ژنتیک نوین
دوره هفتم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱
صفحه ۷۸-۷۱

مکان‌یابی برخی ژن‌های کنترل کننده محتوای پروتئین دانه در گندم دوروم با استفاده از جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف

سعدالله هوشمند*[۱]، رونالد ناکس[۲]

۱- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد
۲- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی منطقه نیمه خشک کانادا، سویفت کانت ، ساسکاچوان، کانادا

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Houshmand@agr.sku.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۹- تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۸)

چکیده

میزان پروتئین دانه در گندم دوروم اثر عمده‌ای بر ارزش غذایی و ویژگی‌های محصولات سمولینا و پاستای حاصل از گندم دوروم دارد. هدف از بررسی حاضر تعیین کروموزم و موقعیت مکان‌های ژنی کنترل‌کننده و اهمیت هر یک از این مکان‌ها بر محتوای پروتئین دانه در گندم دوروم (*Triticum turgidum* L, var durum) با استفاده از یک جمعیت هاپلوئید مضاعف بود. این جمعیت شامل ۱۵۵ لاین به‌همراه والدین و ارقام شاهد طی دو سال در سه منطقه در ایالت ساسکاچوان کانادا از لحاظ میزان پروتئین دانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای ارزیابی ژنوتیپی، ۵۱۷ نشانگر ریزماهواره روی والدین آزمون و سپس نشانگرهایی که چندشکلی نشان دادند برای غربال کلیه لاین‌های جمعیت استفاده شدند. رابطه بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی بر اساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و با استفاده از میانگین‌های حاصل از روش حداقل مربعات بررسی شد. نتایج بیانگر وجود چهار QTL مرتبط با میزان پروتئین دانه در این جمعیت بود که تأثیر این مکان‌های ژنی به محیط نیز وابسته بود. دو QTL روی بازوی بلند کروموزم 4B قرار داشتند که QTL اول در چهار محیط و QTL دیگر در دو محیط با میزان پروتئین دانه ارتباط معنی‌دار نشان دادند و به ترتیب بین ۱۵-۹ و ۸-۷ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این محیط‌ها را توجیه نمودند. دو QTL دیگر که روی بازوی کوتاه کروموزم‌های 2B و 7B قرار داشتند، به‌ترتیب در چهار و سه محیط با میزان پروتئین دانه ارتباط معنی‌دار نشان دادند و به ترتیب بین ۸-۷ و ۸-۹ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این محیط‌ها را پوشش دادند. در تجزیه همزمان داده‌های شش محیط، یک موقعیت روی کروموزم 4B تعیین گردید که در بروز اثر متقابل ژنتیک و محیط نقش داشت.

واژه‌های کلیدی

گندم دوروم، میزان پروتئین دانه، نشانگر ریزماهواره، هاپلوئید مضاعف، QTL.

مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var. Durum) حدود ۸ درصد از تولید گندم دنیا را به خود اختصاص داده است. ویژگی‌های کیفی این گیاه که استفاده از آن را در تهیه محصولات سمولینا و پاستا منحصر به فرد می‌نماید و همچنین قیمت بالای جهانی آن نسبت به گندم نان، باعث روند صعودی تولید آن گردیده است. میزان پروتئین دانه به عنوان مهم‌ترین جزء تعیین کننده کیفیت دانه نقش عمده‌ای در کیفیت و ارزش غذایی این محصولات پاستا و همچنین نان تولیدی از گندم دوروم ایفا می‌کند.

