Spring (2024) 13(45): 31-39.
DOI: 10.30473/cb.2024.70419.1951
Received: 28, Jan. 2024 Accepted: 27, Mar. 2024

Crop Biotechnology Open Access

ORIGINAL ARTICLE

Localization of QTLs controlling starch and neutral detergent fiber of durum wheat grain

Sina Ghanbari[1], Kianoosh Cheghamirza[1,2*], Leila Zarei[1,2], Roghayeh Naseri[1], Elisabetta Mazzucotelli[3]

[1]Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Sciences and Agricultural Engineering, Razi University of Kermanshah, Iran.
[2]Cereal Research Center, Razi University of Kermanshah, Iran.
[3]Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Research Centre for Genomics and Bioinformatics, Fiorenzuola d'Arda, Italy.

Correspondence
Kianoosh Cheghamirza
Email: cheghamirza@yandex.ru

How to cite
Ghanbari, S., Cheghamirza, K., Zarei, L., Naseri, R., & Mazzucotelli, E. (2024). Localization of QTLs controlling starch and neutral detergent fiber of durum wheat grain. *Crop Biotechnology*, *13*(45), 31-39.

ABSTRACT
Among cereals, durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum) is one of the most important protein and energy sources after bread wheat. It has a significant role in human nutrition in most countries. In this study, to identify and localization of QTLs controlling traits related to starch and Neutral detergent fiber, 118 durum wheat recombinant inbred lines obtained from the cross between the local genotype of Iran-249 originated from the west of Iran and the local cultivar of Zardak from Kermanshah were evaluated in two environments (2014 and 2015) under rainfall conditions at the acireale research center using randomized complete block design along with parents in three replications. QTL analysis for each trait was performed using the inclusive composite interval mapping method to identify genomic regions that significantly affected the studied traits. A total of six QTLs were identified for the two traits measured, grain starch content and neutral detergent fiber. Three QTLs were identified on chromosome 7A and one QTL on chromosome 4B for the grain starch content trait. For the neutral detergent fiber trait, one QTL was localization on chromosome 6B and one QTL on chromosome 7A. Identifying and localization QTLs controlling traits related to seed quality characteristics can provide an opportunity to improve these traits through marker-assisted selection. The results provide QTLs with high breeding potential along with associated markers useful for precise localization and molecular breeding.

KEYWORDS
Epistasis, Inclusive Composite Interval Mapping, Marker-assisted Selection, *Triticum turgidum* L.

© 2024, by the author(s). Published by Payame Noor University, Tehran, Iran.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

سال سیزدهم، شماره سوم، پیاپی چهل و پنجم، بهار ۱۴۰۳ (۳۹-۳۱)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۰۸

DOI: 10.30473/cb.2024.70419.1951

نشریه علمی

زیست‌فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده نشاسته و فیبر شوینده خنثی دانه در گندم دوروم

سینا قنبری[۱]، کیانوش چقامیرزا[۱،۲*]، لیلا زارعی[۱،۲]، رقیه ناصری[۱]، الیزابتا مازوکوتلی[۳]

[۱]گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

[۲]مرکز تحقیقات غلات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

[۳]مرکز تحقیقات ژنتیک و بیوانفورماتیک، فیورنزولا، ایتالیا.

نویسنده مسئول:

