

(مقاله پژوهشی)

تحقیقات غلات

دوره دهم / شماره سوم / پاییز ۱۳۹۹ (۲۳۰-۲۲۱)

مکان‌یابی QTL‌های برخی صفات مرتبط با اندازه و شکل دانه در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان

علاءالدین کردنائیج^{۱*} و آرزو یگانه^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰

چکیده

شکل و اندازه دانه از مهم‌ترین اجزای عملکرد و از مولفه‌های اصلی اهلی شدن در گندم به‌شمار می‌روند. شناخت ماهیت ژنتیکی این صفات مهم و بهره‌مندی از آن در برنامه‌های به‌نژادی این محصول راهبردی از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از این مطالعه، شناسایی QTL‌های مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه شامل وزن دانه، طول دانه، عرض دانه، نسبت عرض دانه به طول دانه، درجه کروی بودن دانه، محیط عمودی دانه، مساحت دانه در تصویر افقی، مساحت دانه در تصویر عمودی و حجم دانه در یک جمعیت نقشه‌یابی متشکل از ۱۱۸ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان حاصل از تلاقی وارسته محلی ایرانی طبعی و وارسته اصلاح شده اروپایی تایفون بود. در مجموع، تعداد نوزده QTL روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 2D، 3B، 4A، 4D، 5A، 5B، 5D، 6A، 7A و 7B شناسایی شد. ژنوم‌های A، B و D به‌ترتیب در ۵۳، ۲۶ و ۲۱ درصد از QTL‌ها مشاهده شدند. از میان صفات تحت بررسی، طول دانه با پنج QTL دارای بیش‌ترین تعداد QTL‌های شناسایی شده بود. درجه کروی بودن دانه نیز با دو QTL بیش‌ترین ارزش فنوتیپی (به‌طور متوسط ۴۲/۳ درصد در هر QTL) را به‌خود اختصاص داد. از میان نواحی QTL شناسایی شده، یک ناحیه روی کروموزوم 2A کنترل‌کننده صفات طول و حجم دانه و یک ناحیه روی کروموزوم 5D کنترل‌کننده صفات درجه کروی بودن دانه و مساحت دانه در تصویر افقی بود و به‌عنوان نواحی پلیوتروپیک معرفی می‌شوند. نتایج حاصل از این پژوهش در توافق با مطالعات دیگر، در گزینش به‌کمک نشانگر برای صفات شکل و اندازه دانه در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اثر پلیوتروپی، ارزش فنوتیپی، نشانگر ریزماهواره، وزن دانه

۱- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
 ۲- کارشناس ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
 * نویسنده مسئول: kordenaeej@shahed.ac.ir

مقدمه

از مهم‌ترین صفات یا اجزای مرتبط با عملکرد در گندم، شکل و به‌ویژه اندازه دانه آن است، به‌طوری‌که افزایش در اندازه دانه یکی از مؤلفه‌های اصلی اهلی‌شدن در غلاتی مانند گندم بوده است (Fuller, 2007). شواهد باستان‌شناسی در اطراف هلال حاصل‌خیز، حکایت از آن دارند که در خلال اهلی‌شدن گندم، گذار از تراز اجداد وحشی دیپلوئید و تتراپلوئید به سمت شکل‌های اهلی و هگزاپلوئید آن‌ها، با تمایل و انتخاب بشر به سمت انواع با دانه‌های درشت‌تر همراه بوده است (Feldman, 2007; Fuller, 2007)، به‌گونه‌ای که گندم با دانه‌های کوچک، کشیده و نازک به دانه‌های درشت، یکنواخت، کوتاه و پهن تغییرشکل یافته است (Gegas *et al.*, 2010, Okamoto and Takumi, 2013). به‌نظر می‌رسد این فرایند با سرعت نسبتاً بالایی رخ داده و با گزینش همزمان برای انواع گندم با ریزش دانه کم‌تر همراه بوده است. همچنین، به‌دلیل اهمیت بالای این ویژگی در عملکرد گندم، افزایش اندازه دانه به‌عنوان یکی از اهداف اصلی در گزینش و به‌نژادی گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده است. اگرچه در مقایسه با اندازه و شکل دانه در اهلی‌شدن غلاتی مانند گندم و برنج چندان با ارزش نبوده است (Kovach *et al.*, 2007)، اما به‌دلیل اهمیت و ارزش آن از نظر بازاری پسندی، در چند دهه اخیر به‌عنوان یکی از اهداف مهم به‌نژادی گندم در نظر گرفته شده است.

