Archive of SID

تجزیه مکان ژنی صفات کمی کنترل کننده صفات برگی مرتبط با تحمل به خشکی در جمعیت دبل‌هاپلوئید جو (*Hordeum vulgare* L.)

محتشم محمدی[۱]، سالواتور شکارلی[۲] و محمدرضا نقوی[۳]

چکیده

شناسایی عوامل ژنتیکی کنترل کننده صفات مؤثر بر عملکرد دانه تحت شرایط خشک، زمینه شناسایی و ایجاد ارقام متحمل به خشکی را فراهم می‌سازد. ارزیابی مقدماتی ارزش صفات برای تحمل به خشکی، با محاسبه همبستگی ژنتیکی آنها با عملکرد دانه صورت گرفت. در این تحقیق، ۱۵۸ لاین دبل‌هاپلوئید مضاعف جو به همراه والدین متحمل به خشکی (Wi2291 و Tadmor) در دو منطقه تل‌هادیا و بردا در شمال کشور سوریه با تفاوت بارندگی حدود ۱۰۰ میلی متر تحت شرایط دیم ارزیابی گردید. در هر دو آزمایش مزرعه ای (تل‌هادیا و بردا) از طرح آلفا – لاتیس با دو تکرار استفاده شد. به منظور بکارگیری متعاقب در گزینش به کمک نشانگرها، تعداد، مکان ژنی و میزان اثر QTL[۴] های کنترل کننده صفات محتوای کلروفیل برگ‌ها، کرکدار بودن ساقه و برگ ها و پیر شدن تدریجی برگ‌ها تعیین و نشانگرهای پیوسته با آنها شناسایی شد. نقشه لینکاژ با استفاده از ۵۰ نشانگر SSR و ۹۳ نشانگرAFLP با روش نقشه یابی درون فاصله‌ای مرکب تشکیل گردید که شامل هشت گروه لینکاژی برای هفت کروموزوم بود. برای تمامی‌صفات مورد بررسی در هر دو محیط تفکیک متجاوز مشاهده شد. آلل‌های مطلوب QTL های کنترل کننده این صفات در هر دو والد وجود داشتند. برای هر سه صفت محتوای کلروفیل برگ‌ها، کرکدار بودن ساقه و برگ ها و پیر شدن تدریجی برگ‌ها، به ترتیب ۸، ۷ و ۸ QTL تشخیص داده شد. تعداد شش QTL حداقل در دو تجزیه مشترک بود. نشانگر *Scssr7970a* که با QTL های کنترل کننده هر سه صفت، پیوستگی نزدیک نشان دادند. برخی از QTLهای شناسایی شده برای اولین بار گزارش می‌شوند و برخی نیز نتایج تحقیقات قبلی را تایید می‌نمایند.

کلید واژه‌ها: خشکی، جو، QTL، محتوای کلروفیل برگ‌ها، کرکدار بودن ساقه و برگ‌ها، پیر شدن تدریجی برگ‌ها

مقدمه

افزایش تولید پروتئین‌های حیوانی به عنوان جزء حیاتی در جیره غذایی جمعیت در حال رشد کشور، مستلزم افزایش تولید جو به عنوان یکی از اجزاء اصلی در تغذیه دام است. علاوه بر این، تخریب رو به تزاید مراتع، استفاده بهینه از ظرفیت‌های زراعی موجود را بیش از پیش ضروری می‌سازد.

ارزیابی عملکرد دانه در مناطق با تنش فراوان، گسترده‌ترین معیار عملی برای توصیف سازگاری ارقام برای شرایط پرتنش است (۶، ۷، ۱۲ و۱۳). معهذا در محیط‌های پرتنش عملکرد دانه همیشه مناسب‌ترین یا ساده‌ترین صفت نبوده و روش‌های مبتنی بر ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیک دخیل در تحمل تنش پیشنهاد شده است (۶).

در محیط های خشک و دارای حرارت بالا، گرمای دریافت شده به وسیله برگ، تحت شرایط نور زیاد با افزایش انعکاس برگ کاهش می‌یابد. این امر به حرارت کمتر و کاهش کمبود فشار بخار هوای برگ منتهی می‌شود و نتیجتاً میزان تلفات آب

۱- استادیار پژوهش ایستگاه تحقیقات کشاورزی گچساران
Mohammadi340@hotmail.com.
۲- استاد پژوهش در مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا)
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۲/۱۳
تاریخ پذیرش: ۸۶/۹/۵

4- Quantitative Traits loci

www.SID.ir

Archive of SID

کاهش می‌یابد (۱۶). لودلو و موچو[1] (۲۰) افزایش پوشش موم را به عنوان معیار مطلوب گزینش در تمام چهار موقعیت خشکی معمول در کشاورزی (خشکی میانی و انتهایی با عملیات کشاورزی مدرن و سنتی) توصیه می‌نمایند. معهذا احتمالاً تاثیر این صفت بر حداکثر عملکرد (پتانسیل عملکرد در شرایط مطلوب) کم است.

سرعت پیرشدن برگ، به طور بالقوه عامل مهمی در تعیین اندازه نهایی دانه است. این امر به خوبی شناخته شده است که تنش خشکی، سطح برگ و تولید پنجه‌ها را کاهش داده و پیرشدن زود هنگام این اندام‌ها را تحریک می‌کند و ابتدا برگ های مسن‌تر تحت تاثیر قرار می‌گیرند. تاخیر یا کاهش خشکی القاء شده توسط پیر شدن تدریجی برگ، مشروط به وجود فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها برای عملکرد تحت شرایط خشک مفید است (۲۴).