کیانوش چقامیرزا

رایانامه: cheghamirza@yandex.ru

چکیده

در بین غلات گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var. durum) پس از گندم نان یکی از مهم‌ترین منابع پروتئین و انرژی است و در اکثر کشورهای جهان نقش عمده‌ای در تغذیه انسان دارد. در این تحقیق به منظور شناسایی و مکان‌یابی جایگاه‌های ژنی کنترل کننده صفات کیفی نشاسته و فیبر شوینده خنثی دانه در گندم دوروم، ۱۱۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم دوروم حاصل از تلاقی بین ژنوتیپ بومی "ایران -۲۴۹" با منشاء کرمانشاه و رقم بومی زردک به همراه والدین در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی دو سال زراعی (۱۳۹۲-۱۳۹۳، ۱۳۹۳-۱۳۹۴) تحت شرایط دیم در مرکز تحقیقات آچیراله ارزیابی شدند. برای شناسایی مناطق ژنومی که تاثیر قابل توجهی بر صفات مورد مطالعه داشتند، تجزیه QTL با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر انجام شد. برای دو صفت اندازه گیری شده محتوی نشاسته دانه و فیبر شوینده خنثی در مجموع شش QTL شناسایی شد. برای صفت محتوی نشاسته دانه سه QTL بر روی کروموزوم 7A و یک QTL بر روی کروموزوم 4B شناسایی شد. برای صفت فیبر شوینده خنثی یک QTL بر روی کروموزوم 6B و یک QTL بر روی کروموزوم 7A مکان‌یابی شد. شناسایی و مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با خصوصیات کیفی دانه می‌تواند فرصتی را برای بهبود این صفات از طریق انتخاب به کمک نشانگر فراهم کند. نتایج حاصل QTLهایی با پتانسیل اصلاحی بالا همراه با نشانگرهای مرتبطی که برای مکان‌یابی دقیق و به‌نژادی مولکولی مفید می‌باشند ارائه می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی

اپیستازی، گزینش به کمک نشانگر، مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، *Triticum turgidum* L.

استناد به این مقاله:

قنبری، سینا؛ چقامیرزا، کیانوش؛ زارعی، لیلا؛ ناصری، رقیه و مازوکوتلی، الیزابتا (۱۴۰۳). مکان‌یابی QTLهای کنترل‌کننده نشاسته و فیبر شوینده خنثی دانه در گندم دوروم. فصلنامه علمی زیست‌فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۵)، ۳۹-۳۱.

مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var. durum) یک گونه آلوتتراپلوئید (ژنوم AABB، ۲n = ۴x = ۲۸) و یکی از محصولات غذایی اصلی است که عمدتاً در مناطق مدیترانه‌ای، جنوب اروپا و شمال آفریقا کشت می‌شود (IGC, 2020). گندم دوروم به‌دلیل خواص منحصر به‌فرد دانه و کاربردهای متنوع آن، در بخش وسیعی از دنیا کشت و کار می‌شود (Liu *et al*., 2019). از جمله کاربردهای آن می‌توان به انواع محصولات غذایی مانند پاستا، کوسکوس[1](بلغور عربی)، نان، کلوچه و ماکارونی اشاره کرد (Sissons, 2022). تولید جهانی گندم در سال ۲۰۲۲/۲۳ حدود ۷۵۰ میلیون تن تخمین زده شده و انتظار می‌رود به ۸۴۰ میلیون تن برسد (FAO, 2022)، در حالی‌که میانگین تولید سالانه گندم دوروم ۴۰ میلیون تن می‌باشد (Martínez-Moreno *et al*., 2022). این غله مهم از دیرباز در مناطق دیم گرمسیری و نیمه گرمسیری ایران به‌طور سنتی کشت می‌شده است و کشور ایران با ۴۰۰-۳۰۰ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید ۰/۶ میلیون تن در سال از تولید کنندگان این محصول با ارزش است (Ahmadi *et al*., 2022). صفات کیفی مثل نشاسته و پروتئین از اجزای مهم دانه گندم هستند و بر عملکرد و کیفیت فرآوری گندم تأثیر می‌گذارند. حدود ۸۵ درصد از دانه گندم را کربوهیدرات تشکیل می‌دهد که بیشتر آن نشاسته می‌باشد (Anjum *et al*., 2007). در سال‌های اخیر با بهبود عادت غذایی و سبک زندگی، توجه بیشتری به ترکیب غذایی و کیفیت محصولات گندم شده است. علاوه بر این شرایط آب و هوایی و افزایش جمعیت جهان، تهدیدی جدی برای تولید گندم می‌باشد (Zhang *et al*., 2021). برای اطمینان از عملکرد بالا، اصلاح ارقام جدید گندم با کیفیت بالا و سازگاری به مناطق مختلف هدف اصلی به‌نژادگران در سراسر جهان می‌باشد (Liu *et al*., 2018)، بنابراین مطالعه و تجزیه و تحلیل مکانیسم ژن‌های مهم و مؤثر بر صفات کیفی دانه گندم از اهمیت بالایی برخوردار است.