Archive of SID

علاوه بر این میزان پروتئین دانه یکی از عوامل اصلی در تجارت جهانی گندم می‌باشد. هر چند افزایش میزان پروتئین دانه از اهداف اولیه اصلاحی برای محققینی است که در زمینه بهبود کیفیت و تغذیه کار می کنند (Blanco et al. 2006; Joppa et al. 1997)، اما در اغلب موارد افزایش میزان پروتیئن در غلات ناشی از کاربرد بیشتر کودهای ازته بوده است و در جوامع در حال تفرق تلاش در جهت بالا بردن میزان پروتئین دانه از طریق ژنتیک بدلیل همبستگی منفی آن با عملکرد دانه محدود شده است (Blanco et al. 2006). آگاهی از مبانی ژنتیکی محتوای پروتئین می تواند برای برنامه‌های اصلاحی که هدف آن‌ها بهبود کیفیت در گندم دوروم است سودمند باشد. در این زمینه، بکارگیری روش-های نوین ژنتیکی از جمله نشانگرهای مولکولی در جهت شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده محتوای پروتئین دانه می‌تواند راه‌گشا باشد. میزان پروتئین دانه در گندم به لحاظ ژنتیکی یک ویژگی کمّی بوده و تحت تاثیر عوامل محیطی و مدیریت زراعی قرار می‌گیرد. Blanco et al. (2003) چند مکان ژنی روی بازوهای کروموزمی 4BS، 5AL، 6AS، 6BS، 7AS و 7BS را تعیین نمودند که در کنترل میزان پروتئین دانه در گندم تتراپلوئید نقش داشته‌اند. Joppa et al. 1997 یک QTL روی بازوی کوتاه کروموزم 6B شناسایی نمودند که سهم عمده‌ای (٦٦ درصد) در توجیه تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در گندم تتراپلویید *T. dicoccoides* داشته است. در گندم نان، با استفاده از لاین‌های نوترکیب تعداد نه QTL روی کروموزم‌های 1A, 1B, 3B, 4A, 5A, 5B, 6B, 7A, 7B و 7D گزارش گردیده است که در مجموع حدود ۵۱ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در گندم نان (*T. aestivum* L) را توجیه نموده‌اند (Zanetti et al. 2001). همچنین در این رابطه یک QTL که با یک نشانگر AFLP مرتبط بوده است توسط Sourdille et al. 2003 شناسایی شده است. در بررسی یک جمعیت هاپلوئید مضاعف گندم نان در چند محیط چهار QTL با آثار افزایشی روی کروموزم‌های 1A, 3A, 3B, 5D را شناسایی گردیده است که در کنترل میزان پروتئین دانه نقش داشته اند(Zhao et al. 2010). علاوه بر این تعیین مکان‌های ژنی صفات کمی (QTL) وسیله‌ای موثر برای توجیه مبانی ژنتیکی اثر متقابل ژنتیک و محیط فراهم می‌نماید. هرچند در رابطه با اثر متقابل محیط و QTL موثر بر ویژگی‌های مرفولوژیکی و عملکرد دانه در گندم نان وجود دارد و توسط برخی محققین (Kuchel et al. 2007) مرور شده است، اما گزارش‌ها در این زمینه برای صفات کیفی بویژه در گندن دوروم محدود می‌باشد و یک مکان ژنی روی کروموزم 5D را گزارش کرده است (Zhao et al. 2010) که در کنترل اثر متقابل محیط و QTL پروتئین نقش داشته است. با توجه به اینکه شناسایی QTLها و تهیه نقشه آنان در تعیین تعداد ژن‌های کنترل کننده و میزان وراثت‌پذیری صفت مهم است و این گونه اطلاعات می‌تواند در بالابردن کارایی انتخاب در برنامه‌های اصلاحی از طریق گزینش به کمک نشانگر استفاده گردد، این پژوهش با هدف تعیین کروموزم(های) و موقعیت مکان‌های ژنی کنترل کننده، میزان اثر افزایشی و اهمیت هر یک از این مکان‌ها بر محتوای پروتئین دانه در گندم دوروم طرح ریزی گردید.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی و ارزیابی فنوتیپی

مواد ژنتیکی و شیوه کشت در گزارشات قبلی (Houshmand and Knox 2009; Houshmand et al. 2007) ارائه گردیده است. در این رابطه یک جمعیت هاپلوئید مضاعف گندم دوروم، شامل ۱۵۵ لاین به همراه والدین (رقم کوفا و لاین W9262-260D3) و۱۳ رقم به عنوان شاهد طی دو سال زراعی ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ در مزارع تحقیقات کشاورزی رجینا و ایندین‌هد کانادا واقع در ایالت ساسکاچوان مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. رقم کوفا یک رقم از امریکا، و لاین W9262-260D3 (والد دیگر جمعیت) یک لاین F_9 حاصل تلاقی Kyle*2 و Biodur می‌باشد که محتوای پروتئین بیشتری نسبت به رقم کوفا دارد اما استحکام گلوتن آن کمتر است. در کل این جامعه با هدف تعیین مکان‌های ژنی صفات زراعی و صفات مرتبط با کیفیت دانه تولید گردیده بود. این ارزیابی در یک طرح لاتیس در دو تکرار بصورت کشت بهاره و در واحدهای آزمایشی شامل چهار ردیف سه متری با فاصله ۲۳/۵ سانتی‌متر صورت گرفت. میزان پروتئین دانه بر مبنای روش AACC تعیین و بر حسب درصد برای تمامی واحدهای آزمایشی اندازه‌گیری شد (AACC 1995). تجزیه واریانس جداگانه و

Archive of SID
www.SID.ir

مرکب داده‌های حاصل انجام و وراثت‌پذیری بر مبنای اجزاء واریانس در تجزیه مرکب تعیین شد.

