"مجله علوم زراعي ايران"
جلد دهم، شماره ٤، زمستان ١٣٨٧

شناسایی برخی مکان‌های ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس در گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var. Durum) با استفاده از نشانگر ریزماهواره

Identification of some quantitative trait loci for lodging in durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. Durum) using microsatellite markers

سعد اله هوشمند[1] و ران ناکس[2]

چکیده

هوشمند، س. و ر. ناکس.۱۳۸۷. شناسایی برخی مکان‌های ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس در گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var. Durum) با استفاده از نشانگر ریزماهواره. **مجله علوم زراعی. ۱۰ (٤): ۳۹۹-۳۸۹.**

بررسی حاضر با هدف مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده ورس در گندم دوروم (*Triticum turgidum* L var. Durum) با استفاده از یک جامعه دابلد هاپلویید صورت پذیرفت. این جامعه شامل ۱۵۵ لاین بود که از تلاقی رقم کوفا و لاین Kyle*2/Biodur حاصل شده بود. رقم کوفا در مقایسه با والد دیگر از مقاومت بالاتری نسبت به ورس برخوردار است. اطلاعات فنوتیپی از ارزیابی مقاومت به ورس لاین‌های دابلد هاپلویید و والدین طی دو سال زراعی ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ میلادی در دو منطقه رجینا و ایندین‌هد در ایالت ساسکاچوان کانادا حاصل شد و تفاوت معنی‌داری بین لاین‌های حاصل از تلاقی از لحاظ این ویژگی مشاهده گردید. چند شکلی والدین با استفاده از ۵۱۷ نشانگر ریزماهواره بررسی و نشانگرهای چندشکل در والدین برای غربال کلیه لاین‌های جامعه استفاده شدند. نقشه پیوستگی ۵۳ نشانگر چندشکل، ١٤ گروه پیوسته و ۱۱ نشانگر ناپیوسته را تشکیل دادند که حدود ۹۷۱ سانتی‌مورگان از ژنوم گندم دوروم را پوشش داد. رابطه بین داده‌های ژنوتیپی و فنوتیپی بر اساس روش‌های تجزیه تک نشانگر، مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و با استفاده از میانگین‌های حاصل از روش حداقل مربعات بررسی شد. نتایج بیانگر سه QTL مرتبط با مقاومت به ورس در این جامعه بود. تأثیر QTL اول که روی کروموزم 4BL قرار دارد در هر چهار محیط معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱) بود و به‌طور میانگین ۲۰ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کرد. تأثیر دو مکان ژنی دیگر که روی کروموزم 2AL قرار داشتند، وابسته به محیط بود و حداقل در یکی از چهار محیط رابطه معنی‌داری با تغییرات این صفت نشان داد و بین ٤ تا ۸ درصد از تغییرات این صفت را توضیح داد.

واژه های کلیدی: گندم دوروم، لاین دابلدهاپلویید، محیط، نشانگر ریزماهواره، ورس و QTL.

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۱۴

۱ - استادیار دانشگاه شهرکرد (مکاتبه کننده)