نشاسته مهم‌ترین منبع انرژی ذخیره‌ای در گیاهان به شمار می‌رود که به وفور در دانه غلات و در گیاهان غده‌ای یافت می‌شود. از نظر تغذیه‌ای نشاسته تامین کننده ۷۰-۸۰ درصد انرژی مورد نیاز روزانه انسان می‌باشد و به‌ویژه از لحاظ تامین کالری مورد نیاز در کشورهای جهان سوم حائز اهمیت فراوان می‌باشد (Majzoobi *et al*., 2008). ویژگی‌های منحصر به فرد نشاسته باعث شده است تا به توان از این ترکیب پلیمری به‌صورت گسترده در صنایع مختلف استفاده نمود که در این بین صنعت غذا سهم عمده‌ای را به خود اختصاص داده است. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نشاسته و کاربردهای آن در صنایع مختلف تحت تاثیر ساختار آن از جمله میزان بلوری بودن، نسبت آمیلوز به آمیلوپکتین، مورفولوژی گرانول و قطر گرانول‌هاست (Majzoobi *et al*., 2012; Tester *et al*., 2004). نشاسته در گیاه به شکل گرانول‌های نیمه بلوری وجود دارد. دامنه اندازه این گرانول‌ها متغیر است و بسته به منشاء گیاهی در اشکال مختلف وجود دارند. نحوه قرار گیری آمیلوزها و آمیلوپکتین‌ها در گرانول منتهی به ایجاد بخش‌های کریستالی و غیرکریستالی به‌صورت متناوب شده است و به‌طوری که گرانول نشاسته در برش عرضی به‌صورت حلقه‌های متحدالمرکز دیده می‌شوند (Barnett and Harder, 2004).

فیبر شوینده خنثی وزن کل دیواره سلولی را نشان می‌دهد. دیواره سلولی از سلولز، همی سلولز و لیگنین تشکیل شده است. از فیبر شوینده خنثی می‌توان برای تعیین نسبت دیواره سلولی به محتوی سلول استفاده کرد. محققین با توجه بیشتر به ماهیت الیاف نامحلول در شوینده خنثی و هضم‌پذیری آن نشان دادند که فیبر شوینده خنثی به تنهایی نمی‌تواند برای تعیین خصوصیات فیبری و هضمی کافی باشد و فیبر شوینده خنثی موجود در منابع مختلف، خصوصیات فیزیکی و هضمی متفاوتی را دارا می‌باشند (Oba and Allen, 1999).

نقشه ژنتیکی اولیه، متشکل از نشانگرهای چند شکل در یک ژنوم، پیش‌نیاز ضروری برای مطالعات ژنتیکی دقیق در هر موجودی است (Maccaferri *et al*., 2011). نقشه‌های ژنتیکی گونه‌های زراعی ابزارهای ضروری برای نقشه‌یابی QTLs[2] صفات مهم زراعی، شناسایی ژن‌های کاندید، بازآرایی کروموزومی اجدادی و روابط تکاملی بین کروموزوم‌های مختلف، مطالعه تنوع، عدم تعادل پیوستگی، انتخاب به کمک نشانگر (MAS[3]) و روش‌های اصلاح مولکولی هستند (Lewin *et al*., 2009; Gupta *et al*., 2020). تعیین جایگاه‌های ژنومی کنترل کننده صفات کمی با استفاده از نشانگرهای مرتبط در انتخاب ارقام مناسب مؤثر است و این انتخاب غیر مستقیم به کمک نشانگر برای صفات پیچیده‌ای نظیر ترکیبات