ارزیابی ژنوتیپی

بر اساس روش تغییر شکل‌یافته CTAB (Saghai Maroof et al. 1984) از نمونه برگی بوته‌های ۱۵ روزه DNA والدین و ۱۵۵ لاین جمعیت هاپلوئید مضاعف استخراج شد. تعداد ۵۱۷ جفت نشانگر ریزماهواره با توالی و مکان کرموزومی معین از گروه GWM (Röder et al. 1984)، از گروه WMC (Somers et al. 1984) و از گروه BARC (Gupta et al. 1984) روی DNA والدین اعمال گردید و نشانگرهای چندشکل در این والدین مشخص شدند. در این رابطه واکنش PCR برای نمونه‌ها، در حجم ۱۵ میکرولیتر با اجزای، ۱/۵ µl DNA با غلظت ۲۵ ng/µl– ۲۰، ۱/۵ µl بافرX۱۰ بدون Mg، ۰/۹ µl $MgCl_2$ با غلظت ۲۵mM، آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰۰ ng/ µl به میزان۰/۳ µl، ۱/۲ µl dNTP's با غلظت ۱۰mM، ۰/۲۱ µl آنزیم Taq polymerase با غلظت ۵ U/µl و ۹/۰۹ µl آب مقطر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹٤°C به‌مدت ۳ دقیقه، ٤٤ چرخه شامل واسرشت‌سازی در ۹٤°C یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۵۰°C تا ٦۵°C (با توجه به نشانگر) به‌مدت یک دقیقه و بسط در ۷۲°C برای یک دقیقه و سپس ده دقیقه در ۷۲°C برای بسط نهایی بود. تکثیر DNA (عمل PCR) در ترموسیکل ۳۸٤ خانه مدل Biosystem IMP9700 انجام شد. محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز در ژل آگاروز سه درصد (نسبت ۲:۱ متافو– آگارز LE) تفکیک شدند. اندازه نوارها با توجه به نوارهای نشانگر راهنمای PGEM تعیین شد. نشانگرهای ریزماهواره چند شکل در والدین، روی ۱۵۵ لاین جمعیت هاپلوئید مضاعفاعمال و بر مبنای شباهت باند تولیدی هر لاین با باند مربوط به یکی از والدین امتیازدهی شدند. برای بررسی انحراف تفرق هر نشانگر در جمعیت از نسبت ۱:۱ از آزمون مربع کای (χ^2) استفاده 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.

تجزیه QTL

برای تعیین QTLهای کنترل‌کننده میزان پرئتئین دانه از روش‌های تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب استفاده شد (Knapp 2001). این دو روش با استفاده از نرم‌افزار MQTL انجام شد و بدین منظور میانگین‌های حاصل از حداقل مربعات میانگین به کار گرفته شد (Lynch and Walsh 1998). در نرم‌افزار MQTL از آماره آزمون (Test Statistic (TS)) جهت تعیین ارتباط معنی‌دار بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی و به عبارت دیگر معنی‌دار بودن اثر QTL استفاده می‌گردد. آماره آزمون از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۲۰). $TS=n \ln(RSSr/RSSf)$ 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 . 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/QTL خواهد شد. آماره آزمون بر اساس ۱۵۰۰ نمونه تصادفی جایگشت (Permutation) محاسبه گردید و مکان QTL در بین نشانگرهای جانبی موقعیتی فرض گردید که بیشترین مقدار آماره آزمون را دارا بود. 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 (۱۳). از ضریب تبیین (R^2) در تعیین سهم هر مکان ژنی در توجیه واریانس فنوتیپی میزان پروتئین استفاده شد (Basten et al. 2001) و در این رابطه برای هر مکان ژنی R^2 برای نزدیک‌ترین نشانگر به آن تعیین گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس جداگانه برای میزان پروتئین دانه در هر یک از شش محیط مورد بررسی و تجزیه مرکب این داده‌ها نشان داد لاین‌های هاپلوئید مضاعف از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) داشته که بیانگر تنوع ژنتیکی بین لاین‌های مورد مطالعه بود (داده‌ها آورده نشده‌اند). همچنین در تجزیه مرکب