نتایج حاصل از آزمایشات به عمل آمده توسط هاوایکس و تاردی[2] (۱۵) بر این امر دلالت دارند که کلروفیل کم ارقام جو سوری، با سازگاری در شرایط خشک که با هدایت روزنه‌ای کم مشخص می‌شود، مرتبط می‌باشد. میزان کم کلروفیل برگ سبب کاهش جذب نور به وسیله برگ شده و به نوبه خود پتانسیل خسارت اثر گرمای ناشی از تشعشع زیاد در گیاهان با روزنه‌های بسته تحت تنش خشکی را کاهش می‌دهد. مطالعه انجام گرفته توسط آرائوس و همکاران[3] (۲) شواهدی برای مفید بودن اندازه‌گیری سریع کلروفیل فلورسنس[4] در خلال زمان پرشدن دانه برای ارزیابی عملکرد دانه تحت شرایط مدیترانه‌ای فراهم نموده است.

اغلب صفات مرتبط با تحمل به خشکی دارای ماهیت کمی بوده و با تعداد زیادی ژن اداره می‌شوند. این ژن‌ها با یکدیگر و با صور مختلف تنش خشکی اثر متقابل نشان می‌دهند. چنین مسائلی وراثت ژنتیکی این صفات را پیچیده نموده و درک آنها را با اتکا به اندازه‌گیری‌های فنوتیپی مشکل می‌نماید (۱۴). شناسایی و مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL) و تجزیه ارزش اثرات ژنتیکی و اثرات متقابل آنها با تیمارهای مرتبط با خشکی در قالب مطالعات QTL صورت می‌گیرد (۱۷). وقتی نشانگر های ژنتیکی احاطه کننده یک QTL موجود باشند، آنگاه انتخاب بر اساس نشانگرها، انتخاب بر اساس ژنوتیپ خواهد بود و پاسخ به گزینش به حداکثر خود می‌رسد (۱۰). بائوم و همکاران[5] (۴و۵) با استفاده از نشانگرهای RAPD و AFLP توانستند QTL های متعددی برای صفت محتوای کلروفیل برگ در شرایط دیم شناسایی نمایند. در مطالعه انجام گرفته توسط دیس و همکاران[6] (۳۰) QTL های متعددی برای محتوای کلروفیل برگ در شرایط اتاقک رشد و همچنین شرایط مزرعه بر روی کرموزوم های ۲، ۴، ۵، ۶ و ۷ شناسایی شده است.

اهداف اصلی این تحقیق، مکان‌یابی QTL ها، برآورد میزان تاثیر هر یک از QTL ها و تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTL ها و پیشنهاد آنها برای گزینش به کمک نشانگر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق، ۱۵۸ لاین دبل‌هاپلوئید به همراه دو والد متحمل به خشکی (۷) جو Wi2291 و Tadmor در قالب طرح آلفا-لاتیس با دو تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. تهیه دبل‌هاپلوئیدها با روش دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌های گیاهچه های حاصل از کشت دانه گرده نارس بوده و تکثیر

1- Ludlow & Muchow
2- Havaux & Tardy
3- Araus *et al*.
4- Cholorophyll florescence
5- Baum *et al.*
6- This *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

آنها در گلخانه توسط محققین ایکاردا[1] (مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک واقع در کشور سوریه) انجام شده است.

محل تحقیق

دو آزمایش مزرعه‌ای در ایستگاه های تحقیقاتی تل‌هادیا[2] (طول جغرافیاییN ۱ َ ۳۶ ْ، عرض جغرافیایی E ۲۶ َ ۳۷ ْ و ارتفاع از سطح دریا ۳۰۰ متر) و بردا (طول جغرافیایی N ۵۶ َ ۳۵ ْ و عرض جغرافیایی E ۱۰ َ ۳۷ ْ و ارتفاع از سطح دریا ۳۵۴ متر) واقع در شمال کشور سوریه طی سال زراعی ۴ – ۲۰۰۳ انجام گرفت.

صفات زراعی

صفات زراعی مورد اندازه‌گیری عبارت بودند از: محتوای کلروفیل برگ، پس از گلدهی (CC) که با استفاده از کلروفیل متر قابل حمل[3] اندازه‌گیری شد.کرکدار بودن سطح ساقه و برگ[4] (Pub) به صورت بصری ارزیابی شد (تراکم کم = ۱ تا انبوه = ۵). پیر شدن برگ[5] (LFS) که بیست روز پس ازگلدهی به صورت ارزیابی چشمی از زرد کم =۱ تا سبز کامل= ۵ برآورد شد.

استخراج DNA

برای تهیه نقشه لینکاژی[6]، ۱۶۰ لاین مورد استفاده قرار گرفت. DNA ژنومی لاین ها بر اساس روش سقایی– معروف و همکاران[7] (۲۸) با اندکی تغییر استخراج گردید. بخش هوایی ۲۰–۱۰ گیاهچه ۴ تا ۶ هفته‌ای برای هر لاین دبل هاپلوئید به صورت تازه جمع‌آوری و DNA آنها جداسازی شد. DNA استخراج شده با RNase تیمار شده، سپس کمیت DNA استخراج شده به صورت مقایسه با DNA استاندارد دارای غلظت مشخص بر روی ژل آگارز ۱٪ سنجیده شد.

