

تحقیقات غلات

دوره ششم / شماره سوم / پاییز ۱۳۹۵ (۲۷۱-۲۸۲)

شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل کننده عملکرد دانه، طول و عرض برگ پرچم و برگ دوم در گندم نان در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی

یوسف محمدی^۱، سید ابوالقاسم محمدی^{۲*}، محمد مقدم^۲ و مظفر رostani^۴

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۸

چکیده

کم‌آبی مهم‌ترین تنفس غیرزیستی است که رشد و عملکرد گندم را در بیشتر نقاط جهان محدود می‌کند. برای شناسایی ژن‌های کنترل کننده عملکرد دانه و طول و عرض برگ پرچم و برگ دوم در گندم نان، ۱۲۱ لاین اینبرد نوترکیب نسل F8 حاصل از تلاقی رقم متتحمل به خشکی آذر ۲ و رقم پرمحصلو 87Zhong 291 در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس توزیع فنتوپیپی، تفکیک متجاوز برای کلیه صفات مورد مطالعه مشاهده شد. نقشه ژنتیکی مشتمل بر ۳۷ نشانگر SSR ۱۶ نشانگر ISSR و ۳۲ نشانگر AFLP در مجموع ۱۱۵۷ سانتی‌مورگان از ژنوم گندم را با متوسط فاصله ۱۷/۲۶ سانتی‌مورگان بین دو نشانگر مجاور پوشش داد. بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، تعداد ۵۹ QTL تحت شرایط دیم و آبیاری تکمیلی برای صفات مورد مطالعه مکان‌یابی شدند. برای طول برگ پرچم، چهار و یک QTL بهترین ترتیب تحت شرایط دیم و آبیاری تکمیلی شناسایی گردید. علاوه بر این، هفت، هشت و نه QTL بهترین ترتیب برای عرض برگ پرچم و طول و عرض برگ دوم تحت شرایط دیم مورد شناسایی قرار گرفتند. برای عملکرد دانه نیز ۲۰ و ۱۰ QTL بهترین ترتیب تحت شرایط آبیاری تکمیلی و دیم مکان‌یابی شدند. QTL شناسایی شده بین دو نشانگر ISSR25_2-CFA2257 برای عملکرد دانه تحت شرایط آبیاری تکمیلی با تبیین ۴۰/۴۶ درصد از واریانس فنتوپیپی عملکرد دانه، به عنوان QTL بزرگ اثر معرفی گردید. بیشتر QTL‌های شناسایی شده دارای اثر افزایشی مثبت بودند که نشان‌دهنده توارث الـ موثر در این جایگاه‌ها از آذر ۲ به نتاج می‌باشد. هشت جایگاه برای ۲۹ QTL مربوط به صفات مختلف نیز مشترک بودند که نشان‌دهنده پیوستگی ژنی یا اثر پلیوتروپیک می‌باشد. با توجه به اهمیت ناحیه مربوط به حدفاصل نشانگرهای ISSR25_2-CFA2257 در کنترل عملکرد دانه، با اشباع این ناحیه ژنومی با نشانگرهای بیشتر می‌توان از آن‌ها در برنامه گزینش به کمک نشانگر استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه QTL، تنفس کمبود آب، مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب

۱- دانشجوی دکتری، گروه بهنژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- استاد، گروه بهنژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۳- قطب علمی اصلاح مولکولی غلات، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- دانشیار پژوهش، بخش غلات، موسسه تحقیقات دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

* نویسنده مسئول: mohammadi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

McCartney *et al.*, 2009 مکارتنی و همکاران (*et al.*, 2005) با استفاده از ۱۸۲ لاین دابل‌هاپلوبئید، پنج QTL برای عملکرد دانه روی کروموزوم‌های 2B، 2A، 3D، 3A و 4D مکان‌یابی کردند که از بین آنها واقع در 2B حدود ۱۳/۳ درصد از واریانس فتوتیپی را تبیین کرد. دشتی و همکاران (Dashti *et al.*, 2007) در مطالعه ۹۶ لاین دابل‌هاپلوبئید در شرایط آبیاری نرمال یک QTL روی کروموزوم 1B برای عملکرد پیدا کردند که ۲۲ درصد از واریانس فتوتیپی را به خود اختصاص داد، در حالی‌که در شرایط تنفس خشکی QTL شناسایی نشد. Gupta و همکاران (Gupta *et al.*, 2007) هشت QTL برای عملکرد دانه در جمعیت حاصل از تلاقی ارقام گندم WL711 و PH132 روی کروموزوم‌های 1D، 2D، 1D، 3D، 4A و 7A شناسایی کردند. در جمعیت حاصل از تلاقی ارقام ۷A و 4D Opata85 و W7984، شش QTL برای عملکرد دانه روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 2D، 4B و 6D مکان‌یابی شدند. Li و همکاران (Li *et al.*, 2007) با استفاده از ۱۳۱ لاین اینبرد نوترکیب F₁₄ حاصل از تلاقی ارقام گندم Chuan35050 و Shannong483، پنج QTL برای عملکرد دانه روی کروموزوم‌های 1D، 2D، 3B (دو Diab *et al.*, 2007) و 6A شناسایی کردند. دیاب و همکاران (QTLO) با ارزیابی لاین‌های اینبرد نوترکیب F₉ حاصل از تلاقی ارقام Cham1 و Tamgurt که با روش بالک تک بذر به دست آمده بود توانستند برای عملکرد دانه، ۱۹ QTL روی کروموزوم‌های 1B، 5B، 2A، 6B، 6A، 7A و 7B مکان‌یابی کنند. Kordenaejj و همکاران (Kordenaejj *et al.*, 2008) از ۲۵۲ نشانگر ریزماهواره برای تهیه نقشه ژنتیکی ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب F₇ حاصل از تلاقی رقم متتحمل به خشکی Tabassi و رقم حساس Taifun استفاده و چهار QTL روی کروموزوم‌های 3B، 4D، 6D و 7B با $3 > LOD$ برای عملکرد دانه شناسایی کردند. Watson (Watson, 1952) گزارش کرد که اندازه برگ تعیین کننده مهم تفاوت در میزان وزن خشک است و افزایش اندازه سطح برگ پرچم می‌تواند یکی از اهداف مهم برنامه‌های اصلاح نباتات باشد. Hsu و Walton (Walton, 1970 and Walton, 1970) گزارش کردند که اثرهای افزایشی ژئی در کنترل طول و عرض برگ پرچم نقش دارند. بنابراین، آن‌ها عنوان کردند که بازده گزینش بر اساس این صفات بالا خواهد بود. Lons و همکاران (Lons *et al.*, 1993) با مطالعه یک جمعیت F₂ گندم، نوع عمل ژن را

گندم یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین گیاهان زراعی با سازگاری وسیع به شرایط محیطی مختلف است. غذای یک‌سوم جمعیت جهان با بیش از ۵۰ درصد کالری و نزدیک به ۵۰ درصد پروتئین مصرفی توسط گندم تامین می‌شود (Dhanda *et al.*, 2004; Vasil, 2007). این گیاه از نظر سطح زیر کشت، رتبه اول را در دنیا دارد و در سال ۲۰۱۲ با کشت در سطحی معادل ۲۱۵ میلیون هکتار، ۶۷۰ میلیون تن تولید داشت. در ایران نیز در سال ۱۳۹۲ سطح زیر کشت گندم معادل ۷ میلیون هکتار و تولید آن ۱۴ میلیون تن بود (FAO, 2013).