Archive of SID
www.SID.ir

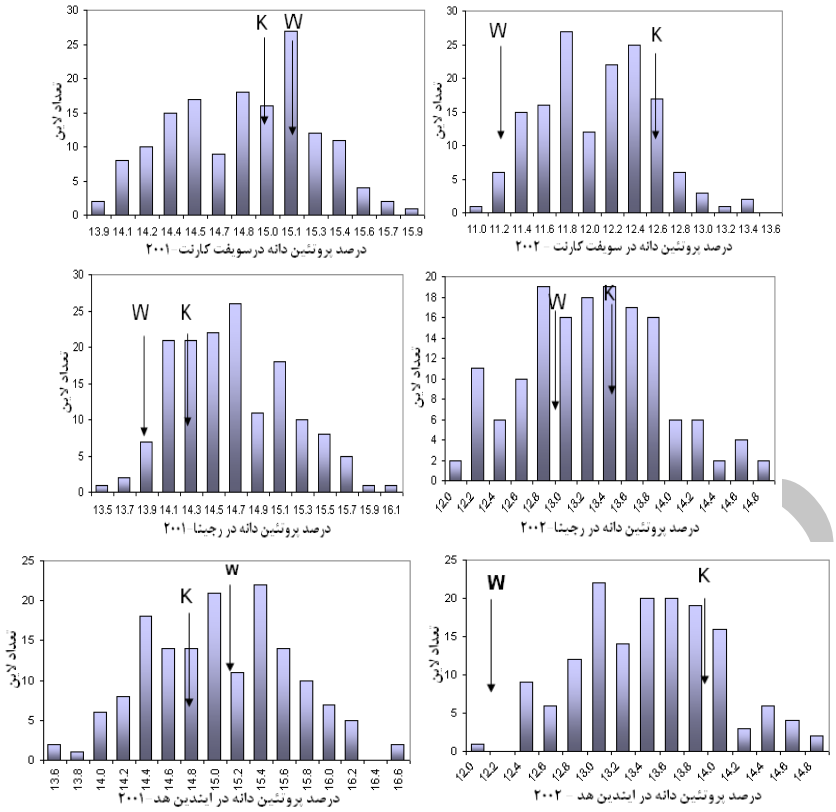
داده‌ها، اثر متقابل لاین و محیط معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) بود که وجود روند متفاوت لاین(هایی) از جمعیت مورد مطالعه برای این صفت در محیط‌های مختلف را نشان می‌دهد. بر مبنای اجزای واریانس در تجریه مرکب قابلیت توارث میزان پروتئین ۰/۵٦ برآورد گردید. که با توجه به اینکه جمعیت مورد مطالعه هاپلوئید مضاعف می‌باشد می‌توان آن را معادل قابلیت توارث خصوصی لحاظ نمود. میانگین میزان پروتئین دانه برای والدین و جمعیت هاپلوئید مضاعف نشان می‌دهد (جدول۱) میزان پروتئین دانه رقم کوفا به عنوان یکی از والدین با توجه به محیط دارای دامنه تغییرات ۱۲/٦ تا ۱۵ درصد و با میانگین ۱۳/۵۹ درصد در شش محیط در مقایسه با والد دیگر (لاین خالص W9262-260D3) که دارای دامنه تغییرات۱۱/۲۲ تا ۱۵/۱ و میانگین ۱۲/۹۲ درصد بود دارای میزان پروتئین دانه بالاتری می‌باشد. میزان پروتئین دانه در لاین‌های هاپلوئید مضاعف در دو جهت افزایش و کاهش نسبت به والدین تفکیک متجاوز نشان داد و در میانگین شش محیط دارای دامنه تغییرات ۱۲/٤ تا ۱٤/۷ درصد بود. نمودار توزیع فراوانی لاین‌ها برای میزان پروتئین دانه در سه منطقه در دو سال (شش محیط) مورد مطالعه (شکل ۱)، بیانگر وجود توزیع پیوسته لاین‌ها در اطراف میانگین جمعیت در هر یک از این محیط‌ها از لحاظ این صفت می‌باشد که کمی بودن توارث و به عبارتی حضور بیش از یک ژن در کنترل این خصوصیت را نشان می‌دهد که با گزارشات قبلی در این زمینه (Blanco et al. 2002; Huang et al. 2006; Marza et al. 2006) مطابقت دارد. علاوه بر این با توجه به موقعیت والدین در این شکل می‌توان نسبت لاین‌های هاپلوئید مضاعف را که در هر یک ار محیط‌ها در دو جهت افزایش و کاهش نسبت به والدین تفکیک متجاوز نشان داد را می‌توان مشاهده نمود.