ارزیابی نشانگرهای مولکولی

تعداد ۶۸ نشانگر SSR و۱۰۳ نشانگر AFLP برای تعیین ژنوتیپ روی جمعیت تحت بررسی مورد استفاده قرار گرفت که نهایتا با حذف نشانگرهای دارای کج شکلی تفرق[8]، نشانگرهای انفرادی غیرپیوسته و گروه‌های کوچک فاقد نشانگر SSR، تعداد ۵۰ نشانگر SSR و ۹۳ نشانگر AFLP روی نقشه نهایی قرار گرفت (شکل ۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آغارگرها بوسیله ترموسایکلر ۹۶ چاهک‌دار(Geneamp-9700) و با روش رامسی و همکاران[9] (۲۳) برای آغازگرهای SSR و با روش زابیو[10] (۳۳) برای نشانگر های AFLP اجرا گردید. برای نشانگرهای SSR، دمای اتصال بر حسب طول آغازگر و مطابق با توصیه شرکت سازنده و تجارب آزمایشگاه بیو– تکنولوژی ایکاردا در نظر گرفته شد. فرآورده های PCR با استفاده از دستگاه توالی یاب اتوماتیک ABI Prism377 تفکیک و با استفاده از نرم افزارهای Genescan و Genotyper نمره‌دهی شدند (۱).

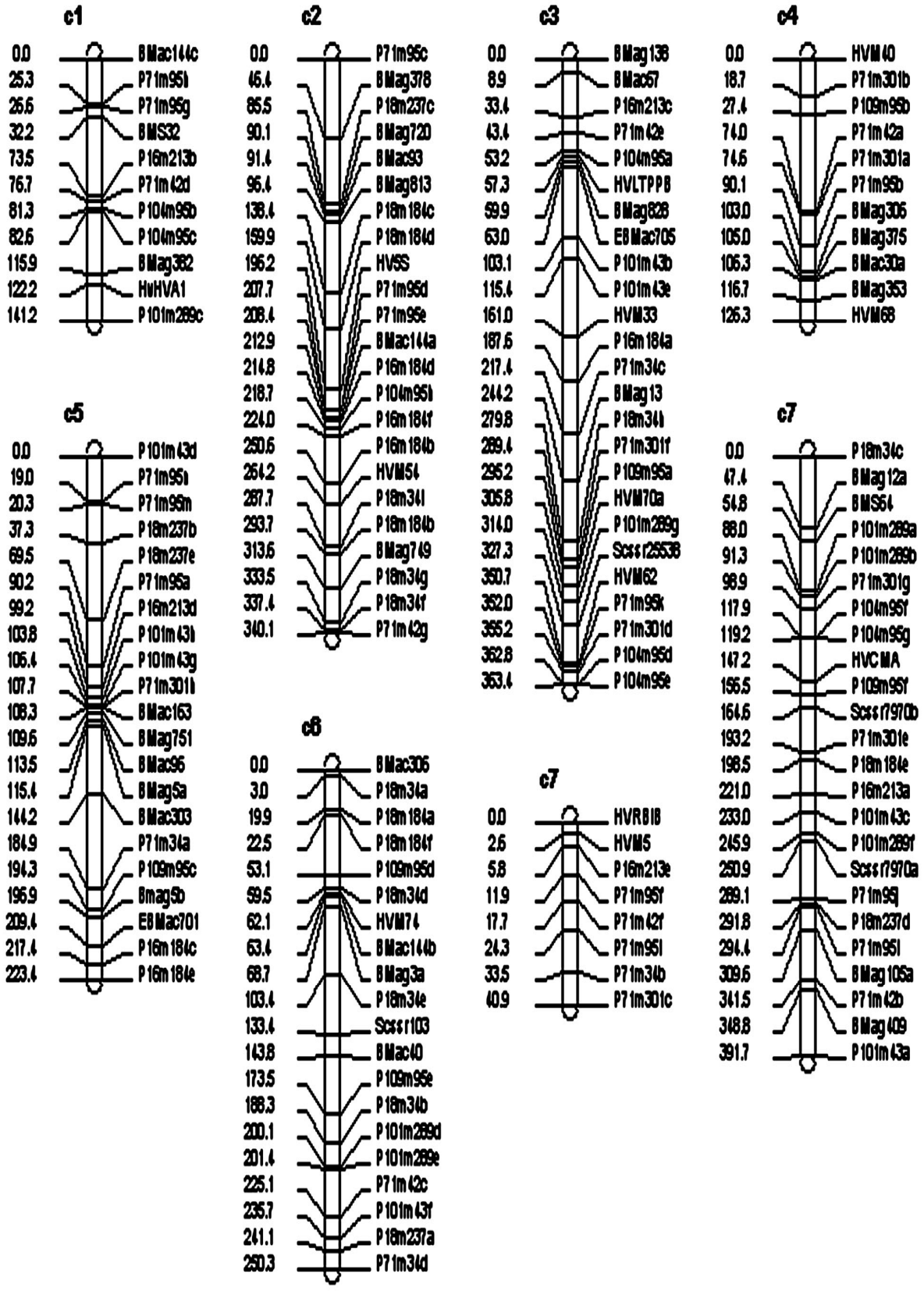
تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس برای هر یک از صفات در دو آزمایش مزرعه‌ای به صورت جداگانه انجام گرفت. ضریب تغییرات ژنتیکی صفات مزبور نیز محاسبه شد. همبستگی ژنتیکی بین صفات با توجه به فرمول های میلر و همکاران[11] (۲۱) محاسبه شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری Genestat صورت گرفت.

1- ICARDA
2- Tel Hadya
3- SPAD502, Mintola camera company,Osaka, Japan
4- Pubsence
5- Leaf senescence
6- Linkage map
7- Saghai – Maroof *et al.*
8- Segregation distortion
9- Ramsay *et al.*
10- Zabeau.
11- Miller *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ – نقشه لینکاژ تلاقی Wi2291×Tadmor بر اساس سیستم کروموزومی جو

www.SID.ir

Archive of SID

برای تشکیل نقشه ژنتیکی از نرم افزار Mapmaker 3.0/b (۱۹) استفاده شد. نسبت های نو ترکیبی بر اساس تابع کوزامبی[1] (۱۸) به واحد نقشه تبدیل گردید. گروه های لینکاژی با LOD معادل ۹ تشکیل شدند. انتساب گروه ها به کروموزوم ها با استفاده از گزارشات موجود در رابطه با مکان کروموزومی نشانگرهای SSR و با فرض عدم وجود جابجایی، چرخش یا مضاعف شدگی صورت گرفت.