اهمیت اندازه و شکل دانه در گندم و درک ماهیت ژنتیکی این صفات می‌تواند نقش فزاینده‌ای در بهبود ارقام جدید گندم نان داشته باشد (Peng *et al.*, 2003). برای مثال، دانه بزرگ‌تر می‌تواند تأثیر مثبت بر عملکرد گیاهچه داشته باشد و در نتیجه، عملکرد محصول را افزایش دهد. به‌دلیل اهمیت بالای این ویژگی در عملکرد گندم، افزایش اندازه دانه به‌عنوان یکی از اهداف اصلی در گزینش و به‌نژادی گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده است. جگس و همکاران (Gegas *et al.*, 2010) نشان دادند که اندازه دانه تا حدود زیادی هم در جمعیت‌های نقشه‌یابی و هم در جمعیت‌های طبیعی مستقل از شکل دانه است. هم‌چنین گزارش شده است که تنوع فنوتیپی شکل دانه در خزانه‌های ژنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (Gegas *et al.*, 2010). بنابراین بهبود این صفت، برنامه‌های به‌نژادی گندم را با چالش روبرو کرده است. با وجود این، شناخت ساختار ژنتیکی این صفات در جمعیت‌های حاصل از تلاقی‌های هدفمند و یا جمعیت‌ها و توده‌های طبیعی قابل دسترس،

خالی از فایده نخواهد بود. هدف اصلی پژوهش حاضر، شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) و ارزیابی آثار QTL های پیوسته با شکل و اندازه دانه در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) گندم نان حاصل از تلاقی بین واریته محلی ایرانی طبری و واریته اصلاح‌شده اروپایی تایفون بود.

مواد روش‌ها

جمعیت نقشه‌یابی پژوهش حاضر شامل ۱۱۸ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) حاصل از تلاقی واریته گندم محلی ایرانی طبری (Tabassi: Tab) و واریته اصلاح شده اروپایی تایفون (Taifun: Tai) بود. لاین‌های نوترکیب با استفاده از روش انتخاب تک‌بذری (Single Seed Descent) در سال ۲۰۰۷ خالص و اصلاح شدند (Kordenaej, 2007). و در سال ۱۳۹۷ در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند. طبری واریته محلی قدیمی ایرانی است که از میان توده‌های گندم‌های بهاره در شمال شرقی ایران گزینش شده است. این رقم محلی، متحمل به تنش خشکی، زودرس، دارای ساقه‌های قوی و بلند، دانه‌های کشیده، ریشک‌دار و زرد رنگ می‌باشد. در مقابل، تایفون رقم اصلاح شده آلمانی بهاره دارای عملکرد بالا، پاکوتاه، مقاوم به سفیدک پودری، زنگ زرد، سپتوریا و دارای تحمل متوسط به فوزاریوم است (<http://www.lochow-petkus.de>). جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب مورد استفاده (F2:F10)، با خلوص بالای مکان‌های ژنی (بیش از ۹۸ درصد) و حاصل تلاقی دو والد متفاوت از نظر صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه، دارای سطح مناسبی از نوترکیبی مرتبط با مکان‌های ژنی احتمالی کنترل‌کننده صفات موردنظر بوده و برای هدف نقشه‌یابی QTL مناسب است. به‌منظور انجام ارزیابی‌های فنوتیپی، تعداد ۲۰ دانه تصادفی سالم از هر یک از لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب همراه با والدین آن‌ها یعنی ارقام طبری و تایفون انتخاب و سپس صفات مورد مطالعه به‌شرح زیر اندازه‌گیری شدند (Bresseghele and Sorrells, 2007):

وزن بیست دانه برای هر لاین با ترازوی دیجیتالی با دقت یک‌هزارم گرم اندازه‌گیری و میانگین وزن تک‌دانه (Kernel Weight: KW) بر حسب میلی‌گرم محاسبه شد. سپس تصویر دیجیتال با وضوح حداقل ۱۳/۶ pixels/mm از مجموعه بیست دانه برای هر لاین و والدین آنها تهیه شد (شکل ۱).



شکل ۱- تصویر دیجیتال دانه‌های گندم یکی از لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان
Figure 1. A digital image of kernels of a recombinant inbred lines of bread wheat

در مرحله بعد، تصاویر دیجیتال با استفاده از نرم‌افزار National Institutes of Health, USA,) ImageJ (rsb.info.nih.gov/ij) آنالیز و بر مبنای آن صفات طول دانه (Kernel length: LEN) بر حسب میلی‌متر، عرض دانه (Kernel width: WID) بر حسب میلی‌متر، نسبت عرض دانه به طول دانه (Horizontal axes proportion:) عرض دانه به طول دانه (HAP) بر حسب درصد، درجه کروی بودن دانه (Sphericity: SPH) بر حسب درصد، محیط عمودی دانه (Vertical perimeter: VP) بر حسب میلی‌متر، مساحت دانه در تصویر افقی (Projection area: AREA) بر حسب میلی‌متر مربع، مساحت دانه در تصویر عمودی (Section area: SEC) بر حسب میلی‌متر مربع و حجم دانه (Kernel volume: VOL) بر حسب میلی‌متر مکعب محاسبه شدند (Millar *et al.*, 1997).