جدول ۱- میانگین والدین، لاین‌های هاپلوئید مضاعف، دامنه تغییرات و حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) میزان پروتئین دانه در سه منطقه کانادا طی دو سال زراعی

ژنوتیپ		۲۰۰۱			۲۰۰۲			میانگین شش محیط
		منطقه			منطقه			
		سویفت‌کارنت	رجینا	ایندین‌هد	سویفت‌کارنت	رجینا	ایندین‌هد	
کوفا		۱۵/۰	۱۴/۲	۱۴/۸	۱۲/۶	۱۳/۵۴	۱۳/۹۱	۱۳/۵۹
W9262-260D3		۱۵/۱	۱۳/۹	۱۵/۱	۱۱/۲۲	۱۳/۰۷	۱۲/۱۹	۱۲/۹۲
لاین‌های هاپلوئید مضاعف	Min	۱۳/۸	۱۳/۱	۱۳/۱	۱۰/۸	۱۱/۶	۱۱/۴۴	۱۲/۴
	mean	۱۴/۷۸	۱۴/۶۱	۱۴/۷۸	۱۱/۹۸	۱۳/۱۴	۱۳/۳۱	۱۳/۴۸
	Max	۱۶/۲	۱۶/۱	۱۶/۱	۱۳/۶	۱۴/۷	۱۴/۶۸	۱۴/۷۵
$LSD_{(0.05)}$		۰/۸	۰/۷	۰/۸	۰/۸۳	۰/۷۲	۰/۹۹	۰/۷۶

از تعداد ۵۱۷ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی در والدین، تعداد ٥٤ نشانگر بین والدین چند شکلی نشان دادند که برای غربال لاین‌ها استفاده گردیدند. آزمون مربع کای نشان داد که به جز یک نشانگر سایر نشانگرها از نسبت ۱:۱ مورد انتظار در جمعیت هاپلوئید مضاعف تبعیت کردند به نحوی که مقدار کای دو برای آن‌ها معنی‌دار نگردید. تهیه نقشه پیوستگی با استفاده از نرم‌افزار MAPMAKER، نشانگرها را به ١٤ گروه پیوسته و ۱۱ نشانگر انفرادی (ناپیوسته) گروه‌بندی کرد و جمعاً ۹۷۱ سانتی مورگان از ژنوم گندم دوروم را پوشش دادند که بطور متوسط ۱۷/۳ سانتی مورگان به ازاء هر نشانگر بود. با توجه به آنکه نتایج حاصل از دو روش تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای تجزیه QTL از لحاظ گروه‌های لینکاژی نشانگرها پیوسته با میزان پروتئین دانه در محیط‌های مختلف یکسان بود و تفاوت نتایج این دو روش تنها در حد میزان آماره آزمون بود، لذا در اینجا فقط به نتایج تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب پرداخته می شود. نتایج حاصل از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای میزان پروتئین دانه و مقدار واریانس فنوتیپی آن که توسط هر گروه لینکاژی توجیه می‌شود در سه منطقه و دو سال در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. این نتایج بیانگر پیوستگی بین یک مکان ژنی کنترل‌کننده میزان پروتئین دانه با یک گروه پیوستگی از نشانگرها شامل *Xgwm251*، *Xgwm495* و *Xgwm165* می‌باشد. این گروه پیوستگی نشانگرها روی بازوی بلند کروموزم 4B و نزدیک به سانترومر قرار دارد (Röder et al. 1998).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱- توزیع فراوانی ۱۵۵ لاین‌های هاپلوئید مضاعف گندم دوروم حاصل از والدین کوفا (K) و (W9262-260D3 (W بر مبنای میزان پروتئین دانه در سه منطقه و دو سال زراعی.