تنش کمبود آب از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان است که رشد و تولید کلیه گیاهان را محدود می‌کند (Cattivelli *et al.*, 2008) و بسیاری از ماکرومولکول‌ها و مولکول‌های کوچک زیستی مانند RNA، DNA، پروتئین‌ها، قندها، لیپیدها، هورمون‌ها، یون‌ها، رادیکال‌های آزاد و عناصر معدنی در پاسخ به آن دخیل هستند (Bayoumi *et al.*, 2008). CollaKu and Harrison, 2002) بیان کردند که در حدود ۴۵ درصد کاهش عملکرد گندم در اثر تنش خشکی است. کلهون و همکاران (Calhoun *et al.*, 1994) گزارش کردند که ارزیابی همزمان ارقام گندم تحت شرایط تنفس خشکی و فاقد تنفس، موجب گزینش ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در هر دو محیط می‌شود.

عملکرد صفت پیچیده‌ای است که برآیند اثرهای ساده و متقابل اجزای آن یعنی تعداد سنبله در واحد سطح، تعداد دانه در سنبله و وزن دانه، شرایط محیطی رشد گیاه، چگونگی سازگاری گیاه با محیط و کارایی استفاده از عوامل محیطی موثر بر تولید و رقابت‌های درون و برون گیاهی است. به همین علت عملکرد وراثت پذیری کمی دارد و هر یک از صفات دخیل در عملکرد دانه وراثت Quarrie *et al.*, 2005) به علت طبیعت کمی عملکرد دانه و پذیری بالایی نسبت به خود عملکرد دانه دارند (Quarrie *et al.*, 2005). به علت طبیعت کمی عملکرد دانه و ارتباطی که با سایر صفات دارد، تشخیص ژن‌های مسئول عملکرد به وسیله روش‌های کلاسیک ژنتیک اندکی مشکل است ولی با استفاده از تجزیه QTL می‌توان عملکرد را به اجزای کنترل کننده آن تقسیم و نقش هر یک را مطالعه کرد (Quarrie *et al.*, 2005; Hai *et al.*, 2008).

بیشترین تعداد QTL برای عملکرد دانه به ترتیب روی Zhang 2B و 3B مکان‌یابی شده‌اند (Zhang 2B و 3B مکان‌یابی شده‌اند (Zhang

طول و عرض برگ دوم و عملکرد دانه بودند که به عنوان شاخص‌های ارزیابی تحمل خشکی در گندم در تجزیه QTL استفاده شدند.

برای استخراج DNA، بذرهای ارقام والدینی و افراد جمعیت در گلدانهای پلاستیکی کشت و در مرحله ۴-۵ برگی از هر گلدان تعدادی برگ جوان انتخاب و استخراج Saghai-Marsoof *et al.*, ۲۰۰۶ CTAB DNA روش (۱۹۸۴) انجام گرفت. کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفوتومتر تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر با استفاده از جفت آغازگرهای ریزماهواره و آغازگرهای ISSR انجام شد. چرخه‌های دمایی شامل یک چرخه واسرشناسازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشناسازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۴۶-۶۶ (بسته به آغازگر) درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه بود. محصولات تکثیر شده با الکتروفورز ژل پلی‌آکریلامید ۴ درصد در دستگاه ژل اسکن شرکت Corbett تلفیک شد. تجزیه پیوستگی برای انتساب ۴۰ نشانگر (شامل ۲۴ نشانگر SSR و ۱۶ نشانگر ISSR حاصل از ۵ آغازگر) به نقشه قبلی جمعیت نسل F₈ (با ۴۵ نشانگر SSR و AFLP) پس از آزمون انحراف از نسبتهای مندلی با در نظر گرفتن حداقل LOD برابر با ۳ و حداقل فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵۰ سانتی‌متر گان توسط نرم‌افزار MapManager (Manly and Olson, 1999) MapManager شد. برای تبدیل فراوانی‌های نوترکیبی به فاصله ژنتیکی Kosambi, ۱۹۴۳ حسب سانتی‌مترگان از تابع کوسامبی (Kosambi, 1943) استفاده شد. تجزیه QTL نیز بر اساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و با استفاده از نرم‌افزار (Wang *et al.*, 2005) QTLCartographer انجام شد.

نتایج و بحث

توزیع فنتوتیپی صفات

توزیع فنتوتیپی صفات مورد مطالعه در شکل ۱ ارایه شده است. در شرایط آبیاری تکمیلی، میانگین طول برگ پرچم لاین‌ها ۲۱ سانتی‌متر و ارقام آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۲۳ و ۱۸ سانتی‌متر به دست آمد. در شرایط دیم،

شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های عملکرد در گندم

برای طول برگ پرچم، افزایشی و برای عرض برگ پرچم غالیت ناقص گزارش کردند. سلیم و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2006) با مطالعه ۲۲ رقم و لاین گندم، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد دانه و سطح برگ پرچم مشاهده کردند. محمدی و همکاران (Verma *et al.*, 2004) نیز در تلاقي‌های دی‌آلل یک‌طرفه نه رقم گندم نان، مشاهده کردند که اثر افزایشی در کنترل طول برگ پرچم اهمیت بیشتری دارد، اما برای عرض برگ پرچم، هر دو اثر افزایشی و غیرافزایشی با سهم بیشتر اثر افزایشی مشاهده شد. بنابراین، شناسایی ژن‌های کنترل کننده طول و عرض و یا مساحت برگ پرچم و برگ دوم می‌تواند در تولید ارقام متحمل به خشکی مفید باشد.

یکی از اهداف اصلاح گندم در مناطق سردسیر دیم، دست‌یابی به ارقامی است که تحت شرایط تنفس رطوبتی، تحمل بیشتری به تنفس خشکی در مراحل مختلف رشد بهویژه خشکی آخر فصل داشته و کاهش عملکرد کمتری داشته باشند. بنابراین، اصلاح گندم بر اساس معیارهای زراعی و با کمک نشانگرهای مولکولی برای مشخص کردن خصوصیات زراعی موثر در تحمل به خشکی و مکان‌های ژئوگرافیکی کننده آنها مهم است. هدف از این تحقیق، مکان‌یابی QTL (های) صفات مرتبط با تحمل به خشکی در گندم نان بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۱۲۱ لاین اینبرد نوترکیب نسل F₈ حاصل از تلاقي ارقام گندم آذر ۲ و ۸۷Zhong291 (Roostaei, 2009). آذر ۲ رقمی زمستانه و متحمل به خشکی است که در سال ۱۳۷۸ برای کاشت در دیم‌زارهای مناطق سردسیر و معتدل سرد کشور معرفی شد (Roostaei *et al.*, 1999). بینابین و منشا کشور چین، یکی از ارقام پر محصول برای اقلیم معتدل دیم محسوب می‌شود.