1Couscous

2Quantitative Trait Loci

3Marker-Assisted Selection

شیمیایی دانه که به شدت تحت تأثیر محیط هستند، اهمیت بیشتری دارند (Krishnappa *et al*., 2017). روش‌های جدید بیوتکنولوژی می‌توانند به تسریع بهبود عملکرد گیاهان از طریق انتخاب به کمک نشانگر (MAS) بر اساس نقشه‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی (QTL) و ژن‌های خاص کمک نمایند. تجزیه QTL امکان تشخیص اثرات ژنتیکی مستقیم و غیر مستقیم بر صفات عملکرد را فراهم می‌کند (Colasuonno *et al*., 2021). یکی از عوامل بسیار مهم موفقیت در نقشه‌یابی QTL ایجاد جمعیت در حال تفرق است، تشخیص QTLها و تهیه نقشه‌های پیوستگی با استفاده از نشانگرهای DNA در بسیاری از محصولات زراعی، جهت شناسایی مناطق کروموزومی حاوی QTLها انجام شده است (Soriano *et al*., 2021).

هر یک از جمعیت‌های تلاقی برگشتی، رگه‌های درون‌زاد، NILs[1] و هاپلوئید مضاعف برای تهیه نقشه ژنتیکی مزایا و معایب خاص خود را دارد و انتخاب جمعیت مناسب بسته به اهداف مورد نظر، پیچیدگی صفات، زمان در دسترس و نوع نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در تعیین ژنوتیپ (غالب یا همبارز) انجام می‌شود (Mulualem and Bekeko, 2016). در مطالعه‌ای بر روی جمعیتی شامل ۱۱۰ رگه درون زاد (RIL[2]) حاصل از تلاقی دو والدینی گندم دوروم نقشه پیوستگی متشکل از ۳۰۶ نشانگر (SNP، SSR و RFLP) ایجاد شد. نشانگرهای مولکولی تقریبا به‌طور مساوی بین ژنوم‌های A و B توزیع شدند (Nachit *et al*., 2001). اصلاح نباتات برای بهبود کیفیت ارزش تغذیه‌ای گیاهان زراعی که تقویت زیستی[3]نام دارد، می‌تواند رویکردهای جدیدی را برای بهبود محتوی مواد مغذی در انواع محصولات اصلی ارائه کند (Wang *et al*., 2021).

در مطالعه‌ای بر روی جمعیت RILs گندم نان، QTLها برای محتوی پروتئین و نشاسته شناسایی شد. نتایج حاصل منجر به شناسایی QTLهایی برای محتوی نشاسته دانه بر روی کروموزوم‌های 2A، 4A، 7A و 4B و برای پروتئین بر روی کروموزوم‌های 3B، 4A، 7A و 7B شد (Deng *et al*., 2014). در پژوهشی بر روی گندم نان با استفاده از RILهای مشتق شده از تلاقی (Kechengmai2×Zhongkemai138)، تجزیه QTL برای عملکرد دانه و صفات مرتبط با کیفیت گندم نان انجام شد. مجموعاً ۶۸ QTL افزایشی و ۸۲ جفت QTL اپیستاتیک برای ویژگی‌های دانه و صفات مرتبط با کیفیت شناسایی شدند. علاوه‌بر این، ۱۳ QTL افزایشی در سه بازه ژنومی (C4D2، C5D و C6D2) دسته بندی شدند و هرکدام حداقل دو QTL پایدار برای پروتئین و نشاسته داشتند (Fan *et al*., 2022). در مطالعه‌ای بر روی RILهای گندم دوروم شناسایی QTLها برای فیبر شوینده خنثی، محتوی پروتئین، میزان آهن و محتوی نشاسته دانه انجام شد. برای صفات محتوی پروتئین دانه، شش QTL بر روی کروموزوم‌های 5A، 3B، 4B و 7A، برای محتوی نشاسته دانه پنج QTL بر روی کروموزوم‌های 1A، 1B.1، 3A، 4B و 7A و سه QTL برای هر کدام از صفات فیبر شوینده خنثی مستقر بر کروموزوم‌های 1A، 5A و 5B و میزان آهن دانه بر روی کروموزوم‌های 5B و 7B شناسایی شد (Naseri, 2023).