جدول ۲- نتایج تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای میزان پروتئین دانه در سه منطقه کانادا در سال ۲۰۰۱

کروموزم	فاصله نشانگری	سویفت کارنت			رجینا			ایندین‌هد		
		TS[A]	Ad E[B]	R^2 (%)	TS	Ad E	R^2 (%)	TS	Ad E	R^2 (%)
4BL	*Xgwm251-Xgwm495*	۱۳/۸**	۰/۲۸	۹	NS			۱۷/۴***	۰/۴۲	۱۲
2BS	*Xwmc175- Xwmc 332*	NS			۱۰/۱۰*	۰/۳۰	۷	۱۱/۳*	۰/۴۱	۸
4BL	*Xgwm425- Xbarc 10*	۱۱/۸**	۰/۳۵	۸	NS			NS		
7BS	*Xgwm297-Xgwm537*	۱۳/۹**	-۰/۲۸	۹	NS			NS		

[A]: آماره آزمون حاصل از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، [B]: اثر افزایشی ناشی از هر QTL .

ns، *، ** و ***: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵، یک و ۰/۱ درصد.

جدول ۳- نتایج تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب برای میزان پروتئین دانه در سه منطقه کانادا در سال ۲۰۰۲

کروموزم	فاصله نشانگری	سویفت کارنت			رجینا			ایندین‌هد		
		TS	Ad E	R^2%	TS	Ad E	R^2%	TS	Ad E	R^2%
4BL	*Xgwm251-Xgwm495*	۱۳/۸**	۰/۳۳	۹	۲۲/۵***	۰/۴۹	۱۵	NS		
2BS	*Xwmc175- Xwmc 332*	۱۱/۸**	۰/۳۵	۸	NS			۱۱/۱*	۰/۳۰	۸
4BL	*Xgwm425 Xbarc 10*	۱۰/۹*	۰/۲۷	۷	NS			NS		
7BS	*Xgwm297-Xgwm537*	۱۲/۱**	-۰/۲۵	۸	۱۰/۳*	-۰/۳۳	۷	NS		

[A]: آماره آزمون حاصل از تجزیه مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، [B]: اثر افزایشی ناشی از هر QTL .

ns، * ، ** و *** : به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵، یک و ۰/۱ درصد.