۲- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی منطقه نیمه خشک کانادا

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

ورس به خوابیدگی ساقه و عدم برگشت آن به حالت اولیه خود اطلاق می‌گردد و از دیرباز به عنوان یک عامل محدود کننده تولید در غلات مطرح بوده است (Berry *et al.*, 2004). این خصوصیت دارای توارث کمی بوده و در مزرعه باعث افزایش رطوبت و فراهم آمدن محیطی مناسب برای تکثیر قارچ‌ها، کاهش کارایی برداشت، کاهش انتقال مواد غذایی به سنبله و نهایتاً کاهش عملکرد و کیفیت دانه می‌گردد (Briggs *et al.*, 1999; Xue and Warkentin, 2001). بطور مثال، در گندم نان ورس می‌تواند بین ۴ تا ۲۰ درصد (Briggs *et al.*, 1999) و در برخی مناطق بیشتر از ۴۰ درصد (Easson *et al.*, 1993) کاهش عملکرد دانه را ایجاد کند. ورس بطور معمول توسط باد و باران تشدید می‌شود و می‌تواند توسط عواملی هم‌چون آفات و بیماریها (Keller *et al.*, 1999) مقدار اضافی ازت محیط کشت، تراکم بالای بوته و میزان رطوبت بالا (Champoux *et al.*, 1995) تحت تأثیر قرار گیرد. عوامل مذکور باعث بروزمشکلاتی در ارزیابی و امتیازدهی گیاهان برای مقاومت به ورس در مزرعه می‌گردد، از این‌رو دستیابی به روشی برای ارزیابی مقاومت به ورس که، مستقل از محیط باشد، یکی از اهداف به‌نژادی غلات می‌باشد. تلاش‌هایی در جهت شناسایی خصوصیات مورفولوژیک که بتوانند به عنوان معیاری برای انتخاب غیر مستقیم مقاومت به ورس استفاده شود، صورت پذیرفته است و در این زمینه صفاتی مانند قطر ساقه، تراکم ساقه (وزن ساقه در سانتی‌متر) و ارتفاع بوته مطرح شده است(Keller *et al.*, 1999; Easson *et al.*, 1993). اما از آنجائکه این صفات و همچنین همبستگی آنها با ورس تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، توفیق کلی دراین زمینه حاصل نشده است. بنابراین شناسایی مکانهای ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس و گزینش به کمک نشانگر می‌تواند به عنوان ابزار مهم در بهبود مقاومت به ورس در غلات و از جمله گندم دوروم مورد استفاده قرار گیرد. مطالعات در زمینه شناسایی مکانهای ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس و همچنین نشانگرهای پیوسته با آن در گیاهان زراعی متفاوت انجام گردیده است. کیلر و همکاران (Keller *et al.*, 1999) تعداد نه عدد QTL برای مقاومت به ورس در یک جامعه حاصل از تلاقی گندم نان و گندم اسپلت (*Triticum spelta* L.) گزارش کردند که دو QTL روی کروموزم‌های 2A و 4A قرار داشته است. ورما و همکاران (Verma *et al.*, 2005) با استفاده از یک جامعه دابلد هاپلوییید (Doubled haploid) گندم نان و نشانگرهای ریزماهواره، QTLهایی را روی کروموزم‌های 4B ، 4D ، 6D و 7D مشخص نموده‌اند که با ورس ارتباط داشت و جمعاً حدود ۳۰ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کردند. مک‌کارتنی و همکاران (McCartney *et al.*, 2005) نیز مکان‌های ژنی را روی کروموزم‌های 4B و 4D در رابطه با کنترل ورس در یک جامعه گندم بهاره گزارش نموده‌اند. برنر و همکاران (Börner *et al.*, 2002) سه QTL با اثر اصلی کنترل ورس روی گروه‌های کروموزمی شماره ۲ و ۶ به همراه چند QTL با اثر کوچک را در گندم نان گزارش کردند. همچنین در گیاهان دیگر هم‌چون ذرت (Cardinal *et al.*, 2003) ، جو (Kandemir *et al.* 2000)، برنج (Luo *et al.* 2000)، و نخود (Tar'an *et al.*, 2003) نیز QTLهای مرتبط با ورس شناسایی شده است. هو و همکاران (Hu *et al.*, 2002) و بروس و همکاران (Bruce *et al*,. 2001) تلاش کردند ژن‌های کنترل کننده مقاومت به ورس را به‌ترتیب در گندم و ذرت همسانه کنند.

هدف از این پژوهش شناسایی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره پیوسته با مقاومت به ورس و در نتیجه تعیین موقعیت کروموزومی مکان (مکان‌های) ژنی کنترل کننده آن در گندم دوروم بود.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

یکصد و پنجاه و پنج لاین دابلدهاپلوئید (Doubled haploid) گندم دوروم، حاصل تلاقی از رقم کوفا و لاین خالص Biodur/(Kyle*2) در این بررسی استفاده شد. این جامعه از روش گرده‌افشانی بوته‌های F_1 با دانه گرده ذرت و دو برابر کردن کروموزم‌های گیاهان هاپلوئید با کلشی‌سین حاصل شده بود (Knox *et al*., 2000).

ارزیابی فنوتیپی این جامعه همراه با والدین و۱۳ رقم به عنوان شاهد در یک طرح لاتیس در دو تکرار بصورت کشت بهاره طی سال‌های زراعی ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ میلادی در مزارع تحقیقات کشاورزی رجینا و ایندین‌هد واقع در ایالت ساسکاچوان کانادا انجام شد. هر کرت شامل چهار ردیف سه متری با فاصله ۲۳/۵ سانتی‌متر بود. تمامی واحدهای آزمایشی بر مبنای نسبت بوته‌های ورس شده ، از صفر (بدون ورس) تا ۹ (ورس کامل) امتیازدهی شدند.