ارزیابی فنتوتیپی در سال ۱۳۸۶-۸۷ در ایستگاه تحقیقاتی موسسه تحقیقات دیم کشور، مراغه، در قالب طرح آلفا-لاتیس با دو تکرار تحت شرایط دیم و آبیاری تکمیلی انجام شد. کل بارندگی فصل زراعی ۳۸۰ میلی‌متر بود. در آزمایش آبیاری تکمیلی، کل مقدار آب مصرف شده ۴۵۰ میلی‌متر (آبیاری ۷۰ mm + باران ۳۸۰ mm) بود. صفات مورد اندازه‌گیری شامل طول و عرض برگ پرچم،

دو نشانگر مجاور پوشش داد و ۱۸ نشانگر نیز به هیچ گروهی مناسب نشدند. گروههای پیوستگی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ و ۹ به ترتیب دارای ۳، ۸، ۲۳، ۵، ۳، ۲۳، ۸، ۱۷ و ۳ نشانگر بودند.

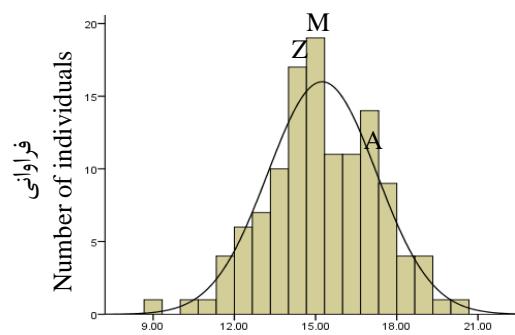
تجزیه QTL

برای طول برگ پرچم در شرایط دیم، چهار QTL مکانیابی شد که به ترتیب ۱، ۲ و ۱ QTL در گروههای QTL پیوستگی ۲، ۳ و ۹ قرار داشتند (جدول ۱). هر چهار QTL دارای اثر افزایشی مثبت بوده و در کل ۸/۳۹ درصد از تغییرات فنوتیپی طول برگ پرچم در شرایط تنفس خشکی را تبیین کردند. نتایج بالا اهمیت والد آذر ۲ را در انتقال آل‌های مطلوب به نتاج برای طول برگ پرچم در شرایط دیم نشان می‌دهد. برای طول برگ پرچم در شرایط آبیاری تکمیلی فقط یک QTL در گروه پیوستگی ۲ بین نشانگرهای PactMtgc و CFA2114 شناسایی شد (جدول ۱). این QTL دارای اثر افزایشی مثبت بود و ۱۰ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کرد. والد آذر ۲ در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی، طول برگ پرچم بیشتری نسبت به والد ۸۷Zhong291 و میانگین لاین‌ها داشت و نقش مهمی در انتقال آل‌های افزاینده طول برگ پرچم به نتاج نشان داد. برای عرض برگ پرچم در شرایط دیم، هفت QTL مکانیابی شد که به ترتیب ۲، ۳ و ۲ QTL در گروههای پیوستگی ۹، ۳، ۲ و ۶ قرار داشتند (جدول ۱). هفت QTL در مجموع ۱۳/۴۴ درصد از تغییرات فنوتیپی عرض برگ پرچم را در گندم در شرایط دیم تبیین کردند. والد آذر ۲ در شرایط دیم، عرض برگ پرچم بزرگ‌تری نسبت به والد ۸۷Zhong291 داشت و نقش مهمی در انتقال آل‌های افزاینده عرض برگ پرچم به نتاج ایفا کرد. برای عرض برگ پرچم در شرایط آبیاری تکمیلی هیچ نوع QTL شناسایی نشد. در شرایط دیم، هشت QTL برای طول برگ دوم مکانیابی شد که به ترتیب ۵، ۲ و ۱ QTL در گروههای پیوستگی ۲، ۳ و ۴ قرار داشتند (جدول ۱). این هشت QTL در مجموع ۲۲/۶۵ درصد از تغییرات فنوتیپی طول برگ دوم را در شرایط دیم تبیین کردند. والد آذر ۲ در شرایط دیم، طول برگ دوم بزرگ‌تری نسبت به والد ۸۷Zhong291 داشت و در اغلب جایگاه‌ها، آلل مطلوب از این والد به نتاج منتقل شد.

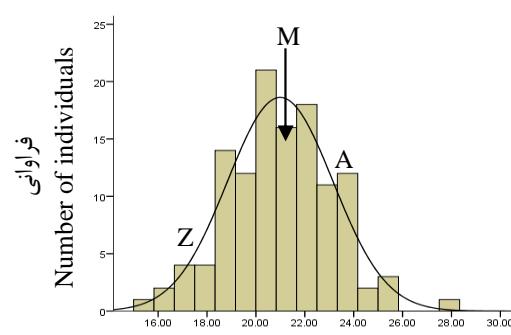
میانگین طول برگ پرچم لاین‌ها ۱۵/۵۰ سانتی‌متر و آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۱۶/۵۰ و ۱۴/۵۰ سانتی‌متر بود. در هر دو شرایط، تفکیک متجاوز برای طول برگ پرچم مشاهده شد. میانگین عرض برگ پرچم در شرایط آبیاری تکمیلی ۱/۱۰ سانتی‌متر و در ارقام آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۱/۱۵ و ۱/۰۵ سانتی‌متر بود، در حالی که میانگین جمعیت در شرایط دیم ۰/۹۵ سانتی‌متر و در آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۱/۰۰ و ۰/۹۰ سانتی‌متر بود. تفکیک متجاوز برای عرض برگ پرچم نیز در هر دو شرایط مشاهده شد. نتایج نشان داد که تنفس خشکی تاثیر چندانی روی عرض برگ پرچم نداشت. در شرایط آبیاری تکمیلی، میانگین طول برگ دوم لاین‌ها در جمعیت ۲۲/۵۰، برای آذر ۲، ۲۳/۵۰ و برای ۸۷Zhong291 ۱۹/۵۰ سانتی‌متر به دست آمد، اما در شرایط دیم، میانگین طول برگ دوم لاین‌ها برای کل جمعیت، آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۲۰ و ۲۰ و ۱۹ سانتی‌متر بود. در هر دو شرایط تفکیک متجاوز برای طول برگ دوم مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان گفت که تنفس تاثیر چندانی بر طول برگ دوم نداشت. برای عرض برگ دوم در شرایط آبیاری تکمیلی، میانگین جمعیت ۰/۹۵ سانتی‌متر و برای آذر ۲ به ترتیب ۸۷Zhong291 و ۰/۹۰ سانتی‌متر بود، در حالی که در شرایط دیم میانگین جمعیت ۰/۸۰ سانتی‌متر و ارقام آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب دارای عرض برگ دوم ۰/۸۰ و ۰/۸۵ سانتی‌متر بودند. میانگین عملکرد دانه کلیه لاین‌ها در شرایط آبیاری تکمیلی ۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار و در آذر ۲ و ۸۷Zhong291 به ترتیب ۲۲۲۲ و ۲۷۴۱ کیلوگرم در هکتار به دست آمد که در شرایط دیم، میانگین عملکرد دانه لاین‌ها به ۱۲۰۰، آذر ۲ به ۱۴۷۰ و ۸۷Zhong291 به ۱۴۶۳ کیلوگرم در هکتار کاهش یافت.