Archive of SID
www.SID.ir

ارتباط QTL مذکور در چهار محیط از شش محیط مورد مطالعه معنی‌داری بود و میزان اثر افزایشی با توجه به محیط بین ۰/۲۸ تا ۰/۴۹ متغیر بود. این QTL بین ۹ تا ۱۵ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این محیط‌ها را توجیه نمود. علاوه بر این گروه پیوستگی دیگری *(Xgwm425- Xbarc10)* که آن نیز روی بازوی بلند کروموزم 4B قرار دارد و در یک منطقه (سویفت کارنت) طی دو سال مورد بررسی با میزان پروتئین دانه ارتباط معنی‌دار نشان داد. اثر افزایشی این QTL بین ۰/۲۷ تا ۰/۳۸ متغیر بود و ۸-۷ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این منطقه را توجیه نمود. دو گروه نشانگر پیوسته دیگر نیز با دو QTL دیگر کنترل‌کننده میزان پروتئین دانه پیوستگی نشان دادند (جداول ۲ و ۳). نشانگرهای جانبی این دو QTL، *Xwmc175- Xwmc332* و *Xgwm297 - Xgwm537* بودند که به ترتیب روی بازوی کوتاه کروموزم‌های 2B و 7B قرار دارند (Röder et al. 1998; Somers et al. 2004). QTL موجود روی کروموزم 2BS به‌جز در منطقه سویفت‌کارنت در سال ۲۰۰۱ و رجینا در سال ۲۰۰۲ در سایر محیط‌ها ارتباط معنی‌داری را با میزان پروتئین دانه نشان داد. اثر افزایشی این QTL با توجه به محیط به‌ترتیب بین ۰/۳۰ تا ۰/۴۱ متغیر بود و بین ۷ تا ۹ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این محیط‌ها را توجیه نمودند. اما QTL موجود روی کروموزم 7BS در سه محیط با میزان پروتئین دانه ارتباط معنی‌دار نشان داد. اثر آلل‌های این QTL در جهت کاهش میزان پروتئین بوده و اثر افزایشی آن با توجه به محیط به‌ترتیب بین ۰/۳۳- تا ۰/۲۵- متغیر بود، ضمن اینکه ۸ تا ۹ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این محیط‌ها را توجیه نمودند. بطورکلی QTLهای شناسایی شده جمعاً بین ۸ درصد (ایندین هد -۲۰۰۲) تا ۳۲ درصد از تنوع میزان پروتئین دانه این جمعیت را درمحیط های مختلف توجیه کردند. میزان پروتئین دانه گندم تتراپلوئید در مطالعات دیگر به عنوان یک صفت کمی مطرح شده است که مکان‌های ژنی کنترل‌کننده آن در ژنوم توزیع گردیده است مطرح شده است (Joppa et al. 1997; Blanco et al. 2002) در مجموع در مطالعه حاضر چهار QTL مرتبط با میزان پروتئین دانه گندم دوروم شناسایی گردیدند که روی کروموزم‌های 4BL، 2BS و 7BS مشخص گردید. بلانکو و همکاران (Blanco et al. 2002) نیز وجود QTL روی کروموزم‌های 7B و 4B را گزارش نمودند که در یک جمعیت گندم تتراپلوئید در کنترل میزان پروتئین دانه نقش داشته‌اند. این محققین علاوه بر این QTLهایی روی 5A، 6A و 7A را مطرح نموده‌اند که بین ٦/٥ تا ۳۱/۷ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه این جمعیت را توجیه نمودند. هوانگ و همکاران (Huang et al. 2006) با استفاده از یک جمعیت هاپلوئید مضاعف گندم نان و نشانگرهای ریزماهواره به دو QTL روی کروموزم‌های 4D و 7B تعیین کردند که به‌ترتیب ۳۲/۷ و ۱۲/٦ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در این جمعیت را توجیه می‌نمودند. در مطالعه حاضر از چهار QTL تعیین شده یکی در دو محیط دیگری در سه محیط و دو QTL در چهار محیط معنی‌دار بود (جداول ۲ و ۳). این موضوع بیانگر تأثیر محیط بر میزان پروتئین دانه می‌باشد که با مطالعات قبلی (Huang et al. 2006; Sourdille et al. 2003) مطابقت دارد. این نتایج موید این نظر است که تعیین تعداد QTL بر مبنای اطلاعات یک محیط باعث برآورد تعداد کمتر QTL از حد واقعی می‌گردد و در این زمینه می‌بایست ارزیابی فنوتیپی در چندین محیط صورت پذیرد. در تجزیه همزمان داده‌های شش محیط با روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب نشان داد از بین گروه‌های پیوستگی ذکر شده گروه‌های پیوستگی نشانگرهای *Xgwm495- Xgwm251* (واقع بر 4BL) و گروه نشانگرهای *Xgwm297 - Xgwm537* (واقع بر 7BS) بطور معنی‌داری (به‌ترتیب با احتمال ۰/۰۰۰۱ >*P* و ۰/۰۱ >*P*) با مکان‌های ژنی کنترل کننده میزان پروتئین دانه ارتباط نشان دادند. دو QTL مذکور به‌ترتیب ۹ تا ٦ درصد از تنوع فنوتیپی میزان پروتئین دانه در تجزیه همزمان محیط‌ها را پوشش دادند. اثر متقابل ژنوتیپ و محیط که روند متفاوت بروز فنوتیپی لاین ها برای یک صفت کمی در محیط‌های مختلف را نشان می‌دهد، نقش عمده ای در ایجاد تنوع و همچنین تعیین روش اصلاح گیاهان دارد. در تجزیه QTL تلاش می‌شود موقعیت‌هایی از کروموزم که در بروز این ویژگی نقش دارد تعیین گردد. از روش-های تشخیص این موضوع تجزیه واریانس و یا مقایسه فراوانی تشخیص QTL-نشانگر معنی‌دار در محیط‌های مختلف است (Blanco et al. 2002; Zhao et al. 2010). در تجزیه همزمان شش محیط، اثر گروه پیوستگی *Xgwm495- Xgwm251* (واقع بر

www.SID.ir
Archive of SID

4BL) در اثر متقابل QTL و محیط برای پروتئین دانه معنی دار ($P< ۰/۰۱$) گردید و ۷/٦ درصد از این تنوع را پوشش داد (داده‌ها آورده نشده است). زو و همکاران (Zhao et al. 2010) مکان ژنی را روی کروموزم‌های 5D را در کنترل اثر متقابل QTL و محیط پروتئین دانه گندم نان موثر تشخیص داده‌اند. در یک نتیجه‌گیری کلی در این پژوهش برخی از مکان‌های ژنی کنترل کننده پروتئین دانه در گندم دوروم مورد شناسایی قرار گرفت. هرچند هیچ‌یک از آن‌ها نتوانست اثر خود را در تمامی محیط‌ها و با توجیه درصد بالایی از تنوع این صفت بروز دهد تا به عنوان کاندیدی جهت انتخاب به کمک نشانگر مطرح گردد. با استفاده از نقشه اشباع ژنتیکی می‌توان مکان‌های ژنی بیشتری و احتمالاً با ثبات بیشتری را شناسایی نمود که در کنترل‌کننده پروتئین دانه در گندم دوروم نقش دارند. همچنین مکان‌های ژنی شناسایی شده برای محتوای پروتئین دانه می‌توانند در میزان پروتئین موجود در آندوسپرم، جنین، لایه آلورن، پوسته بذر نقش داشته باشند که جهت تعیین و تفکیک دقیق این ژن‌ها برای هر جزء نیاز به بررسی‌های تکمیلی است.