از روش تغییر شکل یافته CTAB (Saghai-Maroof *et al*., 1984) جهت استخراج DNA از برگ بوته‌های ۱۵ روزه والدین و ۱۵۵ لاین جامعه دابلد هاپلوئید استفاده شد. تعداد ۵۱۷ جفت نشانگر ریزماهواره با توالی و مکان کرموزومی معین (Röder *et al*., 1998; Somers *et al*., 2004) برای بررسی چندشکلی والدین استفاده شد. واکنش زنجیره پلی‌مراز در حجم ۱۵ میکرولیتر با اجزای، ۱/۵µl DNA با غلظت ۲۰-۲۵ ng/µl ، ۱/۵µl بافر۱۰X بدون Mg، ۰/۹µl $MgCl_2$ با غلظت ۲۵mM، آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰۰ng/µl به میزان ۰/۳µl ، ۱/۲µl dNTP's با غلظت ۱۰mM، ۰/۲۱µl آنزیم Taq polymerase با غلظت 5U/µl و۹/۰۹µl آب مقطر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه ۹۴°C به‌مدت ۳ دقیقه ، ۴۴ چرخه شامل واسرشت‌سازی در ۹۴°C یک دقیقه، اتصال آغازگر ۵۰°C تا ۶۵°C (با توجه به نشانگر) به‌مدت یک دقیقه و بسط در ۷۲°C برای یک دقیقه و سپس ده دقیقه در ۷۲°C برای گسترش نهایی بود. تکثیر DNA (عمل PCR) در ترموسیکل ۳۸۴ خانه مدل Biosystem IMP9700 انجام شد. محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز در ژل آگاروز سه درصد (نسبت ۲:۱ متافور – آگارز LE) تفکیک شدند. اندازه نوارها با توجه به نوارهای نشانگر راهنمای PGEM تعیین شد.

نشانگرهایی که در والدین چند شکلی نشان دادند برای غربال افراد جامعه استفاده شدند. آزمون مربع کای (χ^2)برای بررسی انحراف تفرق از نسبت ۱:۱ در جامعه برای هر نشانگر انجام گردید و نشانگرهایی که انحراف نشان دادند، از تجزیه کنار گذاشته شدند. نقشه پیوستگی نشانگرها با استفاده از نرم‌افزار MAPMAKER تهیه شد (Lander *et al*., 1987). در این رابطه از تابع کوسامبی (Kosambi, 1944) برای تبدیل میزان نوترکیبی به فاصله ژنتیکی استفاده گردید.

برای تجزیه QTL از سه روش تجزیه تک نشانگر، مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب استفاده شد (Knapp, 2001). دو روش آخر با استفاده از نرم‌افزار MQTL انجام شد و در این زمینه میانگین‌های حاصل از حداقل مربعات میانگین (Least square means) به کار گرفته شد (Lynch and Walsh, 1998). در این نرم‌افزار از آماره آزمون (Test Statistic (TS)) جهت تعیین ارتباط معنی‌دار بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی و به عبارت دیگر معنی‌دار بودن اثر QTL استفاده می گردد. آماره آزمون از طریق فرمول [TS=*n* ln(RSSr/RSSf)] محاسبه می گردد. در این فرمول *n* تعداد مشاهدات، RSSf مجموع مربعات باقی‌مانده مدل کامل و RSSr مجموع مربعات باقیمانده مدلی است که بدون اثر مکان مورد آزمون باشد (Tinker and Mather, 1995). این آماره مشابه نسبت درستنمایی و تقریباً مساوی با آماره F است. چنانچه در یک محیط آماره آزمون (TS) در ۰/۲۲ ضرب گردد معادل LOD حاصل از MAPMAKER/QTLخواهد شد. آماره آزمون بر اساس

Archive of SID

www.SID.ir

۱۵۰۰ دفعه جایگشت (Permutation) محاسبه گردید و مکان QTL در بین نشانگرهای جانبی موقعیتی فرض گردید که بیشترین مقدار آماره آزمون را دارا بود. در روش تجزیه تک نشانگر، لاین‌های جامعه دابلدهاپلوییید بر مبنای نوار تولیدی برای هر نشانگر به دو دسته والدینی تقسیم و وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین امتیاز مقاومت به ورس این دو دسته با استفاده از آزمون F ارائه شده توسط ناپ (Knapp, 2001) و بکارگیری دستور PROC MIXED در نرم‌افزار SAS انجام شد (Littell *et al.*, 1996). سطح احتمال معنی‌دار برای این آزمون، سطح احتمال $P<۰/۰۰۱$ در یک محیط یا در سطح احتمال $P<۰/۰۱$ در بیش از یک محیط در نظر گرفته شد(Lander and Kruglyak, 1995).

سهم هر مکان ژنی در توجیه واریانس فنوتیپی با استفاده از ضریب تبیین (R^2) و از طریق General linear model بدست آمد (Basten *et al.*, 2001) و برای هر مکان ژنی R^2 برای نزدیکترین نشانگر به آن تعیین شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس جداگانه برای هر محیط و تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد بین لاین‌های جامعه دابلد هاپلوئید از لحاظ مقاومت به ورس اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) وجود داشت که بیانگر تنوع ژنتیکی بین لاین‌های جامعه مورد مطالعه بود. میانگین امتیاز مقاومت به ورس برای والدین و جامعه دابلد هاپلوئید نشان می‌دهد (جدول۱) رقم کوفا به عنوان یکی از والدین با میانگین امتیاز۱/۷ در مقایسه با والد دیگر یعنی لاین Kyle*2/Biodur با میانگین ۳/۱ نسبت به ورس مقاوم‌تر بود. دامنه تغییرات میزان ورس ساقه در لاین‌های جامعه دابلدهاپلوئید (جدول ۱) نشان می‌هد برخی لاین‌ها در دو جهت افزایش و کاهش نسبت به والدین تفکیک متجاوز نشان داد. این موضوع همچنین در نمودار توزیع فراوانی لاین‌ها برای میزان ورس ساقه مشهود است (شکل ۱). عدم طبقه بندی لاین‌ها به دو گروه والدی در این توزیع فراوانی می‌تواند ناشی از حضور بیش از یک ژن در کنترل این خصوصیت جامعه مورد مطالعه باشد که با گزارشات قبلی (Champoux *et al.*, 1995; Börner *et al.*, 2002; Cardinal *et al.*, 2003) در این زمینه مطابقت دارد.