تجزیه پیوستگی

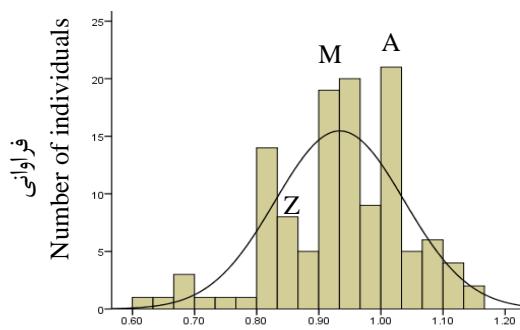
تجزیه پیوستگی بر اساس حداقل LOD برابر ۳ و حداکثر فاصله دو نشانگر مجاور برابر با ۵۰ سانتی‌متر گان، نشانگرهای را به نه گروه پیوستگی مناسب کرد (شکل ۲). این نقشه دارای ۲۸ نشانگر ۱۳ SSR و ۲۶ نشانگر AFLP است که در مجموع ۱۱۵۷ سانتی‌متر گان از ژنوم گندم را با متوسط فاصله ۱۷/۲۶ سانتی‌متر گان بین



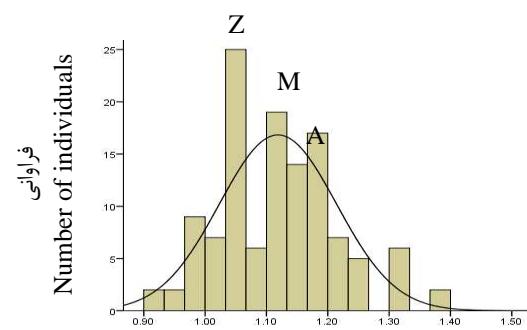
(B) طول برگ پرچم در شرایط ديم
B) Flag leaf length under rainfed condition



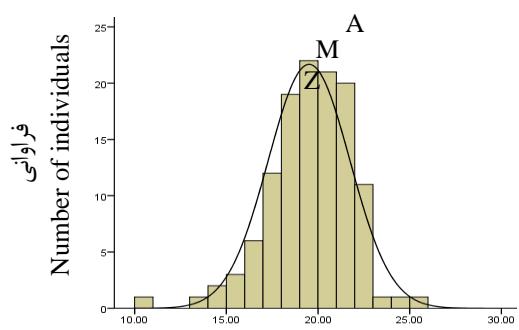
(A) طول برگ پرچم در شرایط آبیاری تكمیلی
A) Flag leaf length under supplementary irrigation



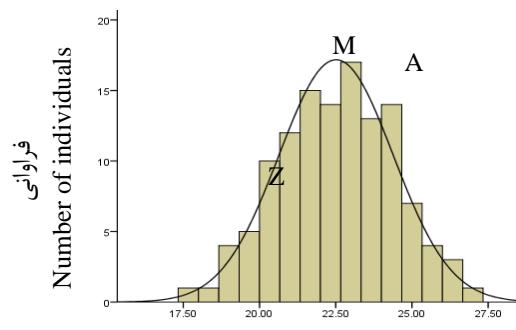
(D) عرض برگ پرچم در شرایط ديم
D) Flag leaf width under rainfed condition



(C) عرض برگ پرچم در شرایط آبیاری تكمیلی
C) Flag leaf width under supplementary irrigation



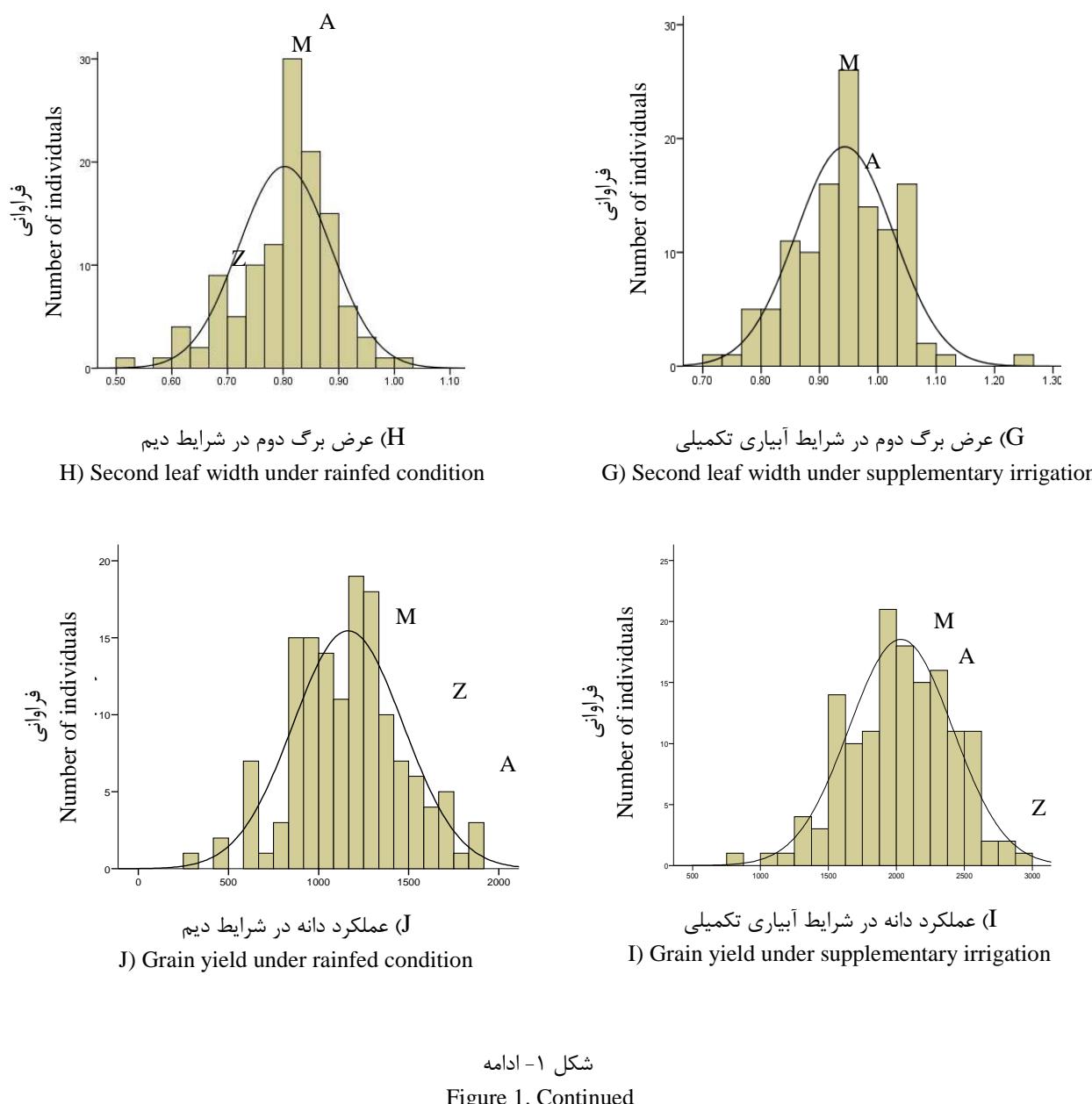
(F) طول برگ دوم در شرایط ديم
F) Second leaf length under rainfed condition