در مرحله بعد، تصاویر دیجیتال با استفاده از نرم‌افزار National Institutes of Health, USA,) ImageJ (rsb.info.nih.gov/ij) آنالیز و بر مبنای آن صفات طول دانه (Kernel length: LEN) بر حسب میلی‌متر، عرض دانه (Kernel width: WID) بر حسب میلی‌متر، نسبت عرض دانه به طول دانه (Horizontal axes proportion:) عرض دانه به طول دانه (HAP) بر حسب درصد، درجه کروی بودن دانه (Sphericity: SPH) بر حسب درصد، محیط عمودی دانه (Vertical perimeter: VP) بر حسب میلی‌متر، مساحت دانه در تصویر افقی (Projection area: AREA) بر حسب میلی‌متر مربع، مساحت دانه در تصویر عمودی (Section area: SEC) بر حسب میلی‌متر مربع و حجم دانه (Kernel volume: VOL) بر حسب میلی‌متر مکعب محاسبه شدند (Millar *et al.*, 1997).

در پژوهش حاضر از نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره (SSR) تهیه شده توسط کردنائیج استفاده شد (Kordenaeej, 2007). این نقشه مشتمل بر مکان آلی ۲۰۵ نشانگر SSR با طول کلی ۲۸۹۴ سانتی‌مورگان و متوسط فاصله نشانگری ۱۴/۵، ۱۳/۲ و ۱۶ سانتی‌مورگان به ترتیب برای ژنوم‌های A، B و D بود که تراکم نسبتاً مناسبی از نشانگرها را برای ۲۱ جفت کروموزوم همساخت ژنوم گندم نان (۲۶ گروه لینکاژی در این بررسی) فراهم کرده است. بر اساس این نقشه ژنوتیپی و داده‌های حاصل از ارزیابی‌های فنوتیپی (Phenotyping) دانه‌های گندم مربوط به لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب و والدین آن‌ها، QTL های مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب شناسایی شدند. مکان‌یابی QTL ها برای هر صفت با استفاده از نرم‌افزار Windows QTL Cartographer نسخه ۲/۵ انجام شد (<https://brcwebportal.cos.ncsu.edu/qtlcart/WQ>)

نتایج

تعداد نوزده QTL روی کروموزوم‌های ۱A، ۲A، ۲D، ۳B، ۴A، ۴D، ۵A، ۵B، ۵D، ۶A، ۷A و ۷B برای تمامی صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در این مطالعه شناسایی شدند (جدول ۱). از میان صفات تحت بررسی، طول دانه با پنج QTL بیش‌ترین و وزن و عرض دانه فقط با یک QTL کم‌ترین تعداد را به خود اختصاص دادند. سهم ژنوم‌های سه‌گانه گندم (A، B و D) در توزیع QTL ها به ترتیب برابر با ۵۳، ۲۶ و ۲۱ درصد بوده است. بر اساس آماره R^2 ، متوسط ارزش فنوتیپی کل QTL های شناسایی شده در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم برابر با ۱۹/۵ درصد و میانگین کل آماره LOD برابر با ۳،۰ برآورد شد. ارزیابی تعداد، جایگاه و میزان آثار QTL ها به تفکیک برای صفات مورد مطالعه به شرح زیر بود:

وزن تک‌دانه

برای وزن تک‌دانه تنها یک QTL روی کروموزوم ۷B شناسایی شد (جدول ۱). این QTL به‌طور متوسط ۲۵/۶ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را در میان لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب تبیین کرد و به‌طور مشترک با نشانگر Xgwm3036 از والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده است.

عرض دانه

مکان آلی مربوط به QTL های این صفت، از والد طبیعی در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

برای عرض دانه فقط یک QTL با ارزش فنوتیپی ۱۳/۳ درصد روی کروموزوم ۴A شناسایی شد (جدول ۱). این QTL توارث یافته از والد تایفون با نشانگر Xgwm1018 تفرق پیدا کرده است.

طول دانه

مساحت دانه در تصویر افقی
یک QTL روی کروموزوم ۵D در مجاورت نشانگر Xgwm639 و دیگری روی کروموزوم ۷A در نزدیکی نشانگر Xgwm890 برای مساحت دانه در تصویر افقی شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۴/۱۴) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۷A با متوسط ارزش فنوتیپی ۱۳/۷٪ برآورد شد. هر دو مکان آلی مربوط به این QTL ها از ژنوم والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

برای طول دانه پنج QTL روی کروموزوم‌های ۲A، ۲D، ۵A و ۷B به ترتیب در تفرق مشترک با نشانگرهای Xgwm372، Xgwm957b، Xgwm294a، Xgwm291 و Xgwm767 شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین اندازه LOD (۳/۷۴) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۵A بود. این QTL به‌طور متوسط ۱/۱٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. به‌غیر از QTL واقع روی کروموزوم ۲D و ۷B، سه QTL دیگر از والد طبیعی به جمعیت نقشه‌یابی انتقال یافته‌اند.