از تعداد ۵۱۷ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی در والدین، تعداد ۵۴ نشانگر بین والدین چند شکلی نشان دادند که برای غربال جامعه استفاده گردیدند. آزمون مربع کای نشان داد که به جز یک نشانگر سایر نشانگرها از نسبت ۱:۱ مورد انتظار در جامعه دابلدهاپلوئید تبعیت کردند. تهیه نقشه پیوستگی، نشانگرها را به ۱۴ گروه پیوسته و ۱۱ نشانگر انفرادی (ناپیوسته) گروه بندی کرد و جمعا ۹۷۱ سانتی مورگان از ژنوم گندم دوروم را پوشش دادند که بطور میانگین فاصله ۱۷/۳ سانتی مورگان به ازاء هر نشانگر بود.

در تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده سه گروه پیوستگی نشانگرها شامل [Xgwm251، Xgwm165 , Xgwm495]، [Xgwc114- Xgwm339 و [Xgwm495- Barc10] با میزان ورس در جامعه مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار نشان دادند. نشانگرهای جانبی، آماره آزمون و مقدار واریانس فنوتیپی این صفت که توسط هر گروه لینکاژی توجیه شده است در دو منطقه و دو سال در جدول ۲ آورده شده است. اثر مکان ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس واقع در گروه اول پیوستگی نشانگرها [Xgwm251، Xgwm165 , Xgwm495] در تمام چهار محیط بسیار معنی‌داری ($P<۰/۰۰۰۱$) بود. این مکان ژنی همچنین برای میانگین داده‌های چهار محیط نیز معنی‌دار بود. QTL مذکور با توجه به محیط مطالعه دارای اثر افزایشی بین ۰/۵۵ تا ۱/۹۹ بود و به طور میانگین حدود ۲۰ درصد از تنوع فنوتیپی ویژگی ورس در این محیط‌ها را تبیین کرد و حد فاصله بین دو نشانگر اول و در فاصله ۱/۱ سانتی‌مورگان نسبت به Xgwm495 قرار داشت. این گروه پیوستگی نشانگرها روی

Archive of SID

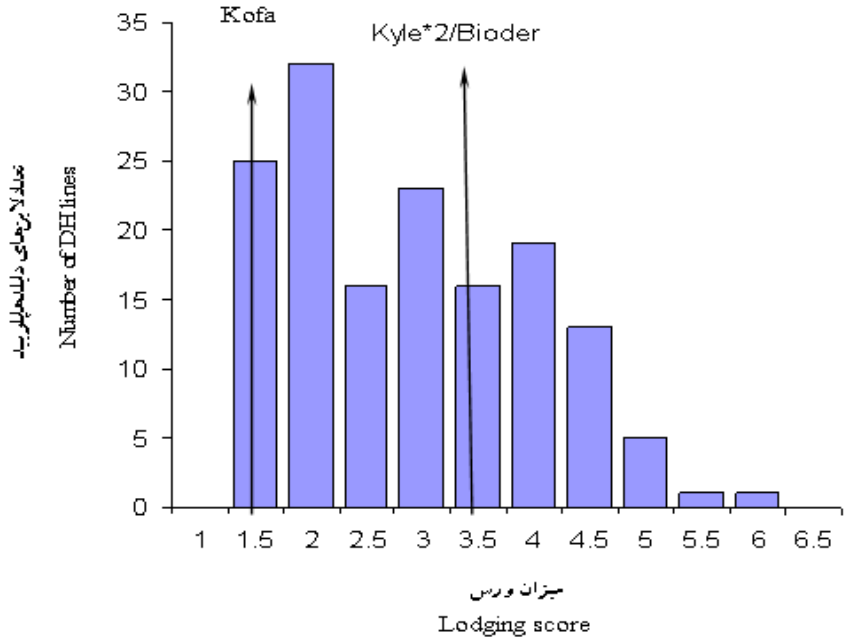
www.SID.ir

جدول ۱ – میانگین والدین، لاین‌های دابلد هاپلوئید (DH) و خطای معیار میانگین‌ها (Se) میزان ورس در مناطق رجینا و ایندین‌هد طی دو سال ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ میلادی

