرگی و جهت این اثر نقش عمده‌ای در بروز تفاوت‌های ژنتیکی بین لاین‌های حاصل از تلاقی خواهد داشت (Zhu et al., 1999). دادلی (Dudley, 1993) و زو و همکاران (Zhu et al., 1999) دو راهکار مهم برای کاربرد QTLهای شناسایی شده در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر ذکر کردند. یک راهکار انتقال و معرفی تعداد محدودی از QTLهای مورد نظر از ژرم پلاسماهای بیگانه به لاین‌های هدف از طریق تلاقی برگشتی است و راهکار دوم طراحی و هرم‌سازی آلل‌های یک QTL مطلوب در یک ژنوتیپ منفرد است.

می‌شود آن است که آیا این ژن‌های اصلی مانند یک QTL عمل می‌کنند یا در واقع ژن‌هایی با نقش پلی‌تروپیک هستند. کیفی و کمی بودن یک ژن به آثار فنوتیپی بروز یافته توسط آن ژن بستگی دارد و حتی در مورد توارث صفاتی نظیر طول ریشک در جو نیز نمی‌توان کنترل ژنتیکی را تنها به یک تک ژن اصلی نسبت داد. موضوع حائز اهمیت آن است که یک QTL مشترک می‌تواند آثار مثبت و منفی در کنترل چند صفت داشته باشد، بنابراین گزینش بر مبنای QTL مشترک برای یک صفت باید با توجه به نقش آن QTL روی صفات دیگر و پاسخ‌های همبسته انجام شود.

تنها QTL شناسایی شده روی بازوی کوتاه کروموزوم 5H، صفت تعداد سنبله در مترمربع را کنترل می‌کند. برای این QTL در مکانی مشابه با مکان شناسایی شده تاکنون گزارشی منتشر نشده است و به نظر می‌رسد این QTL برای نخستین بار در جمعیت حاضر شناسایی می‌شود.

اگرچه امروزه تجزیه QTL امکان اختصاص عوامل پیچیده ژنتیکی کنترل‌کننده صفات کمی به ناحیه خاصی از ژنوم را میسر ساخته و راهکارهای مؤثر در فهم اساس ژنتیکی پاسخ‌های همبسته و کاربرد ژن‌های کاندید و گزینش به کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی بوده است، ولی همچنان وجود برخی عوامل نظیر وراثت‌پذیری پایین صفات، انتخاب نوع آزمایش‌های زراعی و ژنتیکی، انتخاب مدل‌های

سه گونه گیاهی مذکور هستند. زیاتو و همکاران (Xiao *et al.*, 1996) نیز QTL‌های مشترکی برای ارتفاع، تاریخ سنبله‌دهی و عملکرد دانه بین برنج، ذرت و جو گزارش کردند. آن‌ها پیشینه ژنتیکی QTL‌های شناسایی شده را به ناحیه‌ای از ژنوم جد مشترک این سه گونه نسبت دادند. همچنین همسانه‌سازی یک QTL مشترک در یک گونه به همسانه‌سازی QTL ارتولوگ موجود در گونه دیگر کمک نموده و نیز امکان انتقال QTL مطلوب از یک گونه به گونه دیگر را در جهت بهبود صفات اقتصادی فراهم می‌سازد.

سپاسگزاری

مواد ژنتیکی این آزمایش توسط آقای دکتر تاکائو کوماتسودا (Dr. T. Komatsuda) در مؤسسه ملی تحقیقات علوم زیست کشاورزی (NIAS) ژاپن تهیه و در اختیار نگارندگان قرار داده شده است که بدین وسیله از ایشان تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از مسئولین دانشگاه صنعتی اصفهان به خاطر حمایت مالی از این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

همچنین ژنومیکس مقایسه‌ای برای QTL‌های شناسایی شده در یک گونه نظیر جو با گونه‌های دیگر نظیر گندم حاکی از وجود مناطق حفاظت شده همیولوگ در بین ژنوم این گیاهان است. با توجه به این که تجزیه QTL در پلی‌پلوئیدهایی همچون گندم با مشکلات فراوان روبرومی باشد با استفاده از این فرضیه می‌توان نتایج حاصل از تجزیه QTL برای گونه‌هایی نظیر جو را که به مراتب آسان‌تر است به گونه‌های دیگر غلات تعمیم داد. امروزه با استفاده از نشانگرهای مشترک و نقشه‌یابی آن‌ها روی ژنوم گونه‌های مختلف امکان یافتن مناطق همیولوگ برای QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با نمود زراعی در غلات میسر شده است (Bezant *et al.*, 1997). مثال بارز در این زمینه مکان‌یابی ژن *Sgh2* روی کروموزوم ۵H در تلاقی بین جوهای زمستانه و بهاره توسط لوری و همکاران (Laurie *et al.*, 1995) بود. این محققین مکان ژنی *Sgh2* را در ناحیه گروه همیولوگ کروموزوم ۵H و منطبق با مکان‌های ژنی *Vrn1* در گندم و *Sp1* در چاودار گزارش کردند که نشان می‌دهد این ژن‌ها بخشی از سری‌های همیواللیک در بین