(E) طول برگ دوم در شرایط آبیاری تكمیلی
E) Second leaf length under supplementary irrigation

شکل ۱- توزیع فنتوپیکی صفات در لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم (A، آذر ۲؛ M، میانگین کل جمعیت).

Figure 1. Phenotypic distribution of traits in wheat recombinant inbred lines (A, Azar2; M, population mean; Z, 87Zhong291).



شکل ۱- ادامه
Figure 1. Continued

در شرایط آبیاری تكمیلی، QTL ۲۰ برای عملکرد دانه شناسایی شدند که ۶، ۴، ۵، ۲، ۱ و ۲۵ QTL به ترتیب در گروههای پیوستگی ۳، ۴، ۲، ۵ و ۸ قرار داشتند (جدول ۲). QTL بین نشانگرهای ISSR25_2- (جدول ۲) با CFA2257 ۴۰/۴۶ درصد یک QTL بزرگ‌اثر با اثر افزایشی منفی بود. این امر نشان می‌دهد که در این مکان آلل والد 87Zhong291 در افزایش عملکرد دانه در شرایط آبیاری تكمیلی نقش داشته است. QTL واقع در ناحیه ژنومی Xbarc134-PactMctt با ۰/۰۵۸ درصد، کمترین اثر را در تبیین واریانس فتوتیپی عملکرد دانه در شرایط آبیاری تكمیلی داشت. بیست QTL در مجموع ۶۰/۰۶ درصد از واریانس فتوتیپی را تبیین کردند. برای

برای طول برگ دوم در شرایط آبیاری تكمیلی هیج QTL مورد شناسایی واقع نشد. در شرایط دیم، نه QTL برای عرض برگ دوم با توزیع در گروههای پیوستگی ۴، ۳، ۲ و ۹ مکان‌یابی شد (جدول ۱). این QTL‌ها در مجموع ۳۶/۱۱ درصد از تغییرات فتوتیپی مربوط به عرض برگ دوم را در شرایط دیم تبیین کردند. والد آذر ۲ در شرایط دیم، عرض برگ دوم بزرگ‌تری نسبت به والد 87Zhong291 داشت، اما والد 87Zhong291 از نقش مهم‌تری در انتقال آلل‌های افراینده عرض برگ دوم به نتاج در شرایط دیم برخوردار بود. در شرایط آبیاری تكمیلی هیچ QTL برای عرض برگ دوم شناسایی نشد.

از ده QTL مکان‌یابی شده برای عملکرد دانه در شرایط دیم، شش QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که این موضوع اهمیت والد 87Zhong291 را در افزایش عملکرد دانه در شرایط دیم نشان می‌دهد. QTL بین ۰/۲۰ درصد، کمترین اثر را در تبیین واریانس فتوتیپی عملکرد در شرایط دیم داشت. ده QTL مکان‌یابی شده در مجموع ۲۷/۷۴ درصد از واریانس فتوتیپی عملکرد دانه در شرایط دیم را تبیین کردند.

عملکرد دانه در شرایط دیم، ۱۰ QTL با روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب شناسایی شد که به ترتیب ۱، ۲، ۵، ۲، ۳، ۴ و ۵ QTL در گروه‌های پیوستگی ۲، ۳، ۴ و ۵ قرار داشتند (جدول ۲). QTL بین ۵۵ PacMaca5-Xwms95 در گروه پیوستگی ۲، یک QTL بزرگ‌اثر بود و ۱۸/۲۶ درصد از QTL واریانس فتوتیپی صفت مربوطه را تبیین کرد. این دارای اثر افزایشی منفی بود که نشان دهنده توارث آلل مطلوب در این مکان از والد 87Zhong291 به نتاج بود.

جدول ۱- QTL های شناسایی شده برای طول و عرض برگ پرچم و برگ دوم تحت شرایط آبیاری تکمیلی و دیم

Table 1. Identified QTLs for length and width of flag and second leaves under supplementary irrigation and rainfed conditions

Traits	Linkage group	گروه پیوستگی	فاصله نشانگری	^a موقعیت QTL	LOD	Additive effect	درصد واریانس تبیین شده	% variance explained
Fll(D)	2	Xbarc113- PactMaca5	1.80	3.97	0.046		5.00	
	3	CFA2257- PacgMccg	5.90	5.41	0.005		0.02	
	3	PactMact1- Xwmc388	29.6	4.42	0.028		0.47	
	9	54- PactMcta	6.0	4.85	0.028		2.90	
Fll(N)	2	PactMtgc- CFA2114	0.10	3.24	0.10		10.00	
Flw(D)	3	CFA2257- PacgMccg	3.90	5.09	0.11		8.90	
	3	PactMact1- Xwmc388	29.60	4.01	0.012		0.10	
	4	PactMgaa2- PactMact2	0.01	3.53	0.0076		0.40	
	4	PactMacg2- 276	37.30	3.73	-0.0095		0.50	
	4	PactMacg1- Xwms144	29.40	3.89	-0.0113		0.70	
	9	54- PactMcta	6.01	3.74	0.02		2.80	
	9	PactMcta- CFA2185	33.30	3.82	-0.003		0.04	
Sll(D)	2	ISSR5_2- Xgwm389	40.01	4.45	0.007		0.31	
	2	PactMacc1- CFA18	33.20	4.08	0.006		0.17	
	2	CFA18- ISSR23_2	29.40	4.14	-0.00065		0.07	
	2	ISSR23_2- Xgwm192	14.50	5.01	0.117		10.70	
	2	Xbarc113- PactMaca5	1.80	5.90	0.047		6.90	
	3	CFA2257- Pacgmccg	3.90	5.37	0.010		0.10	
	3	PactMact1- Xwmc388	31.60	5.71	0.052		1.50	
	4	PactMacg1- Xwms144	31.40	5.42	-0.022		2.90	
Slw(D)	2	ISSR5_2- Xgwm389	34.01	4.21	0.0031		0.05	
	2	Xgwm389- PactMacc1	8.01	4.40	0.0003		0.0005	
	3	CFA2257- PacgMccg	6.01	3.37	-0.065		5.40	
	3	CFA2257- PacgMccg	36.31	3.73	-0.184		8.38	
	3	PactMact1- Xwmc388	28.01	4.60	-0.122		17.90	
	4	PactMgaa2- PactMact2	0.01	4.13	0.0082		0.54	
	4	PactMacg2- 276	38.01	4.21	-0.0086		0.47	
	4	Xgwm160- PactMaca1	8.01	3.43	0.0113		0.87	
	9	54- PactMcta	6.01	4.22	0.020		2.50	