Table 1. Means of the parents, doubled haploid (DH) lines and the standard error of the means (SE) for lodging score at Regina and Indian Head in 2001-2002 cropping seasons

لاین Line	Regina رجینا		Indian Head ایندین‌هد		میانگین چهار محیط Mean of four environment
	2001	2002	2001	2002	
Kofa	1.8	2.0	1.0	2.0	1.7
Kyle*2/Biodur	3.2	3.0	2.0	6.0	3.1
DH lines	2.57 (1.0-5.0)	2.77 (1.0-5.5)	1.64 (0.0-5.0)	3.68 (0.0-9.0)	2.62 (1.0-6.5)
SE	0.78	0.97	0.68	2.49	1.07

Numbers in the parenthesis show range of DH line اعداد داخل پرانتز دامنه تغییرات امتیازها در لاین‌های دابلد هاپلوئید را نشان می‌دهد



شکل ۱– توزیع فراوانی میزان ورس در لاین‌های جامعه دابلد هاپلوئید بر مبنای میانگین دو منطقه و دو سال

Fig. 1. Distribution frequency of lodging scores in doubled haploid population averaged over two locations in two years

بازوی بلند کروموزم 4B و نزدیک به سانترومر قرار دارد (Röder *et al.*, 1998). وجود QTL کنترل کننده ورس روی کروموزم 4B در گندم نان توسط ورما و همکاران (Verma *et al.*, 2005)، مک‌کارتنی و همکاران (McCartney *et al.*, 2005) گزارش شده است. همچنین از سایر گزارش‌ها می‌توان نتیجه گرفت که در کل گروه کروموزمی همیولوگ شماره چهار در کنترل مقاومت به ورس گندم نقش دارند، چون علاوه بر کروموزم 4B، مکان‌های ژنی مرتبط با مقاومت به ورس در گندم روی کروموزم 4A (Keller *et al.*, 1999) و کروموزم 4D (McCartney *et al.*, 2005; Verma *et al.*, 2005) گزارش شده است.

www.SID.ir

ارتباط دو گروه دیگرپیوستگی نشانگرها [Xgwc114- Xgwm339] و [Xgwm495- Barc10] با دو مکان ژنی کنترل کننده مقاومت به ورس در منطقه رجینا در سال ۲۰۰۱ میلادی و در ایندین‌هد در سال ۲۰۰۲ میلادی معنی‌دار بود و بین چهار تا هشت درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند (جدول ۲). این دو QTL روی بازوی بلند کروموزم 2A قرار دارند (Röder *et al.*, 1998). اثر افزایشی QTL موجود بین نشانگرهای Xgwc114- Xgwm339 با توجه به محیط دارای بین ۰/۴۹- تا ۲/۰۶- و QTL موجود بین نشانگرهای Xgwm495- Barc10 بین ۰/۷۱- تا ۱/۶۷- بود. بنابراین این دو QTL در جهت کاهش حساسیت به ورس عمل نموده و باعث افزایش مقاومت به ورس می‌گردند. وجود QTL کنترل کننده مقاومت به ورس در گندم نان روی این کروموزم قبلاً (Keller *et al.*, 1999; Börner *et al.*, 2002) گزارش شده است. از طرفی با توجه به تأثیر عوامل محیطی بر صفت ورس (Champoux *et al.*, 1995; Keller *et al.*, 1999)، امکان دارد برخی مکان‌های ژنی بتوانند تنها در محیطی خاص بروز نمایند. عدم ارتباط معنی‌دار دو QTL فوق‌الذکر در برخی محیط‌ها توجیه‌پذیر است.

نتایج حاصل از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب هر چند از لحاظ مقدار عددی آماره آزمون برای نشانگرهای با آماره‌های مربوط به تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده متفاوت بود، اما از لحاظ سطح معنی‌دار در محیط‌های مختلف شبیه به تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده بود. از آنجا که در تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب اثر هر QTL با ثابت در نظر گرفتن اثرات سایر QTLها انجام می‌گردد، بنابراین شباهت نتایج این دو تجزیه می‌تواند بیانگر آن باشد که سه QTL مذکور مستقل عمل می‌کنند.