نسبت عرض دانه به طول دانه

مساحت دانه در تصویر عمودی
دو QTL روی کروموزوم‌های ۱A و ۴A به ترتیب در نزدیکی نشانگرهای Xgwm497a و Xgwm1093 برای مساحت دانه در تصویر عمودی شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۲/۵۸) برای QTL واقع بر کروموزوم ۱A با ارزش فنوتیپی ۱۴/۳٪ برآورد شد. هر دو مکان آلی مربوط به QTL های این صفت از والد تایفون به جمعیت نقشه‌یابی منتقل شده‌اند.

برای نسبت عرض دانه به طول دانه، دو QTL با متوسط ارزش فنوتیپی ۱۰/۹٪ و با فاصله نسبی ۹۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم ۵B شناسایی شدند. QTL مرتبط با نشانگر Xgwm1108 از والد طبیعی و QTL مرتبط با نشانگر Xgwm604 از والد تایفون وارد جمعیت نقشه‌یابی شده‌اند.

درجه کروی بودن دانه

حجم دانه
برای حجم دانه دو QTL روی کروموزوم‌های ۲A و ۶A شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۴/۰۸) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۶A بود. این QTL به‌طور متوسط ۳۴/۱٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. QTL مرتبط با نشانگر Xgwm957b از والد طبیعی و QTL مرتبط با نشانگر Xgwm1103b از والد تایفون به توارث رسیده است.

برای درجه کروی بودن دانه نیز دو QTL واقع بر کروموزوم‌های ۵D و ۶A به ترتیب تفرق یافته با نشانگرهای Xgwm639a و Xgwm1009a شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۵/۱۰) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۵D بوده است. این QTL به‌طور متوسط ۴۴/۹٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین می‌کند. هر دو مکان آلی مربوط به QTL ها از والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

محیط عمودی دانه

بحث
سهم نابرابر والدین در توزیع QTL ها در جمعیت نقشه‌یابی

سهم والدین جمعیت نقشه‌یابی در توارث QTL های مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه در این پژوهش نابرابر بود، به‌طوری‌که والد طبیعی ۳۷٪ و والد تایفون ۶۳٪ از نوزده QTL را در ساختار ژنتیکی جمعیت نقشه‌یابی به‌خود اختصاص دادند. تفاوت سهم دو والد از نظر مکان‌های آلی کنترل‌کننده صفات تحت بررسی با توجه به تنوع و ماهیت

دو QTL شناسایی شده برای محیط عمودی دانه، واقع بر کروموزوم‌های ۳B و ۴D (جدول ۱)، به ترتیب با نشانگرهای Xgwm896 و Xgwm4726 به‌طور مشترک تفرق پیدا کردند. بیش‌ترین اندازه آماره LOD (۳/۱۳) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم ۳B بود که به‌طور متوسط ۹/۱۸٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. هر دو

از میان ژنوم سه‌گانه، ژنوم A با برخورداری از ۵۳٪ از QTL‌های شناسایی شده، سهم غالب خود را در ساختار ژنتیکی صفات شکل و اندازه دانه نشان داده است. در این بررسی، با وجود سهم غالب ژنوم A در برخورداری از نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات شکل و اندازه دانه در گندم هگزاپلوئید، هم‌چنین مشخص شد که ژنوم D نیز در بروز تنوع شکل و اندازه دانه در گندم هگزاپلوئید سهم دارد، به‌طوری که یک QTL کوچک اثر با ارزش فنوتیپی ۹/۴٪ روی کروموزوم 2D برای طول دانه و یک ناحیه QTL پلیوتروپیک قابل توجه واقع بر کروموزوم 5D که به‌طور هم‌زمان کنترل‌کننده درجه کروی بودن دانه و مساحت دانه در تصویر افقی می‌باشد نیز شناسایی شدند. چنین نقشی در پژوهش‌های پیشین هم گزارش شده است. برای نمونه، یان و همکاران (Yan *et al.*, 2017) دریافتند که ساختار ژنتیکی الحاق شده از ژنوم D در جریان تکامل گندم هگزاپلوئید، در ایجاد تنوع برای صفات اندازه و شکل دانه در گندم نان دارای نقش مهمی بوده و تأثیر آن بر عملکرد نهائی دانه قابل توجه می‌باشد.

بررسی نتایج حاصل از تجزیه همبستگی بین شکل و اندازه دانه با وزن دانه نشان داد که به‌جز درجه کروی بودن دانه، رابطه سایر صفات با وزن دانه مثبت و معنی‌دار بود، که بیانگر تأثیر صفات شکل و اندازه دانه روی وزن و عملکرد نهائی آن می‌باشد. چنین رابطه‌ای در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Qiu-Hong *et al.*, 2015; Bhusal, *et al.*, 2017; Kumari *et al.*, 2018).