Fll(D): طول برگ پرچم در شرایط دیم، Fll(N): طول برگ پرچم در شرایط آبیاری تکمیلی، Flw(D): عرض برگ پرچم در شرایط دیم، Slw(D): طول برگ دوم در شرایط دیم، Sll(D): عرض برگ دوم در شرایط دیم.

^a فاصله QTL از نشانگر سمت چپ بر حسب سانتی‌مترگان.

Fll(D): flag leaf length under rainfed condition; Fll(N): flag leaf length under supplementary irrigation; Flw(D): flag leaf width under rainfed condition; Sll(D): second leaf length under rainfed condition; Slw(D): flag leaf width under rainfed condition.

^a: Distance of each QTL from the left marker (cM).

در گروه پیوستگی ۴ برای بیشتر صفات مربوطه دارای QTL مشترک بودند. در مجموع در جایگاه‌های شناسایی شده، بیشتر آلل‌های مطلوب از والد آذر ۲ به نتاج منتقل شدند.

در این بررسی، در مجموع ۵۹ QTL مرتبط با صفات مورد مطالعه شناسایی شد که جایگاه کروموزومی برخی از این QTL‌ها مشترک بود (جدول ۳). ناحیه ژنومی در گروه پیوستگی ۳ و ناحیه PactMact1-Xwmc388

جدول ۲- QTL‌های شناسایی شده برای عملکرد دانه تحت شرایط آبیاری تکمیلی و دیم

Table 2. Identified QTLs for grain yield under supplementary irrigation and rainfed conditions

Grain yield	Linkage group	گروه پیوستگی	فاصله نشانگری	^a موقعیت QTL	اثر افزایشی	سهم واریانس	فتوتیپی هر QTL
			Marker intervals	QTL position ^a	LOD	Additive effect	R ² (%)
Gy(N)	2	ISSR5_2-Xgwm3	39.80	6.12	0.0119	0.010	
	2	Xgwm389-PactMacc1	3.20	5.74	0.0113	0.08	
	2	PactMacc1-CFA18	33.20	5.01	0.0316	0.60	
	2	Xbarc113-PactMaca5	3.80	4.48	0.0378	0.60	
	2	PactMaca5-Xwms95	3.90	3.16	0.0303	5.40	
	3	ISSR27_3-Xgwm666	11.80	3.04	0.1415	1.90	
	3	Xgwm666-ISSR25_2	1.80	5.70	0.060	0.29	
	3	ISSR25_2-CFA2257	1.70	4.62	-0.4971	40.46	
	3	CFA2257-PacgMccg	1.90	5.60	-0.18	2.70	
	3	CFA2257-PacgMccg	21.90	4.26	-0.127	4.50	
	3	PactMact1-Xwmc388	31.60	5.43	0.0389	0.10	
	4	0-PactMgaa2	0.0001	5.06	-0.067	0.19	
	4	PactMacg2-276	41.30	3.72	-0.026	0.48	
	4	PactMacc2-Xwmc44_1	17.90	4.27	0.075	0.34	
	4	Xwmc47_1-ISSR27_4	1.60	4.11	-0.046	0.27	
	4	Xgwm160-PactMaca1	9.20	3.08	0.010	0.10	
	4	PactMacg1-Xwms144	29.60	4.47	-0.0018	0.25	
	5	Xbarc134-PactMctt	1.70	3.74	-0.0081	0.058	
	5	Xwmc44_2-PactMaca3	1.30	6.54	0.016	0.22	
	8	CFA2185-PaccMage4	3.30	3.15	0.047	1.53	
Gy(D)	2	Issr5_2-Xgwm389	39.80	3.83	0.022	0.43	
	2	Xgwm389-pactMacc1	3.20	3.85	-0.73	0.46	
	2	PactMacc1-CFA18	33.20	3	-0.87	0.91	
	2	Xbarc113-PactMaca5	3.80	5.17	-0.76	0.37	
	2	PacMaca5-Xwms95	3.90	3.26	-0.83	18.26	
	3	Xgwm666-Issr25_2	1.80	4.73	0.091	0.70	
	3	Issr25_2-CFA2257	8.70	4.19	-0.15	2.90	
	4	0-PactMgaa2	0.001	3.23	0.028	0.86	
	4	PactMacg2-276	43.30	3.07	-0.16	0.20	
	5	Xwmc24-Xwmc44_2	4	4.67	0.013	0.65	

Gy(N) و Gy(D) به ترتیب عملکرد دانه در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم هستند.

^a فاصله QTL از نشانگر سمت چپ بر حسب سانتی‌مترگان.

Gy(N) and Gy(D) are grain yield under supplementary irrigation and rainfed condition, respectively.

^a Distance of each QTL from the left marker (cm).

مهم والد آذر ۲ به عنوان یک رقم متحمل به خشکی در انتقال آلل‌های افزایشی مثبت به نتاج است. بنابراین، از جمعیت حاضر نه تنها می‌توان به عنوان جمعیت در حال

نتیجه‌گیری کلی از QTL ۵۹ مکان‌یابی شده در این تحقیق، تعداد ۳۶ QTL از مجموعی مثبت داشتند که نشان دهنده نقش

است، در نتیجه در گزینش بر اساس صفات مورد بررسی باید جهت همبستگی صفات نیز مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

از قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز برای تامین اعتبار مالی این تحقیق و از موسسه تحقیقات دیم کشور برای ارزیابی‌های مزرعه‌ای سپاسگزاری می‌شود.