نقشه‌یابی QTL با استفاده از نرم افزار QTL-Carthographer نسخه ۱/۱۵ (۸) انجام شد. در این برنامه، روش نقشه‌یابی فاصله ای مرکب مبتنی بر رگرسیون چندگانه مورد استفاده قرار گرفت. حداقل LOD برای شناسایی QTL برابر ۲/۵ و حداقل فاصله پویش، دو سانتی مورگان در نظر گرفته شد. علاوه بر تعیین جایگاه و میزان اثر هر QTL، واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTL ها و نیز توسط مجموع QTL ها در یک مدل رگرسیون چندگانه توجیه می‌شد، محاسبه گردید.

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی و تفکیک متجاوز صفات

نتایج حاصل از ضریب تغییرات ژنتیکی به عنوان نماد تنوع صفات، نشان داد که در تل هادیا و بردا، صفات پیر شدن تدریجی برگ‌ها، کرکدار بودن ساقه و برگ‌ها و محتوای کل کلروفیل برگ‌ها دارای تنوع زیادی بودند (جدول ۱).

بررسی اختلاف بین والدین و یا مقایسه بهترین والد و بهترین لاین از نتاج هاپلویید مضاعف، برای تمام صفات تفکیک متجاوز نشان داد. معنی‌دار بودن اختلاف اندازه صفت در دو والد یا معنی دار بودن تفکیک متجاوز را شاید به توان پیش نیاز انجام تجزیه QTL دانست. این امر نشان می‌دهد که والدین از نظر ژن‌های کنترل کننده صفت مزبور متفاوت هستند و بنابراین اجرای تجزیه و تحلیل QTL منجر به شناسایی یک یا تعدادی QTL خواهد شد. علاوه بر این، مبین ماهیت کمی صفت بوده و به معنای آن است که آلل های افزایش دهنده و کاهش دهنده مقدار صفت به صورت توأم در هر کدام از دو والد حضور دارند. به عبارت دیگر آلل های هر دو والد در تظاهر صفت دخالت دارند و در برخی از نتاج، تعداد بیشتری آلل افزاینده یا کاهنده نسبت به والدین جمع شده است که ترکیب آنها منتج به مقادیر بالاتر و پایین تر از والدها شده است.

همبستگی صفات با عملکرد دانه

محتوای کلروفیل برگ در منطقه بردا با عملکرد دانه همبستگی مثبت معنی دار نشان داد (r=./۳۴**). به عبارت دیگر با زیاد شدن محتوای کلروفیل برگ در منطقه بردا محصول دانه افزایش یافته است. این امر با نتایج به دست آمده توسط واتانابه و همکاران[2] (۳۲)، تاردی و همکاران[3] (۲۹) و هاوایکس و تاردی[4](۱۶) مغایرت دارد. آرائوس و همکاران[5] (۲) و دخیل و همکاران[6] (۹) همبستگی مثبت بین محتوای کلروفیل برگ در زمان پرشدن دانه و عملکرد دانه را گزارش نمودند. پائین بودن درجه حرارت در ماه می‌در هر دو منطقه تل‌هادیا و بردا می‌تواند دلیل این امر باشد.

رنگ روشن برگ در انتهای چرخه رشد ارقام بومی جو در خاورمیانه به خوبی با شرایط سخت مدیترانه‌ای سازگار شده است. رقم Tadmor (یکی از والدین این تحقیق) دارای این خصوصیت است. واتانابه و همکاران[7] (۳۲) این رنگ را به کاهش مقدار کلروفیل در واحد سطح نسبت به ژنوتیپ های سبز تیره نسبت داده ان د. تحقیق هاوایکس و

1- Cosambi

2- Watanabae *et al.*
3- Tardy *et al*.
4- Havaux & Tardy
5- Araus *et al.*
6- Dakhyl *et al.*
7- Watanabae *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- تنوع والدین و تفکیک متجاوز برتری برای صفات مختلف در دو منطقه تل‌هادیا و بردا و میانگین آنها

والدها و ویژگی‌ها	محتوای	کرکدار بودن(Pub)	پیر شدن برگ(LFS)
تل‌هادیا			
Wi2291	۵۳/۴	۴/۰	۲/۹
Tadmor	۱۴/۳	۱/۷	۱/۰
تفاوت دو والد	۲۹/۱**	۲/۳**	۱/۹**
بهترین والد	۳۳/۴	۵/۰	۵/۰
تفاوت بهترین لاین از بهترین والد	-۷/۹*	۱/۰	۲/۱**
ضریب تغییرات	۸/۵	۳۲	۲۳
بردا			
Wi2291	۵۲/۲	۳/۵	۲/۸
Tadmor	۳۸/۲	۱/۹	۱/۰
تفاوت دو والد	۱۴**	۱/۶**	۱/۸**
بهترین والد	۳۰/۲	۵	۵
تفاوت بهترین لاین از بهترین والد	-۸*	۱/۵*	۲/۲**
ضریب تغییرات	۲/۰	۳۷/۰	۲۹/۰
میانگین دو محیط			
Wi2291	۵۲/۸	۳/۷	۲/۹
Tadmor	۳۹/۷	۱/۸	۱/۰
تفاوت دو والد	۱۳/۱*	۱/۹*	۱/۹*
بهترین والد	۵۳/۵	۴/۸	۴/۴
تفاوت بهترین لاین از بهترین والد	۰/۷	۱/۱	۱/۵*
ضریب تغییرات	۷/۲	۳۴	۲۷

*و ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ بر طبق آزمون t

تاردی (۱۵) نشان می‌دهد که میزان کم کلروفیل برگ های رقم Tadmor، خسارت گرمای ناشی از جذب نور را تعدیل نموده است.