در تجزیه تک نشانگر لاین‌های جامعه دابلدهاپلویید، برای هر نشانگر بطور جداگانه، بر مبنای باندهای تولیدی به دو گروه والدی تقسیم می‌شوند. معنی‌دار بودن اختلاف میانگین این دو گروه با استفاده از آزمون‌های آماری همچون آزمون *t* یا آزمون *F* به معنی احتمال پیوستگی QTL تلقی می‌گردد (Knapp, 2001). در جدول ۳ اختلاف میانگین امتیاز مقاومت به ورس دو گروه لاین‌های جامعه دابلدهاپلویید بر مبنای باندهای تولیدی برای نشانگرهایی که آزمون F آنها در تجزیه تک نشانگر در یک محیط در سطح احتمال ۰/۰۰۱ و در بیش از یک محیط در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود آورده شده است. از از نشانگرهای شرکت کننده در گروه‌های پیوستگی که در تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده (فوق‌الذکر) شرکت داشتند، از گروه پیوستگی اول هر سه نشانگر و از گروه دوم و سوم هی یک یک نشانگر در تجزیه تک نشانگر با QTLهای مقاومت به ورس ارتباط نشان دادند (جدول ۳). علاوه بر آن در این تجزیه ، نشانگر Xgwm247 نیز با مقاومت به ورس در دو محیط ارتباط معنی‌داری (P<0.01) نشان داد. این نشانگر روی کروموزم 3BL قرار دارد. ارتباط این نشانگر با ژن‌های کنترل کننده شکستگی ساقه توسط زنبور ساقه‌خوار گندم (*Cephus Cinctus* Norton.) (Houshmand *et al.*, 2003) و تویری ساقه (Houshmand *et al.*, 2007) گزارش شده است. این دو صفت می‌توانند بر میزان ورس تأثیر بگذارند.

در مجموع با توجه به نتایج این پژوهش و گزارش‌های قبلی استنباط می‌شود از بین مکان‌های ژنی مطرح شده، QTL روی کروموزم 4BL نقش عمده‌ای در کنترل مقاومت به ورس در گندم دوروم دارد. با بررسی نزدیکترین نشانگر به این QTL یعنی Xgwm495 بر جوامعی بزرگ با زمینه‌های ژنتیکی متفاوت که برای این صفت تفکیک نشان می‌دهند و داده‌های فنوتیپی دقیق دارند، آزمون آن بر ارقام شناخته شده حساس و مقاوم به ورس و به عبارت دیگر اعتبار سنجی[1] دقیق، و همچنین لحاظ نمودن سایر مکان‌های ژنی موثر بر این ویژگی، می‌توان آن را جهت استفاده در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر[2] پیشنهاد نمود.

1- Validation

2- Marker Assisted Selection

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- آماره آزمون(TS) حاصل از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده برای میزان ورس، اثر افزایشی و مقدار واریانس فنوتیپی آن ($R^2\%$) که توسط هر گروه لینکاژی در مناطق رجینا و ایندین‌هد طی دو سال ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ میلادی تبیین شد

Table 2. Test statistic (TS) of Simple interval mapping analysis for lodging score and phenotypic variance of the trait explained ($R^2\%$) and addetive effect (Ad E)by each linkage group at Regina and Indian Head, in 2000-2001 cropping seasons

کروموزم Chromosome	گروه پیوستگی و فاصله (cM) Linkage group and interval (cm)		نشانگرهای جانبیQTL Flaking markers	رجینا Regina				ایندین‌هد Indian Head				میانگین چهار محیط Mean of four environment	
				2001		2002		2001		2002			
				TS	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE	TS	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE	TS	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE	TS	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE	TS	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE
4BL	1	0.0	Xgwm251	30.5***		27.6***		21.1***		18.2***		35.6***	
		5.0	Putative QTL	37.1***	21 0.86	38.9***	20 0.51	24.1***	21 1.95	25.5***	19 1.99	50.5***	$R^2\%$ [(a)] *and* AdE 18 0.87
		6.1	Xgwm495	35.6***		38.4***		22.7***		23.9***		49.6***	
2AL	2	0.0	Xgwc114	14.4**		3.9 ns		0.4 ns		14.3***		34.2***	
		15.0	Putative QTL	15.1**	7 -0.49	4.6 ns	-	0.3 ns	-	17.5***	8 -2.06	41.6***	6 -0.66
		24.2	Xgwm339	7.1 ns		3.0 ns		0.2 ns		11.6**		27.1 ns	
2AL	3	0.0	Xgwm425	11.1*		5.2 ns		1.1 ns		9.8**		12.0 ns	
		10.1	Putative QTL	13.2**	4 -0.71	6.0 ns	-	1.3 ns	-	9.9**	7 -1.67	17.1**	5 -0.63
		28.8	Barc10	7.2 ns		3.2 ns		0.8 ns		6.3 ns		15.1 ns	

ns: Non- significant

*, ** and ***: Significant at the 5%, 1% and 0.1% levels of probability, respectively

[(a)]: normal numbers are coefficient of determination and bold numbers are the additive effect of QTL

ns: غیر معنی‌دار

*، ** و *** : به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد

[(a)]: اعداد معمولی ضریب تبیین و اعداد درشت‌تر میزان اثر افزایشی QTL می‌باشند

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- نتایج تجزیه تک نشانگر با استفاده از آزمون F برای میزان ورس در مناطق رجینا و ایندین‌هد طی دو سال ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲

Table 3. Single marker analysis for lodging score using F test at Regina and Indian Head, in 2000-2001 cropping seasons