نواحی QTL پلیوتروپیک

مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی که تنوع فنوتیپی دو یا چند صفت را به‌طور مشترک کنترل می‌کنند، مکان‌های ژنی پلیوتروپیک (Pleiotropic QTLs) نامیده می‌شوند. در پژوهش حاضر دو ناحیه پلیوتروپیک شناسایی شدند. ناحیه اول در مجاورت نشانگر Xgwm597b واقع در کروموزوم 2A است که هم‌زمان کنترل‌کننده دو صفت طول و حجم دانه می‌باشد (شکل ۲-چپ). کنترل این دو صفت با ساختار ژنتیکی مشترک، وجود همبستگی بالای میان آنها ($r = 0/677$, $\alpha = 0/01$) را توجیه می‌کند. زمانی که دو صفت دارای همبستگی ژنتیکی مثبت و بزرگ هستند، به این معناست که QTL مشترک، تغییرات در ارزش‌های فنوتیپی آن دو صفت را به‌صورت هم‌جهت تحت

تصادفی رویدادهای نوترکیبی که پس از آمیختن ژنوم‌های والدینی در نسل F₂ رخ می‌دهد و متعاقب آن در جریان خودگشنی‌های متوالی، جمعیت‌های RILs به خلوص و ثبات می‌رسند، توجیه‌پذیر است. اساساً جمعیت‌های RILs که از نتاج تک‌بذر نسل F₂ حاصل می‌شوند، پیش از رسیدن به خلوص، چندین بار تقسیم میوزی را از سر می‌گذرانند و در مقایسه با جمعیت F₂، از سطح نوترکیبی بالاتر و توان تفکیک بیش‌تری برای هدف نقشه‌یابی برخوردار هستند (Burr and Burr 1991)، به‌گونه‌ای که حتی جایگاه‌های آلی نشانگرهای بسیار نزدیک به هم را نیز می‌توان در آن‌ها نقشه‌یابی کرد (Wang *et al.*, 1994; O'Donoghue *et al.*, 1995).

سهم غالب ژنوم A از QTL‌های شناسایی شده

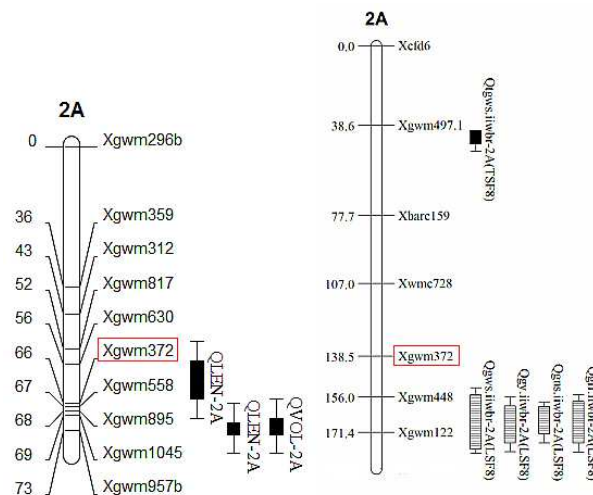
ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A, B و D) از نظر تعداد QTL‌های شناسایی شده، سهم نابرابری را نشان دادند. ژنوم گندم بنابر ماهیت آلوهمگزاپلوئیدی خود از نظر برخورداری از نواحی ژنی، شامل نواحی غنی از ژن و نواحی فقیر از ژن می‌باشد. در واقع، توزیع ژن‌ها و میزان وقوع نوترکیبی‌های ژنی در ژنوم گندم نابرابر هستند. به‌طوری که بیش از ۸۵٪ ژن‌های گندم نان تنها در ۴۸ ناحیه غنی از ژن (Gene-rich regions: GRRs) در اندازه و تراکم‌های مختلفی قرار دارند و این نواحی حدود ۲۹٪ از کل ژنوم گندم را در برمی‌گیرند. هفتاد و یک درصد باقیمانده، نواحی فقیر ژنی مشتمل بر بلوک‌هایی از توالی‌های تکراری DNA می‌باشند که تعداد اندکی ژن در میان این بلوک‌ها پراکنده شده‌اند (Dilbirli *et al.*, 2004).

اندازه و شکل دانه در گندم از جمله صفات مهم و متنوعی هستند که ناشی از تنوع ژنتیکی حاصل از پدیده پلی‌پلوئیدی و اهلی‌سازی گندم می‌باشد. طی این پدیده‌ها، شکل دانه‌های گندم از کشیده و قلمی تا کوتاه و قطور تغییر (تکامل) یافته‌است (Gegas *et al.*, 2010). از جنبه‌های قابل توجه دیگر در تکامل گندم هگزاپلوئید، عدم تقارن ژنومی (Genomic asymmetry) می‌باشد. موضوعی که پیش‌تر در رابطه با توزیع نامتقارن نواحی غنی از ژن در گندم مورد اشاره قرار گرفت. یکی از نشانه‌های بارز این عدم تقارن، نقش غالب ژنوم A در ساختار ژنتیکی صفات شکل و اندازه دانه می‌باشد (Feldman *et al.*, 2012). یافته‌های پژوهش حاضر نیز این موضوع را تأیید می‌کند، به طوری که

در رابطه با ساختار ژنتیکی صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در گندم نان می‌باشد.