کیفیت غلات و محصولات نهایی تعیین کننده ارزش اقتصادی آن است. با این حال، آزمایش‌های کیفی به شدت نیازمند منابع هستند و انجام آن‌ها در نسل‌های اولیه در برنامه‌های اصلاحی تقریبا غیر ممکن است. ابزارهای مبتنی بر ژنومیک مدرن فرصتی عالی برای تشریح ژنتیکی صفات کیفی پیچیده برای تسریع توسعه ارقام با استفاده از روش‌های اصلاح مولکولی فراهم می‌کنند. اگرچه تحقیقات زیادی در زمینه تجزیه QTL بر روی گندم انجام شده است، ولی تعداد اندکی مطالعه فقط روی صفات مربوط به کیفیت دانه گندم دوروم انجام گرفته است، لذا هدف از این تحقیق، تعیین مکان QTLهای کنترل کننده صفات محتوی نشاسته و فیبر شوینده خنثی دانه در گندم دوروم، برآورد میزان تأثیر هر یک از آن‌ها روی صفت کمی و تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته با آن‌ها برای استفاده در گزینش به کمک نشانگر در نسل‌های اولیه برنامه‌های اصلاحی بود.

روش‌شناسی پژوهش

مواد گیاهی

در این مطالعه جمعیت F_{8-9} متشکل از ۱۱۸ رگه درون‌زاد نوترکیب گندم دوروم حاصل از تلاقی بین ژنوتیپ بومی "ایران-۲۴۹" با منشاء غرب ایران و رقم بومی "زردک" با منشاء کرمانشاه مورد ارزیابی قرار گرفت.

آزمایشات مزرعه‌ای

ارزیابی‌های کیفی جمعیت RILs به همراه دو والد طی دو فصل زراعی متوالی ۱۳۹۳-۱۳۹۲ (Aci14) و ۱۳۹۴-۱۳۹۳ (Aci15) در مزرعه آموزشی مرکز تحقیقات ژنومیک و بیوانفورماتیک

1 Near Isogenic Lines
2 Recombinant Inbred Line
3 Biofortification

CREA، آچیرالـه[1] ایتالیـا تحـت شـرایط دیـم در قالـب طـرح بلوک‌های کامل تصـادفی بـا سـه تکـرار انجـام شـد. واحـدهای آزمایشی شامل دو خط کاشت به طول یک متر و فاصله هر خـط ۲۵ سانتی‌متر بود. آزمایش‌هـا بـا پیـروی از شـیوه‌های اسـتاندارد زراعی انجام و علف‌های هرز بـه روش شـیمیایی کنتـرل شـدند. موقعیت جغرافیـایی و شـرایط آب و هـوایی در محیط‌هـای مـورد آزمایش در جدول ۱ آمده است.

تجزیه و تحلیل محتوی نشاسته و فیبر شوینده خنثی

برای انـدازه‌گیری فیبـر شـوینده خنثـی (NDF)[1] براسـاس مـاده خشک دانه در رگه‌های درون‌زاد حاصل از تلاقـی ایـران-۲۴۹ × زردک، از هر رگه ۲۰ گرم بذر جدا کرده و توسط دسـتگاه تجزیـه فوق سریع NIR[2] مدل DA7250 ساخت کشور سوئد مقدار فیبـر شوینده خنثی تعیین گردید.

برای اندازه‌گیری محتـوی نشاسـته دانـه (GSC)[3] پـنج گـرم نمونه بذر آسیاب در داخل لوله فـالکون ریختـه شـد و اتـانول ۸۰ درصد به نمونه‌ی آرد اضافه شده و محلول به‌دست آمده سانترفیوژ گردید (۳۰۰ دور در دقیقه)، سپس گلوکز حل شـده در اتـانول دور ریخته شد و نشاسـته موجـود در نمونـه توسـط اسـید پرکلریـک استحصال گردید. در ادامه، ماده انترون ($C_{14}H_{10}O$) بـه لولـه‌های آزمایش شیشه‌ای که دارای عصاره نمونه بودند اضافه گردید و در آب جوش با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سـپس محتوی نشاسته در عصاره به‌دست آمده به‌وسیله‌ی اسپکتروفتومتر در طـول مـوج ۶۳۰ نـانومتر انـدازه‌گیری شـد (Noori and Taliman, 2022).