پتانسیل محتوای کلروفیل در ارزیابی تحمل به خشکی باید با احتیاط پذیرفته شود. زیرا ممکن است یک سازگاری بسیار خصوصی به برخی شرایط جغرافیایی بوده و در سایر شرایط که گیاهان کمتر در معرض تنش حرارتی قرار می‌گیرند و کارایی فتوسنتزی خوبی دارند، رفتار متفاوتی بروز دهند. بنابراین در گزینش تسهیل شده به کمک نشانگرها، باید محیط هدف را به خوبی شناسایی نمود و نمی‌توان واکنش یکسانی در سراسر دنیا برای به نژادی جو انتظار داشت (۳۰). عملکرد دانه به موازات افزایش میزان موم در سطح ساقه و برگ‌ها در بردا افزایش یافته است (r=./۱۹*). برتری عملکرد واریته‌های غلات دارای موم نسبت به واریته‌های بدون موم از ۷ ٪ در گندم (۱۶)، تا ۱۶ ٪ در جو (۳ و ۱۱) گزارش شده است. در مطالعه چندین صفت فیزیولوژیک بر روی ۳۴ رقم گندم (۱۲)، تنها کرکدار بودن برگ‌ها دارای همبستگی معنی داری با عملکرد دانه به هنگام وقوع تنش خشکی بود. ریچاردز[1](۲۵ و ۲۶) اظهار داشت که افزایش حالت کرکدار بودن در گندم سبب افزایش کارایی مصرف آب گردیده است و در مقایسه ارقام گندم با برگ‌های دارای موم و بدون موم، حرارت برگ‌های دارای موم، ۰/۷ درجه سانتی گراد کمتر بود.

1- Richards

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین سرعت پیر شدن برگ آنها نیز کمتر بوده است.

در این تحقیق، پیر شدن تدریجی برگ سبب تولید بیشتر دانه در مواجهه با تنش خشکی در بردا شده است. بلوم[1] (۶)، توماس و اسمارت[2] (۳۱) و کواری و همکاران[3] (۲۲)، گزینش بر علیه پیر شدن سریع برگ و به نفع پایایی سبزینگی برای افزایش عملکرد تحت شرایط خشک را توصیه نموده اند.

ریچاردز (۲۴) معتقد است که تاخیر در پیر شدن برگ احتمالا منجر به سردتر شدن حرارت برگ می‌شود. لودلو و موچو[4] (۲۰) تداوم فعالیت سطح سبز برگ تحت تنش میانی را توصیه می‌نمایند. روزنو و همکاران[5](۲۷) این صفت را برای تنش انتهایی یعنی جایی که سبز ماندن ممکن است با پتانسیل عملکرد پایین همبسته باشد، مفید نمی دانند. توماس و اسمارت (۳۱) اظهار داشتند که گیاهان سالم (دارای پایایی سبزینگی[6]) عملکرد بیشتری را تولید نمودند. در واقع افزایش عملکرد دانه جو تحت شرایط دیم، همبستگی مثبت معنی داری با تاخیر در پیرشدن برگ داشته است و همبستگی آنها در محیط خشک‌تر قوی‌تر بود (۲۲).

تجزیه QTL صفات

با توجه به نتایج مندرج در جدول ۲، هشت QTL در دو منطقه تحت بررسی برای محتوای کلروفیل برگ بر روی کروموزوم‌های دو، سه، چهار و هفت شناسایی شد. منشأ والدی آلل های کاهنده تمام QTL ها برای کاهش محتوای کلروفیل پس از گرده‌افشانی، رقم Tadmor بوده است. از بین چهار QTL واقع بر کروموزوم‌های دوم و هفتم در تل هادیا، یک QTL که با نشانگر *Scssr7970a* پیوستگی نزدیک (سه سانتی‌مورگان) داشت دارای بالاترین مقدار LOD[7] و اثر افزایشی بوده است. محتمل‌ترین QTL بعدی بر روی کروموزوم دوم قرار داشته که با نشانگر *Bmag749* پیوستگی داشت. این دو QTL به ترتیب ۱۴ و ۱۲ درصد از تنوع فنوتیپی موجود را تبیین نموده اند. QTL پیوسته با نشانگر *Bmag*749 در بردا دارای بیشترین اثر افزایشی و بالاترین مقدار LOD بوده و به عنوان QTL مشترک لحاظ می‌شود. محتمل ترین QTL بعدی بر روی کروموزوم چهارم در مجاورت نشانگر *P71m301a* قرار داشته است. برای میانگین داده‌های دو محیط تعداد پنج QTL تشخیص داده شد که دو تای آنها با QTL های شناسایی شده در تل‌هادیا و دو تای آنها با QTL های شناسایی شده در بردا همخوانی داشته است. دیس و همکاران (۳۰) و بائوم و همکاران (۴ و ۵) نیز QTL هایی را در کروموزوم های دو، سه، شش و هفت، شناسایی کردند.