References

- Bezant, J., Laurie, D., Pratchett, N., Chojecki, J., and Kearsley, M. J. 1997. Mapping QTLs controlling yield and yield components in a spring barley

- (*Hordeum vulgare* L.) cross using marker regression. *Molecular Breeding* 3: 29-38.
- Buck-Sorlin, G. H. 2002.** The search for QTL in barley (*Hordeum vulgare* L.) using a new mapping population. *Cellular and Molecular Biology Letters* 7: 523-535.
- Churchill, G. A., and Doerge, R. W. 1994.** Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- Darvasi, A., Weintreb, A., Minke, A., Weier, J., and Soller, M. 1993.** Detecting marker QTL linkage and estimating QTL gene effect and map location using a saturated genetic map. *Genetics* 134: 943-951.
- Doerge, R. W., and Churchill, G. A. 1996.** Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics* 142: 285-294.
- Dudley, J. W. 1993.** Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. *Crop Science* 33: 660-668.
- Jui, P. Y., Choo, T. M., Ho, K. M., Konishi, T., and Martin, R. A. 1997.** Genetic analysis of a two-row \times six-row cross of barley using doubled haploid lines. *Theoretical and Applied Genetics* 94: 549-556.
- Kearsey, M. J., and Pooni, H. S. 1996.** *The Genetical Analysis of Quantitative Traits*. Chapman and Hall, London, UK.
- Kicherer, S., Backes, G., Walther, U., and Jahoor, A. 2000.** Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100: 881-888.
- Kleinhofs, A. 2002.** Integrating molecular and morphological/physiological marker maps. *Barley Genetics Newsletter* 32: 152-159.
- Kleinhofs, A. 2004.** Integrating molecular and morphological/physiological marker maps. *Barley Genetics Newsletter* 34: 111-122.
- Kosambi, D. D. 1944.** The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12: 172-175.
- Lander, E. and Botstein, D. 1989.** Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121: 185-199.
- Lander, E. S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M. J., Lincoln, S. E., and Newburg, L. 1987.** MAPMAKER: An interactive computer package for

constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.

- Laurie, D. A., Pratchett, N., Bezant, J. H., and Snap, J. W. 1995.** RFLP mapping of five major genes and eight quantitative trait loci controlling flowering time in a winter × spring barley (*Hordeum vulgare* L.) cross. *Genome* 38: 575-585.
- Lin, Y. R., Schertz, K. F., and Paterson, A. H. 1995.** Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across the Poaceae, in reference to an interspecific sorghum population. *Genetics* 141: 391-411.
- Mano, Y., Kawasaki S., Takaiwa, F., and Komatsuda, T. 2001.** Construction of a genetic map of barley (*Hordeum vulgare* L.) cross "Azumamugi" × "Kanto Nakate Gold" using a simple and efficient amplified fragment length polymorphism system. *Genome* 44: 284-292.
- Marquez-Cedillo, L. A., Hayes, P. M., Kleinhofs, A., Legge, W. G., Rossnagel, B. G., Sato, K., Ullrich, S. E., and Wesenberg, D. M. 2001.** QTL analysis of agronomic traits in barley based on the doubled haploid progeny of two elite North American varieties representing different germplasm groups *Theoretical and Applied Genetics* 103: 625-637.
- Paterson, A. H., Damon, S., Hewitt, J. D., Zamir, D., Rabinowitch, H. O., Lincoln, S. E., Lander, E. S., and Tanksley, S. D. 1991.** Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: Comparison across species, generations, and environment. *Genetics* 127: 181-197.
- Qi, X., Stam, P., and Lindhout, P. 1996.** Comparison and integration of four barley genetic maps. *Genome* 39: 379-394.
- Qi, X., Stam, P., and Lindhout, P. 1998.** Use of locus-specific AFLP markers to construct a high density molecular map in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 376-384.
- Slafer, G. A., Molina Cano, J. L., Savin, R., Araus, J. L., and Romagosa, I. 2002.** *Barley Science: Recent Advances from Molecular Biology to Agronomy of Yield and Quality.* Haworth Press, New York, USA.
- Von Bothmer, R., Jacobsen, N., Baden, C., Jorgensen, R. B., and Linde-Laursen, I. 1995.** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. In: *Systematic and*

Ecogeographic Studies on Crop Genepools. International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), Rome, Italy.

Wang, S. H., Basten, C. J., Gaffney, P., and Zeng, Z. B. 2004. Windows QTL Cartographer 2.0 User Manual. Bioinformatics Research Center NC State University, USA.

Wu, W. R., and Li, W. M. 1996. Model fitting and model testing in the method of joint mapping of quantitative trait loci. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 477-482.

Xiao J., Li, J., Yuan, L., and Tanksley, S. D. 1996. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from sub specific rice cross. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 230-244.

Zeng, Z. B. 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136: 1457-1468.

Zhu H., Bricero, G., Dovel, R., Hayes, P. M., Liu, B. H., and Ullrich, S. E. 1999. Molecular breeding for grain yield in barley: An evaluation of QTL effects in a spring barley. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 772-779.

Archive of SID