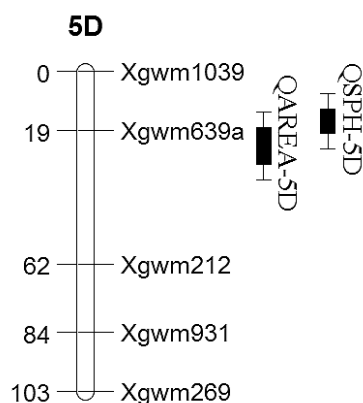
ناحیه پلیوتروپیک دوم روی کروموزوم 5D و در مجاورت نشانگر Xgwm639a شناسایی شد (شکل ۳) که به‌طور همزمان تنوع ارزش‌های فنوتیپی صفات درجه کروی بودن و مساحت دانه در تصویر افقی را کنترل می‌کند. همبستگی معنی‌دار و منفی بین این دو صفت ($r = 0/607$) بر $(\alpha = 0/01)$ احتمالاً نشان‌دهنده آن است که این QTL بر تغییرات در ارزش‌های فنوتیپی این دو صفت در دو جهت مخالف اثر می‌گذارد. به عبارت دیگر افزایش ارزش یک صفت، باعث کاهش ارزش صفت دیگر می‌شود. منفی بودن اندازه اثر افزایشی این QTL برای صفت مساحت دانه در تصویر افقی ($-0/35$) و مثبت بودن آن برای صفت درجه کروی بودن دانه ($+12/58$) نیز این موضوع را تایید می‌کند. دو مکان آلی این ناحیه پلیوتروپیک بر خلاف ناحیه پلیوتروپیک واقع در کروموزوم 2A، هر دو از والد تایفون به توارث رسیده‌اند. اگرچه ناحیه همخوان با این ناحیه پلیوتروپیک در مطالعات دیگر همانند آنچه در مورد ناحیه پلیوتروپیک واقع در کروموزوم 2A یافت نشد، با وجود این، بالا بودن میزان ضریب تبیین این QTL ($R^2 = 43/3\%$) آن را به عنوان یک QTL بزرگ اثر مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه معرفی می‌کند اگرچه برای تأیید این ناحیه پلیوتروپیک مطالعات بیشتری لازم است.

تأثیر قرار می‌دهد (Bolormaa *et al.*, 2014). اندازه آثار افزایشی QTL مشترک برای طول دانه برابر با $0/36$ و برای حجم دانه برابر با $0/69$ بوده است. همچنین ارزش فنوتیپی آن برای دو صفت به ترتیب برابر با $2/9\%$ و $9/4\%$ بوده است (جدول 1). مکان آلی این QTL مشترک با اثرات افزایشی مثبت، از والد طبعی به لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب منتقل شده است. با توجه به برتری واریته محلی طبعی نسبت به واریته اصلاح‌شده تایفون از نظر طول و حجم دانه، این QTL می‌تواند از نظر صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه یک QTL با ارزش تلقی شود. سامرز و همکاران (Somers *et al.*, 2004)، کروسا و همکاران (Crossa *et al.*, 2007) و بوسال و همکاران (Bhusal *et al.*, 2017) نظیر این ناحیه پلیوتروپیک را روی کروموزوم 2A گزارش کردند. موقعیت نسبی QTL پلیوتروپیک شناسایی شده در پژوهش حاضر و مطالعه بوسال و همکاران (Bhusal *et al.*, 2017) در شکل ۲ نشان داده شده است. در این دو نقشه، موقعیت نسبتاً همسان نشانگر Xgwm372 در نزدیکی QTL مورد اشاره قابل توجه است. از طرف دیگر، از میان کروموزوم‌های ژنوم گندم در این پژوهش، کروموزوم 2A با سه QTL، بیش‌ترین تعداد را به خود اختصاص داده است. در مطالعه بوسال و همکاران نیز تعداد هفده QTL از بیست و چهار QTL، روی کروموزوم 2A شناسایی شدند. این موضوع به درستی نشان‌دهنده اهمیت این کروموزوم



شکل ۲- مقایسه موقعیت یک ناحیه QTL پلیوتروپیک روی کروموزوم 2A: چپ مربوط به پژوهش حاضر و راست مربوط به Bhusal و همکاران (Bhusal, *et al.*, 2017) است.

Figure 2. A comparison between a pleiotropic QTL region on chromosome 2A: Left, in the present study and right in Bhusal *et al.*, 2017.