تجزیه QTL

به منظور مکان‌یابی QTLها از نقشه ژنتیکی ایجـاد شـده توسـط زارعی (Zarei, 2011) با ۶۹ نشانگر SSR توزیـع شـده در ژنـوم هاپلویید گندم دوروم بر اساس نسـل F_6 جمعیـت مـورد بررسـی، استفاده شـد، طـول نقشـه ایجـاد شـده ۹۱۳/۵ سـانتی‌مورگـان و میانگین فاصله نشانگرها برابر با ۱۳/۱۶سانتی‌مورگان بود. تجزیـه QTL با استفاده از نرم‌افـزار QGENE انجـام شـد (Joehanes and Nelson, 2008) برای هر صفت بـا اسـتفاده از مکان‌یـابی فاصله‌ای مرکـب فراگیـر (ICMI)[4] (Sen and Churchill, 2001)، انتخـاب اتوماتیـک سـه فـاکتور و بـه دنبـال آن بررسـی محـل کوفاکتورها به‌صورت دستی برای شناسایی مناطق ژنومی که تأثیر قابل توجهی بر صفات داشـتند، انجـام شـد، ایـن روش تجزیـه و تحلیل، نشانگرهای خارج از بازه را به‌عنوان عوامل کوفاکتوری در نظر می‌گیرد که می‌تواند در تخمین اثر QTL در بازه مفیـد باشـد (Zeng, 1994). موقعیت و تأثیر QTLهای با میزان LOD ≥ ۳ ثبـت گردیـد. از نرم‌افـزار QTL Network Ver 2.1 بـرای شناسایی QTLهای با اثر اپیستاتیک، افزایشی و اثر متقابل QTL و محیط استفاده شد (Darvasi and Soller, 1997).

یافته‌های پژوهش

نقشه ژنتیکی مورد استفاده

نقشـه ژنتیکـی ایجـاد شـده توسـط زارعـی (Zarei, 2011) بـا داده‌های ژنوتیپی مربوط به ۶۹ جایگاه نشانگر SSR توزیـع شـده در ژنوم گندم دوروم، مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

شناسایی و مکان‌یابی QTLهای کنترل کننـده محتـوی نشاسته و فیبر شوینده خنثی

در این پژوهش برای دو صفت اندازه‌گیری شده محتوی نشاسته دانـه (GSC) و فیبـر شـوینده خنثـی (NDF) در مجمـوع شـش QTL شناسایی شد.

محتوی نشاسته دانه (GSC)

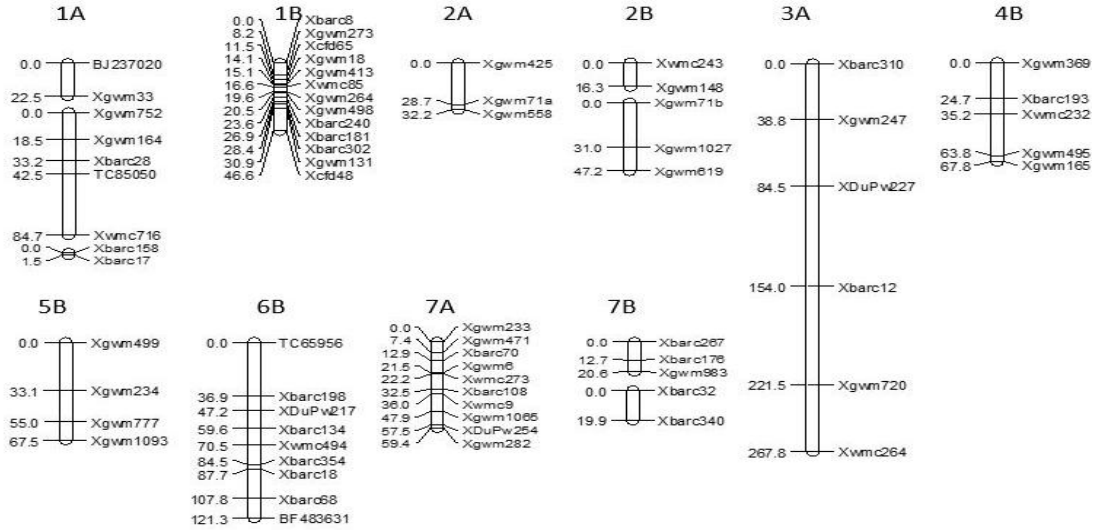
برای صفت محتوی نشاسته دانه سه QTL در محیط آچیرالـه ۱۳۹۳ بر روی کروموزوم 7A و یک QTL در محیط آچیراله ۱۳۹۴ بـر روی کروموزوم 4B شناسایی شد (جدول ۲) کـه بـه ترتیـب ۱۳/۳، ۱۲/۷، ۱۲/۴ و ۱۴/۲ درصد واریانس فنوتیپی را توجیـه نمودنـد. QTLهـای XGWM233 و XGWM471 در محیط آچیراله ۱۳۹۳ دارای اثـر افزایشی منفی و XDUPW254 دارای اثر افزایشی مثبت بودند.