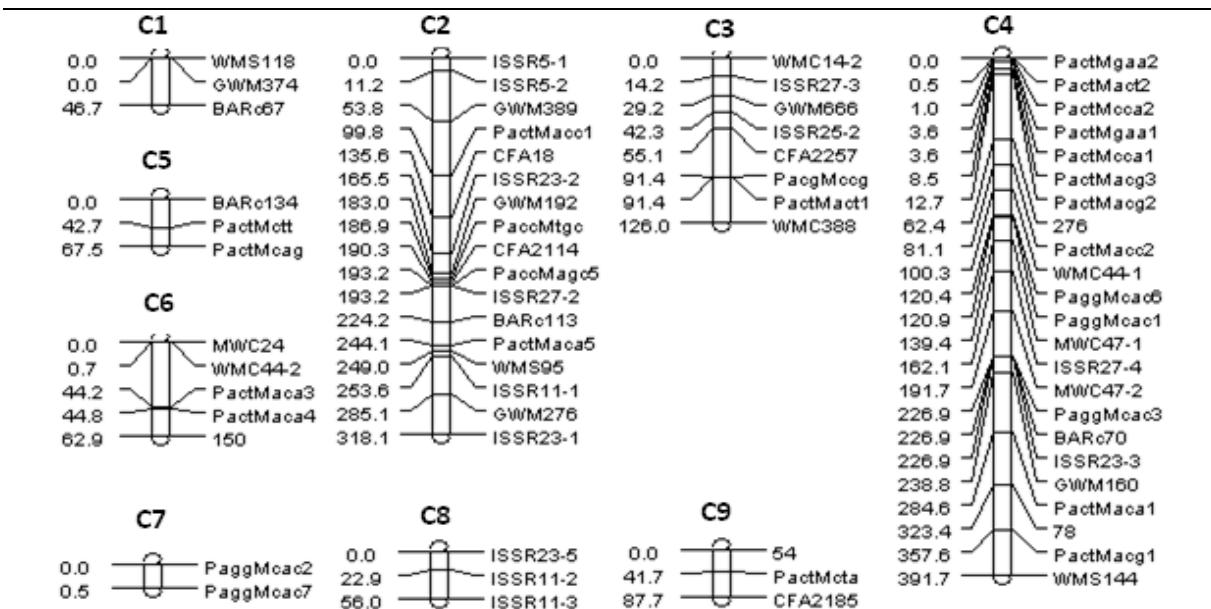
شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با زن‌های عملکرد در گندم

تفکیک برای مکان‌یابی زن (های) کنترل کننده صفات مختلف در شرایط تنش استفاده کرد، بلکه گزینش ژنتیک‌هایی با آلل‌های مطلوب والد آذر ۲ به کمک نشانگرهای شناسایی شده نیز منجر به تولید ارقام متholm پرمحصول خواهد شد. جایگاه مشترک برخی از QTL‌های مکان‌یابی شده بیانگر پیوستگی زنی یا اثر پلیوتروپیک

جدول ۳- جایگاه، گروه پیوستگی، صفات و سهم هر QTL در واریانس فنوتیپی صفات دارای QTL مشترک
Table 3. Marker intervals, linkage group and phenotypic variance of the traits explained by common QTLs

فاصله نشانگری Marker intervals	گروه پیوستگی Linkage group	صفات ^a Traits ^a	QTل واریانس فنوتیپی هر QTL R ² (%)
ISSR5_2- Xgwm389	2	Sll(D)	0.31
		Slw(D)	0.05
		Gy(N)	0.10
		Gy(D)	0.43
Xbarc113- PactMaca5	2	Fll(D)	5.00
		Sll(D)	6.90
		Gy(N)	0.60
		Gy(D)	0.37
PactMact1- Xwmc388	3	Fll(D)	0.47
		Flw(D)	0.10
		Sll(D)	1.50
		Slw(D)	17.90
		Gy(N)	0.10
CFA2257- PacgMccg	3	Fll(D)	0.02
		Flw(D)	8.90
		Sll(D)	0.10
		Slw(D)	8.38
PactMgaa2- PactMact2	4	Flw(D)	0.40
		Slw(D)	0.54
PactMacg2- 276	4	Flw(D)	0.50
		Slw(D)	0.47
		Gy(N)	0.48
		Gy(D)	0.20
PactMacg1- Xwms144	4	Flw(D)	0.70
		Sll(D)	2.90
		Gy(N)	0.25
54- PactMcta	9	Fll(D)	2.90
		Flw(D)	2.80
		Slw(D)	2.50

: طول برگ پرچم در شرایط دیم، Fll(D): عرض برگ پرچم در شرایط دیم، Sll(D): طول برگ دوم در شرایط دیم، Slw(D): عرض برگ دوم در شرایط دیم، Gy(D): عملکرد دانه در شرایط دیم، Gy(N): عملکرد دانه در شرایط آبیاری تکمیلی.
Fll(D): flag leaf length under rainfed condition; Flw(D): flag leaf width under rainfed condition; Sll(D): second leaf length under rainfed condition; Slw(D): flag leaf width under rainfed condition; Gy(D): grain yield under rainfed condition; Gy(N): grain yield under supplementary irrigation.



شکل ۲- گروههای پیوستگی نشانگرهای مورد مطالعه در ۱۲۱ لاین اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام گندم آذر ۲ و ۸۷Zhong291

Figure 2. Linkage map of the studied markers in 121 recombinant inbred lines derived from a cross between wheat cultivars, Azar2 and 87Zhong291

References

- Bayoumi, T. Y., Manal, H. E. and Metwali, E. M. 2008.** Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. **African Journal of Biotechnology** 14: 2341-2352.
- Boshar, M. K., Haque, E., Das, R .K. and Miah, N. M. 1991.** Relationship of flag leaf area to yield, filled grain per panicle length in upland rice varieties. **Journal of Rice Researches Newsletter** 16: 2-12.
- Calhoun, D. S., Miranda, A., Gebeyehu, G., Rajaram, S. and van Ginkel, M. 1994.** Choosing evaluation environments to increase wheat grain yield under drought conditions. **Crop Science** 34: 673-678.
- CIMMYT. 2005.** Laboratory protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. 3rd ed. CIMMYT, Mexico, D. F.
- CollaKu, A. and Harrison, S. A. 2002.** Losses in wheat due to water logging. **Crop Science** 42: 444-450.
- Dashti, H., Yazdi-Samadi, B., Ghannadha, M., Naghavi, M. R. and Quarri, S. 2007.** QTL analysis for drought resistance in wheat using doubled haploid lines. **International Journal of Agriculture and Biology** 9: 98-101.
- Dhanda, S. S., Sethi, G. S. and Behi, R. K. 2004.** Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. **Journal of Agronomy and Crop Science** 190: 6-12.
- Diab, A. A., Fahmy, A. H., Hassan, O. S., Nachit, M. M. and Momtaz, O. A. 2007.** Identification of chromosomal region and genetic contribution of gene controlling yield and other agronomic traits in durum wheat grown under different Egyptian environmental conditions. **World Journal of Agricultural Sciences** 3: 401-422.
- FAO. 2013.** FAOSTAT. <http://faostat.fao.org>.
- Gupta, P. K., Balyan, H. S., Kulwal, P. L., Kumar, N., Kumar, A., Mir, R. R., Mohan, A. and Kumar, J. 2007.** QTL analysis for some quantitative traits in bread wheat. **Journal of Zhejiang University of Science B (Biomedicine and Biotechnology)** 8: 807-814.
- Hai, L., Guo, H., Wagner, C., Xiao, S. and Friedt, W. 2008.** Genomic regions for yield and yield parameters in Chinese winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes tested under varying environments correspond to QTL in widely different wheat materials. **Plant Science** 175: 226-232.