منابع

Houshmand S, Knox RE (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 Farsi).

American Association of Cereal Chemists (AACC) (1995) Approved Methods of the AACC, 10th ed. Method 38-12.

Blanco A and Pasqualone A, Di Troccoli AF, Simeone R (2002) Detection of grain protein content QTLs across environments in tetraploid wheats. Plant Molecular Biology, 48: 615–623.

Blanco A and Simeone R, Gadaleta A (2006) Detection of QTL for grain protein content in durum wheat. Theor Appl Genet, 112:1195–1204.

Basten CJ and Weir BS, Zeng ZB (2001) QTL cartographer: a reference manual and tutorial for QTL mapping. Department of Statistics North Carolina State University Raleigh, pp 55–72.

Gupta PK and Balyan HS, Edwards KJ, Isaac P, Korzun V, Röder M S, Gautier M F, Joudrier P, Schlatter A R, Dubcovsky J, De la Pena RC, Khairallah M, Penner G, Hayden M J, Sharp P, Keller B, Wang R C , Hardouin J P, Jack P, Leroy P (2002) Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. Theor Appl Genet, 105:413–422.

Houshmand S and Knox RE, Clarke FR, Clarke JM (2007) Microsatellite markers flanking a stem solidness gene on chromosome 3BL in durum wheat. Molecular Breeding, 20: 261-270.

Huang XQ and Cloutier S, Lycar L, Radovanovic N, Humphreys DG, Noll JS, Somers DJ, Brown PD (2006) Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheats (*Triticum aestivum* L). Theor Appl Genet 113:753–766.

Joppa LR and Du C, Hart GE, Hareland GA (1997) Mapping a QTL for grain protein in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L,) using a population of recombinant inbred lines. Crop Sciences 37:1586–1589.

Knapp SJ (2001) Mapping quantitative trait loci, In: Phillips RI, and IK, Vasil eds, "DNA-Based Markers in Plants", Kluwer Academic Publishers Netherlands pp, 59-99.

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

Kuchel H and Williams K, Langridge P, Eagles H A, JeVeries SP (2007) Genetic dissection of grain yield in bread wheat, II, QTL-by environment interaction. Theor Appl Genet, 115: 1015–1027.

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

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

Marza FG and Bai H, Carver BF, Zhou WC (2006) Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population. Theor Appl Genet, 112: 688–698

Röder MS and Korzun V, Wendehake Plaschke KJ, Tixier M-H, Leroy P, Ganal M (1998) A microsatellite map of wheat. Genetics, 149: 2007-2023.

Saghai Maroof MA and Solima KM, Jorgenson RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. Proc Nad Acad Sci USA, 81: 8014-8018.

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

Sourdille P and Cabalen T, Guyomarc'h H, Snape JW, Perretant MR, Charmet G, Boeuf C, Bernard S, Bernard, M (2003) An update of the Courtot × Chinese Spring intervarietal molecular marker linkage map for the QTL detection of agronomic traits in wheat. Theor Appl Genet, 106: 530–538.

Tinker NA, Mather DE (1995) MQTL: software for simplified composite interval mapping of QTL in multiple environments,JQTL,http://probe,nalusda,gov:8000/otherdocs/jQTL/ 2.

Archive of SID
www.SID.ir

Zanetti S, Winzeler M, Feuillet C, Keller B, Messmer M (2001) Genetic analysis of bread-making quality in wheat and spelt. Plant Breed, 120:13–19.
Zhao L, Zhang KP, Liu B, Deng Z, Qu HL, Tian JC (2010) A comparison of grain protein content QTLs and flour protein content QTLs across environments in cultivated wheat. Euphytica, under press.

Archive of SID

www.SID.ir