1 Acireale

1. Neutral detergent fiber
2. Near Infrared
3. Grain Starch Content
4. Inclusive Composite Interval Mapping

جدول ۱. مختصات جغرافیایی و شرایط آب و هوایی محیط‌های مورد آزمایش

منطقه مورد آزمایش	مختصات جغرافیایی	تاریخ کشت	تراکم کشت	دما			میانگین بارندگی
				میانگین دما	میانگین حداقل دما	میانگین حداکثر دما	
Aci14	۳۷,۵۲ ،۱۴,۵۷	۱۷ دسامبر	$370/M^2$	۱۲/۹	۶/۱	۱۹/۷	۳۲۷ mm
Aci15	۳۷,۵۲ ،۱۴,۵۷	۲۲ دسامبر	$370/M^2$	۹	۶/۲	۲۰	۳۳۵ mm



شکل ۱. نقشه پیوستگی ایجاد شده با استفاده از ۶۹ جایگاه نشانگر SSR در جمعیت گندم دوروم حاصل از تلاقی ایران-۲۴۹ × زردک

در محیط آچیراله ۱۳۹۴، QTL با نام XBARC193 دارای اثر افزایش مثبت بود. در مطالعه‌ای شناسایی QTLها برای محتوی پروتئین و محتوی نشاسته بر روی جمعیتی شامل ۱۸۲ RIL گندم، چهار QTL برای محتوی نشاسته دانه بر روی کروموزوم‌های 2A، 4A، 7A و 4B شناسایی شد (Deng *et al*., 2014). در مطالعه‌ای بر روی رگه‌های درون‌زاد گندم دوروم دو QTL بر روی کروموزوم‌های 7A و 4B مکان‌یابی شد که به ترتیب ۱۰/۵ و ۱۰/۱ درصد واریانس فنوتیپی را توجیه کردند (Naseri, 2023). نتایج این محققین می‌توانند تأیید کننده اهمیت نواحی ژنومی مستقر بر روی کروموزوم‌های 4B و 7A در تعیین محتوی نشاسته دانه باشد که در مطالعه حاضر نیز شناسایی شدند. مک کارتنی و همکاران (McCartney *et al*., 2006) دو QTL را برای محتوی نشاسته دانه گندم دوروم بر روی کروموزوم‌های 4A و 4B شناسایی کردند که به ترتیب ۹/۶ و ۱۱/۳ درصد واریانس فنوتیپی را توجیه نمودند. با این حال، وجود QTL برای محتوی نشاسته بر روی کروموزوم‌های 4B و 7A در مطالعه حاضر با نتایج مطالعات سایر محققین همخوانی داشت.