شکل ۳- موقعیت یک ناحیه QTL پلیوتروپیک روی کروموزوم 5D
Figure 3. Position of a pleiotropic QTL region on chromosome 5D

جدول ۱- مشخصات QTL‌های شناسایی شده صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان

Table 1. QTLs identified for grain size and shape in a RIL population of bread wheat

Trait	Locus	Linked marker	LOD	Phenotypic value (%)	Additive effect	Parental allele	Average phenotypic value (%)	Average LOD
Kernel weight	7B	<i>Xgwm3036</i>	2.50	25.6	0.06	Tai	-	-
Kernel width	4A	<i>Xgwm1081</i>	2.62	13.3	-0.18	Tai	-	-
Kernel length	2A	<i>Xgwm372</i>	2.62	8.9	0.35	Tab	9.2	2.89
	2A	<i>Xgwm957b</i>	2.55	2.9	0.36	Tab		
	2D	<i>Xgwm294a</i>	2.85	9.4	-0.78	Tai		
	5A	<i>Xgwm291</i>	3.74	11.1	0.41	Tab		
	7B	<i>Xgwm767</i>	2.07	7.4	-0.32	Tai		
Horizontal axes proportion	5B	<i>Xgwm1108</i>	3.30	10.1	1.10	Tab	10.9	3.02
	5B	<i>Xgwm604</i>	2.74	11.6	-1.16	Tai		
Sphericity	5D	<i>Xgwm639a</i>	5.10	44.9	12.58	Tai	42.3	4.11
	6A	<i>Xgwm1009a</i>	3.12	39.6	12.08	Tai		
Vertical perimeter	3B	<i>Xgwm896</i>	3.13	9.8	-0.60	Tab	12.5	3.07
	4D	<i>Xgwm4726</i>	3.00	15.1	-0.76	Tab		
Projection area	5D	<i>Xgwm639a</i>	2.11	41.8	-0.35	Tai	27.8	3.13
	7A	<i>Xgwm890</i>	4.14	13.7	-0.18	Tai		
Section area	1A	<i>Xgwm497a</i>	2.58	14.3	0.11	Tai	12.2	2.54
	4A	<i>Xgwm1093</i>	2.50	10.0	0.09	Tai		
Kernel volume	2A	<i>Xgwm957b</i>	2.18	9.4	0.69	Tab	21.8	3.13
	6A	<i>Xgwm1103b</i>	4.08	34.1	-1.63	Tai		
Total mean			3.00	19.5				

نتيجه گيري كلي

ناحيه پليوتروپيک واقع بر کروموزوم 2A که با نتايج مطالعات مشابه کاملاً همخوانی داشت. در صورتی که نقشه پيوستگی مورد استفاده در اين پژوهش با به کار بردن تعداد و انواع بيش تر نشانگرها بهينه شده و برای نقشه یابی دوباره مورد بهره برداری قرار گیرد، در اين صورت پس از تأييد اعتبار QTL های شناسایی شده در یک نقشه پيوستگی بهينه، می توان آن نواحی و به ویژه نواحی پليوتروپيک را از نظر توالی های ژنی، مطالعه و سپس از نشانگرهای مرتبط با نواحی QTL بزرگ اثر تأييد شده، به منظور بهبود و اصلاح شکل و اندازه دانه از طريق گزينش به کمک نشانگر در برنامه های به نژادی گندم استفاده کرد.

نتايج حاصل از اين پژوهش نشان داد که برای تمامی صفات مورد بررسی، حداقل یک QTL شناسایی شد. همچنين مشخص شد که توزيع QTL ها در ژنوم سه گانه گندم متفاوت و در اين ميان سهم ژنوم A از دو ژنوم ديگر بيش تر بود. علاوه بر اين، سهم والدین جمعیت نقشه یابی در توزيع و توارث جایگاه های آلی QTL ها در ميان لاین های خویش آمیخته نوترکیب نیز نابرابر بود. حضور دو ناحیه پليوتروپيک واقع بر کروموزوم های 2A و 5D نشان دهنده اهمیت و سهم قابل توجه اين نواحی در ساختار ژنتیکی مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه در گندم می باشد، به ویژه

References

- Bhusal, N., Sarial, A. K., Sharma, P. and Sareen, S. 2017. Mapping QTLs for grain yield components in wheat under heat stress. *PLoS ONE* 12 (12): e0189594. doi.org/10.1371/journal.pone.0189594.
- Bolormaa, S., Pryce, J. E., Reverter, A., Zhang, Y., Barendse, W., Kemper, K., Tier, B., Savin, K., Hayes, B. J. and Goddard, M. E. 2014. A multi-trait, meta-analysis for detecting pleiotropic polymorphisms for stature, fatness and reproduction. *PLoS Genetics* 10 (3): e1009148. doi.org/10.1371/journal.pgen.1004198.
- Breseghele, F. and Sorrells, M. E. 2007. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations. *Field Crops Research* 101: 172-179.
- Burr, B. and Burr, F. A. 1991. Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: Theoretical and practical considerations. *Trends in Genetics* 7: 55-60.
- Dilbirligi, M. M., Erayman, M., Sandhu, D., Sidhu, D. and Gill, K. S. 2004. Identification of wheat chromosomal regions containing expressed resistance genes. *Genetics* 166: 461-481.
- Feldman, M. and Kislev, M. E. 2007. Domestication of emmer wheat and evolution of free-threshing tetraploid wheat. *Israel Journal of Plant Sciences* 55: 207-221.
- Feldman, M. and Levy, A. A. 2012. Genome evolution due to allopolyploidization in wheat. *Genetics* 192 (3): 763-774.
- Fuller, D. Q. 2007. Contrasting patterns in domestication crop and domestication rates: Recent archaeobotanical insights from the old world. *Annals of Botany* 100 (5): 903-924.
- Gegas, V. C., Nazari, A., Griffiths, S., Simmonds, J., Fish, L., Orford, S., Sayers, L., Doonan, J. H. and Snape, J. W. 2010. A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. *The Plant Cell* 22: 1046-1056.
- Kordenaeej, A. 2007. Mapping QTLs for yield and yield components under drought stress in bread wheat. Ph. D. Dissertation, University of Natural Resources and Applied Life Sciences (BOKU), Vienna, Austria. 97 p.
- Kovach, M. J., Sweeney, M. T. and McCouch, S. R. 2007. New insights into the history of rice domestication. *Trends in Genetics* 23: 578-587.
- Kumari, S., Jaiswal, V., Kumar, V., Paliwal, R., Singh, H. and Gupta, P. K. 2018. QTL mapping for some grain traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants* 24 (5): 909-920.
- Yan, L., Liang, F., Xu, H., Zhang, X., Zhai, H., Sun, Q. and Ni, Z. 2017. Identification of QTL for grain size and shape on the D genome of natural and synthetic allohexaploid wheats with near-identical AABB genomes. *Frontiers in Plant Science* 8: 1705. doi.org/10.3389/fpls.2017.01705.
- Millar, S. J., Whitworth, M. B. and Evers, A. D. 1997. Image analysis: The prediction and assessment of wheat quality and milling properties. Proceedings of the International Wheat Quality Conference. May 18-22, 1997, Manhattan, Kansas, USA. pp: 141-151.