کروموزم Chromosome	نشانگرها Markers	Regina رجینا				Indian Head ایندین‌هد				میانگین چهار محیط Mean of four environment	
		2001		2002		2001		2002			
		DIFF[(a)]	*F*	DIFF	*F*	DIFF	*F*	DIFF	*F*	DIFF	*F*
4BL	Xgwm251	0.72	30.0***	0.74	25.6***	1.55	44.2***	0.77	32.1***	0.94	27.4***
4BL	Xgwm495	0.80	38.5***	0.92	43.1***	1.74	49.5***	0.49	18.5***	0.99	29.5***
4BL	Xgwm165	0.71	28.2***	0.88	34.6***	1.96	48.2***	0.75	26.3***	1.16	38.2***
2AL	Xgwc114	0.40	8.3**	0.33	4.6*	1.32	38.3***	0.40	7.6**	0.61	18.3**
2AL	Xgwm425	0.46	11.9***	0.35	5.1*	1.21	31.9***	0.45	13.3***	0.62	14.9***
BL۳	Xgwm247	0.36	7.00**	0.21	3.0 ns	0.11	2.3 ns	0.34	7.8**	0.26	5.1*

ns: Non- significant

ns: غیر معنی‌دار

*, ** and ***: Significant at the 5%, 1% and 0.1% levels of probability, respectively

*، ** و ***: به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵، ۱ و ۰/۱ درصد

[(a)]: DIFF is difference of the population lines, in two groups, based on parental bands

[(a)]: DIFF : تفاوت میانگین دو گروه لاین‌های جامعه بر مبنای باندهای والدی است

Archive of SID

www.SID.ir

References منابع مورد استفاده

Basten, C. J., B. S. Weir and Z-B. Zeng. 2001. QTL cartographer: a reference manual and tutorial for QTL mapping. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, Pp. 55–72

Berry, P. M., M., Sterling, J. H. Spink, C. Baker, R. Sylvester-Bradley, S. Mooney, A. Tams and A. Ennos. 2004. Understanding and reducing lodging in cereals. Advances in Agronomy 84: 217-271.

Briggs, K. G., O. K. Kiplagat and A. M. Johnson-Flanagan. 1999. Effects of pre-anthesis moisture stress on floret sterility in some semi-dwarf and conventional height spring wheat cultivars. Can. J. Plant Sci. 79: 515-520.

Bruce, W., P. Desbons, O. Crasta and O. Folkerts. 2001. Gene expression profiling of two related maize inbred lines with contrasting root-lodging traits. J. Expt. Bot. 52: 459-468.

Börner, A., E. Schumann, A. Fürste, H. Cöster, B. Leithold, M. Röder and W. Weber. 2002. Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 105: 921–936.

Cardinal, A. J., M. Lee, and K. J. Moore. 2003. Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize. Theor. Appl. Genet. 106:866–874.

Champoux, M. C., G. Wang, S. Sarkarung, D. J. Mackill, J. C. O'Toole, N. Huang and S. McCouch. 1995. Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. Theor. Appl. Genet. 90:969–981.

Easson, D. L., E. M. White and S. J. Pickles. 1993. The effects of weather, seed rate and cultivar on lodging and yield in winter wheat. J. Agric. Sci. 121: 145–156.

Hu, M. Q., Y. Xu, Z. B. Lin and P. He. 2002. Cloning of cDNA encoding COMT from wheat which is differentially expressed in lodging-sensitive and -resistant cultivars. J. Expt. Bot. 53: 2281-2282.

Houshmand, S., R. E. Knox, F. R Clarke and J. M. Clarke. 2003. Microsatellite markers associated with sawfly cutting in durum wheat. Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium in Paestum Italy. Vol. 3: 1151-1153.

Houshmand, S., R. E. Knox, F. R. Clarke and J. M. Clarke. 2007. Microsatellite markers flanking a stem solidness gene on chromosome 3BL in durum wheat. Mol. Breeding. 20:261–270.

Kandemir, N., L. B. Jones, D. M. Wesenberg, S. E. Ullrich1 and A. Kleinhofs. 2000. Marker-assisted analysis of three grain yield QTL in barley (*Hordeum vulgare* L.) using near isogenic lines. Mol. Breeding. 6: 157–167.

Keller, M., C. Karutz, J. E. Schmid, P. Stamp, M. Winzeler, B. Keller, and M. M. Messmer. 1999. Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat × spelt population. Theor. Appl. Genet. 98:1171–1182.

Knapp, S. J. 2001. Mapping quantitative trait loci. In: Phillips, R.I., and I.K. Vasil eds., "DNA-Based Markers in Plants". Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 59-99.

Kosambi, D. D. 1944. The estimation of map distance from recombination values. Ann. Eugen. 12: 172-175.

Archive of SID

www.SID.ir

Knox, R. E., J. M. Clarke and R. M. DePauw. 2000. Dicamba and growth condition effects on double haploid production in durum wheat crossed with maize. Plant Breeding. 119: 289-298.