در منطقه تل‌هادیا، چهار QTL برایکرکدار بودن سطح ساقه و برگ‌ها شناسایی شد که بر روی کروموزوم های سه و هفت قرار داشتند. نشانگر *Bmag105* که با یکی از این QTL ها پیوستگی نزدیک داشت، به تنهایی ۳۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه نمود. LOD این QTL، ۱۱/۶ بوده و آلل افزاینده آن از رقم Wi2291 به ارث می‌رسد. در منطقه بردا، سه QTL واقع بر کروموزوم‌های سه، شش و هفت برای این صفت تشخیص داده شد که هیچ کدام بیش از ۱۲ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه ننموده اند. دو تا از این QTL ها در تجزیه مبتنی بر میانگین دو منطقه نیز مشاهده شد. منشأ آلل های افزاینده مقدار موم از هر دو والد می‌باشد. مجموع تأثیر همزمان QTL ها در

1- Blum
2- Thomas & Smart
3- Quarrie *et al.*
4- Ludlow & Muchow
5- osenow *et al.*
6- Stay green
7- logarithm of odd

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- جایگاه کروموزومی، اثر افزایشی، LOD و درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده (R^2) برای QTL های شناسایی شده صفات مختلف در دو منطقه تل هادیا و بردا و میانگین آنها

صفت	محیط	شماره کروموزوم	LOD	R^2	اثر افزایشی	فاصله از نزدیک ترین نشانگر (CM)	نزدیک ترین نشانگر
محتوای کل کلروفیل	تل هادیا	۲	۴/۸	۰/۱۲	۱/۴۸	۲/۶	*BMag749*
محتوای کل کلروفیل	تل هادیا	۷	۲/۹	۰/۰۷	۱/۱۴	۳/۵	*P109m95f*
محتوای کل کلروفیل	تل هادیا	۷	۳/۸	۰/۰۹	۱/۲۲	۴/۶	*Scssr7970b*
محتوای کل کلروفیل	تل هادیا	۷	۶/۵	۰/۱۴	۱/۵۶	۱/۳	*Scssr7970a*
محتوای کل کلروفیل	بردا	۴	۵/۵	۰/۰۹	۱/۴۱	۰/۴	*P71m301a*
محتوای کل کلروفیل	بردا	۲	۲/۸	۰/۰۵	۱/۱۶	۳/۶	*P16m184b*
محتوای کل کلروفیل	بردا	۲	۹/۳	۰/۲۴	۲/۳۸	۲/۶	*BMag749*
محتوای کل کلروفیل	بردا	۳	۳/۰	۰/۰۵	۱/۱۵	۰/۳	*HVM62*
محتوای کل کلروفیل	میانگین	۶	۲/۹	۰/۰۶	۰/۹۶	۱۴/۵	*P109m95e*
محتوای کل کلروفیل	میانگین	۲	۶/۹	۰/۱۵	۱/۷	۳/۶	*BMag749*
محتوای کل کلروفیل	میانگین	۷	۷/۹	۰/۱۳	۱/۴	۲/۵	*P109m95f*
محتوای کل کلروفیل	میانگین	۷	۴/۲	۰/۰۶	۱/۰	۱/۱	*Scssr7970a*
محتوای کل کلروفیل	میانگین	۳	۵/۹	۰/۰۸	۱/۱	۳/۰	*P71m95k*
کرکدار بودن ساقه و برگ	تل هادیا	۳	۳/۲	۰/۰۶	-۰/۲۵	۷/۰	*Hvm33*
کرکدار بودن ساقه و برگ	تل هادیا	۷	۱۱/۶	۰/۳۱	۰/۵۲	۱۰/۴	*BMag105*
کرکدار بودن ساقه و برگ	تل هادیا	۷	۴/۰	۰/۰۷	۰/۲۴	۰/۱	*Scssr7970a*
کرکدار بودن ساقه و برگ	تل هادیا	۷	۳/۷	۰/۰۸	۰/۲۶	۷/۴	*Scssr7970b*
کرکدار بودن ساقه و برگ	بردا	۶	۵/۷	۰/۱۰	۰/۳۰	۳/۵	*P18m184f*
کرکدار بودن ساقه و برگ	بردا	۷	۴/۷	۰/۱۲	۰/۲۸	۷/۴	*P18m34c*
کرکدار بودن ساقه و برگ	بردا	۳	۲/۱	۰/۰۵	-۰/۱۸	۳/۳	*Scssr25538*
کرکدار بودن ساقه و برگ	میانگین	۶	۳/۰	۰/۰۴	۰/۱۸	۰/۵	*P18m184f*
کرکدار بودن ساقه و برگ	میانگین	۷	۳/۶	۰/۱۱	۰/۲۸	۷/۴	*BMag105*
کرکدار بودن ساقه و برگ	میانگین	۵	۳/۶	۰/۰۶	۰/۱۸	۳/۶	*Bmag751*
کرکدار بودن ساقه و برگ	میانگین	۵	۲/۶	۰/۰۴	۰/۱۶	۱/۲	*Bmac303*
پیرشدن تدریجی برگ ها	تل هادیا	۴	۲/۶	۰/۰۹	۰/۲۵	۶/۷	*BMag353*
پیرشدن تدریجی برگ ها	تل هادیا	۶	۲/۷	۰/۰۴	۰/۱۸	۹/۵	*P109m95e*
پیرشدن تدریجی برگ ها	تل هادیا	۷	۸/۰	۰/۲۲	۰/۳۷	۷/۱	*Scssr7970a*
پیرشدن تدریجی برگ ها	تل هادیا	۳	۳/۴	۰/۱۱	-۰/۳۱	۳/۲	*P104m95a*