- Hsu, P. and Walton, P. D. 1970.** The inheritance of morphological and agronomic characters in spring wheat. *Euphytica* 19: 54-60.
- Kordenaej, A., Nasrollah Nejad, A. A., Shojaeian, A. A. and Lelley, T. 2008.** Mapping QTLs for yield and yield components under drought stress in bread wheat. In: Appels, R., Eastwood, R., Lagudah, E., Langridge, P., Mackay, M. and McIntyre, L. (Eds.). The 11th International Wheat Genetics Symposium, Sydney University Press. pp: 342-415.
- Kosambi, D.D. 1943.** The estimation of map distances from recombination values. *Annals Eugenics* 12: 172-175.
- Li, S., Jia, J., Wei, X., Zhang, X., Li, L., Chen, H., Fan, Y., Sun, H., Zhao, X., Lei, T., Xu, Y., Jiang, F., Wang, H. and Li, Z. 2007.** A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Molecular Breeding* 20: 167-178.
- Lone, W., Kadlubiec, W. and Strugala, J. 1993.** Genetic determination of agronomy characters in F2 hybrids of winter wheat. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu Rolnictwo* 223: 229-247. (With English Abstract).
- Manly, K. F. and Olson, J. M. 1999.** Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QT. *Mammalian Genome* 10: 327-334.
- McCartney, C. A., Somers, D. J., Humphreys, D. G., Lukow, O., Ames, N., Noll, J., Cloutier, S. and McCallum, B. D. 2005.** Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL4452 × AC Domain. *Genome* 48: 870-883.
- Mohammadi, H., Emami, M. K. and Rezai, A. 2007.** Estimation of genetic parameters for wheat grain yield and its components using diallel crosses. *Journal of Water and Soil Science* 40: 157-165. (In Persian with English Abstract).
- Quarrie, S.A., Steed, A., Calestani, C., Semikhodskii, A., Lebreton, C., Chinoy, C., Steele, N., Pljevljakusić, D., Waterman, E., Weyen, J., Schondelmaier, J., Habash, D. Z., Farmer, P., Saker, L., Clarkson, D. T., Abugalieva, A., Yessimbekova, M., Turuspekov, Y., Abugalieva, S., Tuberosa, R., Sanguineti, M. C., Hollington, P. A., Aragués, R., Royo, A. and Dodig, D. 2005.** A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring × SQ₁ and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 865-880.
- Roostaei, M., Sadeghzadeh, D., Hasanpour, M., Amiri, A., Haghparast, A., Hesami, A., Soleymani, K., Banisadr, N., Pashapour, H., Azimzadeh, S. M., Torabi, M., Ghaffari, A., Abedi-Asl, G. and Nadermehmoodi, K. 1999.** The introduction of new varieties of wheat, Azar 2. *Journal of Seed and Plant Improvement* 16: 263-266. (In Persian with English Abstract).
- Roostaei, M. 2008.** Genetic analysis of drought tolerance in wheat using morpho-physiological traits and molecular markers. Ph.D. Dissertation, Islamic Azad University, Science and Research Unit, Tehran, Iran. (In Persian).
- Saghai-Marof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. and Allard, R. W. 1984.** Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 81: 8014-8018.
- Saleem, U., Khaliq, I., Mahmood, T. and Rafique, M. 2006.** Phenotypic and genotypic correlation coefficients between yield and yield components in wheat. *Journal of Agricultural Research* 44: 1-6.
- Thorne, G. N. 1965.** Photosynthesis of ears and flag leaves of wheat and barley. *Annals of Botany* 29: 317-320.
- Vasil, I. K. 2007.** Molecular genetic improvement of cereals: Transgenic wheat. *Plant Cell Reports* 26: 1133-1154.
- Verma, V., Foulkes, M. J., Worland, A. J., Sylvester-Bradley, R., Caligari, P. D. S. and Snape, J. W. 2004.** Mapping quantitative trait loci for flag leaf senescence as a yield determinant in winter wheat under optimal and drought-stressed environments. *Euphytica* 135: 255-263.
- Wang, S., Basten, C. J. and Zeng, Z. B. 2005.** Windows QTL Cartographer 2.5. Raleigh Department of Statistics, North Carolina State University, USA.
- Watson, D. J. 1952.** The physiological basis of variation in yield. *Advances in Agronomy* 4: 101-145.
- Zhang, L. Y., Liu, D. C., Guo, X. L., Yang, W. L., Sun, J. Z., Wang, D. and Zhang, A. 2009.** Distribution in genome of quantitative trait loci (QTL) for yield and yield-related traits in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 119: 43-52.



Identification of molecular markers linked to the genes controlling width and length flag and second leaves and grain yield in bread wheat under rainfed and supplementary irrigation conditions

Yousef Mohammadi¹, Seyyed Abolghasem Mohammadi^{2,3*}, Mohammad Moghaddam² and Mozaffar Rostaei⁴

Received: March 28, 2015

Accepted: December 14, 2015

Abstract

Drought is the most important abiotic stress affecting growth and production of wheat worldwide. To identify genes controlling grain yield, length and width of flag and second leaves in bread wheat, 121 recombinant inbred lines derived from a cross between drought tolerant Azar2 and high yielding 87Zhong 291 varieties were evaluated under rainfed and supplementary irrigation. Transgressive segregation was observed for all of the studied traits as revealed by phenotypic distribution of the traits. Genetic map consisted of 37 SSR, 16 and 32 AFLP markers covered 1157 cM of wheat genome with an average distance of 17.26 cM between two adjacent markers. Based on composite interval mapping, 59 QTLs were identified for the studied traits under rainfed and supplementary irrigation. For flag leaf length, 4 and 1 QTLs were identified under rainfed and supplementary irrigation, respectively. In addition, 7, 8 and 9 QTLS were mapped for width of flag leaf, length and width of second leaf under rainfed condition, respectively. For grain yield, 20 and 10 QTLs were mapped in the supplementary irrigation and rainfed conditions, respectively. In this study, 8 QTLs were common for the traits under study which could be due to genetic linkage or pleiotropy. Considering the importance of genomic region between ISSR25_2-CFA2257 markers in controlling grain yield, with saturation of this region with more markers, their could be used in marker assisted selection program.

Keywords: Composite interval mapping, QTL analysis, Water deficit stress

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2. Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3. Center of Excellence in Cereal Molecular Breeding, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4. Research Assoc. Prof., Dept. of Cereals, Dryland Agricultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Maragheh, Iran

* Corresponding author: mohammadi@tabrizu.ac.ir