- O'Donoghue, L. S., Kianian, S. F., Rayapati, P. J., Penner, G. A. and Sorrells, M. E. 1995.** Molecular linkage map of cultivated oat (*Avena byzantina* X *A. sativa* cv. Ogle). **Genome** 38: 368-380.
- Okamoto, Y. and Takumi, S. 2013.** Pleiotropic effects of the elongated glume gene P1 on grain and spikelet shape-related traits in tetraploid wheat. **Euphytica** 194: 207-218.
- Peng, J., Ronin, Y., Fahima, T., Röder, M. S., Li, Y., Nevo, N. and Korol, A. 2003.** Domestication quantitative trait loci in *Triticum dicoccoides*, the progenitor of wheat. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America: PNAS** 100 (5): 2489-2494.
- Qiu-Hong, W., Yong-Xing, C., Sheng-Hui, Z., Lin, F., Jiao-Jiao, C. and Zhi-Yong L. 2015.** High-density genetic linkage map construction and QTL mapping of grain shape and size in the wheat population Yanda1817 × Beinong6. **PLoS ONE** 10 (2): 118-134.
- Somers, D. J., Isaac, P. and Edwards, K. 2004.** A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical Applied Genetics** 109: 1105-1114.
- Voorrips, R. E. 2002.** Map Chart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. **The Journal of Heredity** 93 (1): 77-78.
- Wang, G. L., Mackill, D. J., Bonman, J. M., McCouch, S. R., Champoux, M. C. and Nelson, R. J. 1994.** RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. **Genetics** 136: 1421-1434.



University of Guilan
Faculty of Agricultural
Sciences

doi: 10.22124/cr.2021.18106.1636

(Research Article)

Cereal Research
Vol. 10, No. 3, Autumn 2020 (221-230)

Mapping QTLs for some seed shape and size related traits in a population of recombinant inbred lines of bread wheat

Alaeddin Kordenaeej^{1*} and Arezoo Yeganeh²

Received: August 27, 2020

Accepted: November 30, 2020

Abstract

Kernel shape and size are the most important characters related to the yield and domestication in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Understanding of genetic parameters of such important traits and its utilization is very important in breeding programs for this strategic crop. The aim of the present study was to identify quantitative trait loci (QTLs) corresponding to the kernel shape and size characteristics i.e. kernel weight, kernel length, kernel width, horizontal area proportion, sphericity, vertical perimeter, projection area, section area, and kernel volume within a mapping population of 118 recombinant inbred lines (RILs) of bread wheat resulting from a cross between an Iranian landrace, Tabassi, and a European wheat variety, Taifun. In total, nineteen QTLs were identified on chromosomes 1A, 2A, 2D, 3B, 4A, 4D, 5A, 5B, 5D, 6A, 7A and 7B. The genomes A, B and D covered 53%, 26%, and 21% of the QTLs, respectively. The highest number of QTL (5) and phenotypic value (42.3%), were respectively obtained for kernel length and kernel sphericity. Among the QTL regions identified, one region on chromosome 2A corresponding kernel length and volume and one region on chromosome 5D controlling sphericity and projection area are referred to as pleiotropic regions. The results of this study, in agreement with other studies, are recommended in marker-assisted selection (MAS) for grain shape and size traits in bread wheat breeding programs.

Keywords: Kernel weight, Microsatellite marker, Phenotypic value, Pleiotropic effect

1. Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

2. M. Sc. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author: kordenaeej@shahed.ac.ir