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۲-

صفت	محیط	شماره کروموزوم	LOD	R^2	اثر افزایشی	فاصله از نزدیک ترین نشانگر(CM)	نزدیک ترین نشانگر
پیرشدن تدریجی برگ ها	بردا	۷	۲/۴	۰/۰۸	۰/۲۱	۲/۶	*Scssr7970b*
پیرشدن تدریجی برگ ها	بردا	۷	۶/۶	۰/۱۱	۰/۲۵	۰/۱	*Scssr7970a*
پیرشدن تدریجی برگ ها	بردا	۵	۲/۸	۰/۰۴	۰/۱۶	۰/۵	*Bmac96*
پیرشدن تدریجی برگ ها	بردا	۵	۵/۲	۰/۱۱	۰/۲۵	۲/۶	*EBmac701*
پیرشدن تدریجی برگ ها	میانگین	۷	۴/۳	۰/۰۷	۰/۲۱	۰/۹	*Scssr7970a*
پیرشدن تدریجی برگ ها	میانگین	۵	۴/۰	۰/۰۶	۰/۱۹	۰/۳	*P18m237b*

تل هادیا و بردا در تبیین تنوع فنوتیپی میزان کرکدار بودن سطح ساقه و برگ ها به ترتیب ۵۳ و۴۶ درصد بود.

تعداد هشت QTL کنترل کننده پیر شدن تدریجی برگ که بر روی کروموزوم‌های سه، چهار، پنج، شش و هفت قرار داشتند در دو منطقه شناسایی شد. QTL پیوسته با نشانگر مشترک بوده و در تل‌هادیا و بردا به ترتیب ۲۲ و ۱۱ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نموده است. آلل موثر بر تدریجی‌تر شدن پیری برگ در این مکان ژنی از والد Wi2291 می‌باشد. میزان R^2 برای مجموع QTL ها در تل هادیا و بردا به ترتیب۴۶ و ۴۹ درصد بود. در تجزیه بر اساس میانگین داده‌ها در دو منطقه، یک QTL مشترک با دو محیط شناسایی شد.

نتایج حاصله نشان داد که برای تمام صفات مورد بررسی، تعداد شش QTL در سه یا حداقل دو تجزیه (با احتساب میانگین داده‌ها به عنوان محیط سوم) به صورت مشترک بوده است. علاوه بر این، QTL های مذکور دارای بالاترین LOD و بیشترین اثر افزایشی بودند. حضور یک QTL در دو محیط بیانگر ثبات بیان ژن است و اینکه بین QTL و محیط اثر متقابل وجود نداشته است. بنابراین به نظر می‌رسد که به توان این QTL ها را در زمره QTL های پایدار و اصلی کنترل کننده صفات مورد بررسی محسوب نمود و با اطمینان بیشتری از آنها در برنامه گزینش به کمک نشانگر استفاده کرد. هر چند در بین سایر QTL های کنترل کننده همین صفات یا سایر صفات، QTL های پر اثری شناسایی شده است که به یک محیط اختصاص داشته‌اند و استفاده از آنها در برنامه‌های به نژادی منطقه‌ای موثر خواهد بود. QTL های کنترل کننده هر سه صفت با نشانگر *Scssr7970a* که بر روی کرموزوم هفتم قرار گرفته است، پیوستگی نزدیکی داشتند. این پیوستگی می‌تواند ناشی از پلیوتروپی و یا لینکاژ ژن‌هایی باشد که در نزدیکی یکدیگر قرار گرفته اند. بنابراین استفاده از این نشانگر سبب سهولت در شناسایی عوامل ژنتیکی کنترل کننده صفات مورد بررسی خواهد شد. بهبود عملکرد دانه به عنوان نماد تحمل به خشکی، ناشی از ترکیب QTL های پایدار کنترل کننده صفاتی است که با عملکرد دانه همبستگی معنی دار دارند. استفاده از QTL های کنترل کننده صفات زراعی و عملکرد پایدار، دستاوردی در زمینه ایجاد تحمل به خشکی است که در تعیین نواحی ژنومی برای بهبود تحمل به خشکی قابل استفاده خواهد بود. پیدا کردن نواحی

www.SID.ir

Archive of SID

کروموزومی کنترل کننده صفات مورد مطالعه، آغازی برای استفاده از این QTL ها در جهت بهبود ارقام زراعی است. هر چند نقشه کشی با تراکم بالا و افزایش تراکم نشانگرها در ناحیه QTL ها سبب شناسایی پیوستگی شدیدتر برخی از آنها با نشانگرهای مناسب می‌شود.

منابع

1. Anonymous. 2000. DNA marker techniques for crop improvement. ICARDA. Syria. Aleppo, P. 65.

2. Araus, J.L., Casadesus, J., Bort, J., Nachit, M.M., Villegass D., Aparicio N., and Royo, C. 1998. Some remarks on ecophysiological traits for breeding *In*: Nachit, M.M., M. Baum, E. Precddu, P. Monncvevx and E. Picard (eds.). Sewana durum wheat research network, pp: 57-61.

3. Bansiger, P.S., Wesenber, D.M. and. Fischer, R.C. 1983. The effects of genes controlling barley leaf and sheath waxes on agronomic performance in irrigated and dry land environments. Crop Science, 23:116-120.

4. Baum, M., Grando, S., Bakes, G., Jahoor, A., and Ceccarelli, S. 2003. QTLs for agronomic traits in the Mediterranean environments identified in recombinant inbred lines of the cross Arta x *H. spontaneum* 41-1.Theoritical and Applied Genetics, 107:1215-1225.

5. Baum, M., Sayed, H., Araus, J.L., Grando, S., Ceccarelli, S., Backes, G., Molher, V., Jahoor, A., and Fischbeck, G. 1996. QTL analysis of agronomic important characters for dryland conditions in barley. *In*: Proc. Vth IOC-VII IBGS Meeting, 30 july-August 1996.Saskatoon. Saskatchewan. Canada, pp: 241-243.