Lander, E. and L. Kruglyak. 1995. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. Nature Genet. 11: 241-247.

Lander, E. S., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. J. Daly, S. E. Lincoln, and L. Newberg. 1987. MAPMAKER: an interactive computer program for constricting primary genetic maps of experimental and natural population. Genomics. 1: 174-181.

Littell, R. C., G. A. Milliken, W. W. Stroup, and R.D. Wolfinger. 1996. SAS System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC. Pp. 633.

Luo, L. J., D. B. Zhong, H. W. Mei, L. B. Guo, Y. P. Wang, J. L. Xu, C. S. Ying and Z. K. Li. 2000.QTLs for stem thickness and strength in rice. Chin. Rice Res. Newslett. 8: (4) 34-45.

Lynch, M., and B. Walsh. 1998. Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Mass. pp. 980.

Röder, M. S., V. Korzun, Wendehake, K. J. Plaschke, M-H. Tixier, P. Leroy and M. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007-2023.

Marza, F., G. H. Bai, B. F. Carver and W. C. Zhou. 2006. Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population. Theor. Appl. Genet. 112: 688–698.

McCartney, C. A., D. J. Somers, D. G. Humphreys, O. Lukow, N. Ames, J. Noll, S. Cloutier, and B. D. McCallum. 2005. Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL4452 × 'AC Domain' Genome. 48: 870–883.

Saghai-Maroof, M. A., K. M. Solima, R. A. Jorgenson and R. W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Nad. Acad. Sci. USA 81: 8014-8018.

Somers, D J., P. Isaac and K. Edwards. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.).Theor. Appl. Genet. 109:1105-1114.

Tar'an, B., T. Warkentin, D. J. Somers, D. Miranda, A. Vandenberg, S. Blade, S. Woods, D. Bing, A. Xue, D. DeKoeyer and G. Penner. 2003. Quantitative trait loci for lodging resistance, plant height and partial resistance to mycosphaerella blight in field pea (*Pisum sativum* L.) Theor. Appl. Genet. 107:1482–1491.

Tinker, N.A. and D.E. Mather. 1995. MQTL: software for simplified composite interval mapp -ing of QTL in multiple environments. JQTL.ttp://probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/jqtl/ 2.

Verma, V., A. J. Worland, E. J. Sayers, L. Fish, P. D. Caligari and J. W. Snape. 2005. Identification and characterization of quantitative trait loci related to lodging resistance and associated traits in bread wheat. Plant Breeding. 124: 234-241.

Xue, A. G. and T. D. Warkentin. 2001. Partial resistance to *Mycosphaerella pinodes* in field pea. Can. J. Plant Sci. 81: 535–540

Archive of SID

www.SID.ir

Identification of some quantitative trait loci for lodging in durum wheat *(Triticum turgidum* L. var. Durum) using microsatellite markers

Houshmand[1], S. and R. E. Knox[2]

ABSTRACT

Houshmand, S. and R. E. Knox. 2009. Identification of some quantitative trait loci for lodging in durum wheat *(Triticum turgidum* L. var. Durum) using microsatellite markers. **Iranian Journal of Crop Sciences. 10 (4):389-399 (in Persian).**

The purpose of the present study was to identify QTLs for lodging in durum wheat *(Triticum turgidum* L. var durum) using a doubled haploid population. The population included a set of 155 lines that were developed from the cross (Kyle*2/Biodur)/Kofa using maize pollen method. The Kofa parent shows more resistance than Kyle*2/Biodur, to lodging. Phnotypic data of resistance to lodging of the doubled haploid population lines and the parents was scored in 2000-2001 cropping seasons in Regina and Indian Head, Saskatchewan, Canada. There was highly significant differenc between the population lines for this trait. Parents were tested with 517 wheat microsatellite (Simple Sequence Repeat) markers. The primers that were polymorphic in the parents were tested on the whole population to prepare the genotypic data. The genetic linkage map of the 53 polymorphic loci covered about 970 cM and converged into 14 linkage groups. Eleven markers remained unlinked. Linkage between the markers and the lodging genes done based on single marker analysis, simple interval mapping and composit interval mapping using least square means. Three linkage marker groups were associated with lodging trait. The first QTL is located on the chromosome 4BL and its effects were highly significant (P<0.0001) in four environments and explained 20% of lodging phenotypic variation. The other two loci were located on the 2AL, also have highly significant effects on the trait at least at one environment and explained 4-8 percents of lodging phenotypic variation, depending on environments.

Key words: Doubled haploid line, Durum wheat, Environment, Lodging, QTL and Microsatellite markers.

Archive of SID

Received: February, 2008.

1- Assistant Prof., Shahrekord University, Shahrekord, Iran. (Corresponding author)
2- Researcher, Agriculture and Agri-Food Canada, SPARC, Swift Current, Saskatchewan, Canada.

www.SID.ir