6. Blum, A. 1989. Osmotic adjustment and growth in barley genotypes under drought stress. Crop Science, 29: 230-233.

7. Ceccarelli, S. 1988. Increasing productivity in unfavorable conditions: philosophies, strategies, methodologies. *In*: Leone U.,G. Rialdi, and R. Venora(eds.).Advanced technologies for increased agricultural production, pp: 167-176 CNR-USG Publ. Rome. Italy.

8. Christopher, R.J., Bruce, S.W., and Zhao- Bang, Z. 2001. QTL Cartographer version 1.15 Bioinformatics Research Center. North Carolina State University. Raleigh. NC, pp: 27695-7566.

9. Dakheel, A.J., Naji., I., Mahalakshmi, V., and Peacock, J.M. 1993. Morphophysiological traits associated with adaptation of durum wheat to harsh Mediterranean environments. Aspects of Applied Biology, 34: 297 – 307.

10. Dudley, J.W. 1997. Quantitative genetic and plant breeding. Advanced Agronomy, 59:1-23.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Feberero, A., Fernandez, S., Molina-Cano, J.L., and Araus, J. 1998. Yield, carbon isotope discrimination, canopy reflectance and cuticular conductance of barley isolines of differing glaucousness. Journal of Experimental Botany, 49: 1575-1581.

12. Fischer R.A., and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research, 29: 897-912.

13. Gavuzzi, P., Delougu, G., Boggini, G., DI Fonzo, N., and Borghi, B.1993. Identification of bread wheat, durum wheat and barley cultivars adapted to dry areas of Southern. Italy. Euphytica, 68: 131-145.

14. Hamam Mohammed, K.A. 2004. Improving crop varieties of spring barley for drought and heat tolerance with AB-QTL analysis, Ph.D. thesis, institute Fur Pflanzenbau, pp:115-167.

15. Havaux, M. and Tardy, F. 1999. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high – drought and heat stress, Australian Journal of Physiology, 26: 569 – 578.

16. Jansen, R.C. 1993. Interval mapping of multiple quantitative trait loci. Genetics, 135: 205-211.

17. Kearsey, M.J., and Pooni, H.S. 1996. The genetically analysis of quantitative traits, Chapman & Hall, 381 p.

18. Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distance form recombination values, Annual Eugen, 12: 172-175.

19. Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly M.J., Lincoln, S.E., and Newburg G. L. 1987. MAPMAKER: An interactive Computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. Genomics, 1: 174-181.

20. Ludlow, M.M., and Muchow, R.C. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yields in water- limited environments. Advanced Agronomy, 43: 107-153.

21. Miller, P.A., Williams, J.C, Robinson, H.F., and Comstock, R.E. 1985. Estimates of genetics and environmental variances in upland cotton and their implications in selection. Agronomy Journal, 50: 126-131.

22. Quarrie, S.A., Stojanovic, J., and Pekic, S.1999. Improving drought resistance in small-grained cereal: a case study, progress and prospects. Plant Growth Regulation, 29:1-21.

23. Ramsay, L., Macaulay, M., Degli ivanissevich, S., Maclean, K., Carsle, L., Fuller, J., Edwards, K.J., Turesson, S., Morganter, M., Massari, A., Masteri, E., Marmiroli, N., Sjakste T., Ganal, M., Powel, W., and Waugh, W. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. Genetics, 156: 1997-2005.

www.SID.ir

Archive of SID

24. Richards, R.A. 1984. Glaucounsness in wheat, its effect on yield and related characteristic in dryland environments, and its control by minor genes. *In* : Proceeding 6th International Wheat Genetic Symposium. Kyoto, Japan, pp: 447-451.

25. Richards, R.A. 1996. Defining selection criteria to improve yield under drought. Plant Growth Regulation, 20: 157-166.

26. Richards, R.A. 1989. Breeding for drought resistance physiological approaches in : Baker, F.W.G.(ed) Drought resistance in cereals. CAB International, 222 p.

27. Rosenow, D.T., Quisenberry, J.E., Wendt, C.W., and Clark, L.E. 1983. Drought tolerant sorghum and cotton germplasm. *In:* Stone J.F., and Willis, W.O. (eds.) Plant production and Management under Drought Conditions. Amsterdam: Elsevier, pp: 207-222.

28. Saghai – Maroof, M.A., Soliman, K.M., Gorgensen, R.A., and Allard, R.W. 1984. Ribosomal DNA spacer –length polymorphism in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. Proceedings National Academy Science, USA, 81:8014-8018.

29. Tardy, F., Creach, A., and Havaux, M. 1998. Photosynthetic pigment concentration organization and interconversions in a pale green Syrian landrace (Tadmor) adapted to harsh climatic conditions. Plant, Cell and Environment. 21:479-489.

30. This, D., Borris, C.C., Souyris, I., and Teulat, B. 2000. QTL study of chlorophyll content as a genetic parameter of drought tolerance in barley. Barley Genetics Newsletter, 30: 20.

31. Thomas, W.T.B., Powell, W., Waugh, R., Chalmers, K.J., Barua, U.M., Jack P., Lea, V., Forster, B.P., Swanston., J.S. Ellis, R.P., Janson P.R. and Lance, R.C.M. 1995. Detection of quantitative trait in spring barley (*Hordeum vulgare* L) Theoritical and Applied Genetics, 91:1037-1047.

32. Watanbe, N., Naruse, J., Austin, R.B., and Morgan, C. L. 1995. Variation in proteins and photosynthesis in Syrian landraces of barley. Euphytica, 82: 213–220.

33. Zabeau, M. 1996. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA finger printing. European Patent Application Animal Science, (34): 49-55.

www.SID.ir