فیبر شوینده خنثی (NDF)

برای صفت فیبر شوینده خنثی یک QTL در محیط آچیراله ۱۳۹۳ بر روی کروموزوم 6B و یک QTL در محیط آچیراله ۱۳۹۴ بر روی کروموزوم 7A شناسایی شد (جدول ۲) که به ترتیب ۱۳/۳ و ۱۱/۳ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه نمودند. QTLهای XBARC68 و XDUPW254 به ترتیب در محیط‌های آچیراله ۱۳۹۳ و آچیراله ۱۳۹۴دارای اثر افزایشی منفی بودند. در مطالعه‌ای از ۱۸۵ توده گندم تتراپلوئید برای شناسایی نوکلئوتیدهای صفت کمی (QTNs) مرتبط با ترکیب زیست توده از جمله محتوی فیبر شوینده خنثی استفاده شد. نتایج منجر به شناسایی چهار QTN برای صفت محتوی فیبر شوینده خنثی بر روی کروموزوم‌های 2A، 4B و 7A شد که فقط یک QTN (Q.NDF-4B.1) دارای اثر اصلی معرفی شد، درحالی‌که بقیه

به‌عنوان موارد با اثر جزئی بودند (Esposito *et al*., 2022). نتایج مطالعه حاضر و نتایج مطالعه Esposito *et al*., (2022) می‌توانند تأیید کننده اهمیت نواحی ژنومی مستقر بر روی کروموزوم‌های 7A در تعیین فیبر شوینده خنثی باشد.

اثرات متقابل QTL × محیط و اپیستازی QTLها

یکی از مشکلات عمده در تجزیه QTL در برنامه‌های به‌نژادی، شناسایی QTLهای ناپایدار در شرایط محیطی مختلف است. QTLهایی که فقط در یک محیط شناسایی می‌شوند اما در محیطی دیگر تکرار نمی‌شوند، ممکن است اثر متقابل QTL× محیط را نشان دهند. تخمین سهم اثر متقابل QTL× محیط در تنوع فنوتیپی، با مقایسه QTLهای شناسایی شده در چندین محیط به سادگی امکان‌پذیر نمی‌باشد. در این مطالعه برآورد تعاملات QTL و محیط به روش MCIM[1] انجام شد و اثر متقابل و اپیستازی بین QTLها و بین QTL و محیط شناسایی نشد. البته اثر متقابل QTL × محیط برای بسیاری از صفات مهم محصولات زراعی گزارش شده است (Zhou *et al*., 2017). اپیستازی یا برهمکنش بین ژن‌های غیر آللی و اثرات متقابل بین QTLها با محیط به‌عنوان کمک‌کننده به کنترل ژنتیکی صفات کمی شناخته شده است (Würschum *et al*., 2011; Yang *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری

تجزیه QTL برای صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر منجر به شناسایی شش عدد QTL برای صفات مورد مطالعه شد. QTLهای شناسایی شده در این مطالعه، همراه با نشانگرهای مرتبط با آن‌ها، ممکن است ابزارهای مفیدی برای بهبود کیفیت در برنامه‌های اصلاحی گندم دوروم برای خصوصیات کیفی از جمله محتوی نشاسته دانه و فیبر شوینده خنثی برای پاسخگویی به تقاضای مصرف کننده و توسعه ژنوتیپ‌های غنی شده برای بهبود مشکلات ناشی از سوء تغذیه ارائه کنند. به‌طور کلی، شناسایی و مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با خصوصیات کیفی دانه می‌تواند فرصتی را برای بهبود این صفات از طریق انتخاب به کمک نشانگر فراهم کند. همچنین این نتایج می‌تواند پایه و زمینه‌ای برای شناسایی ژن‌های کاندید و شبیه‌سازی مبتنی بر نقشه و تأیید عملکرد QTL ایجاد کند. همچنین نتایج حاصل QTLهایی با پتانسیل اصلاحی بالا همراه با نشانگرهای مرتبطی که برای مکان‌یابی دقیق و به‌نژادی مولکولی مفید می‌باشند ارائه می‌نمایند.

جدول ۲. مشخصات QTLهای شناسایی شده برای صفات محتوی نشاسته و فیبر شوینده خنثی در جمعیت ایران-۲۴۹× زردک

صفت	نام QTL	محیط	POS	کروموزوم	موقعیت	LOD	درصد واریانس	اثر افزایشی	نشانگرهای مجاور
GSC	XGWM233	Aci14	۱۲	7A	۲	۳/۶۵	۱۳/۳	-۰/۰۲۵	XGWM233-XGWM471
GSC	XGWM471	Aci14	۱۲	7A	۴	۳/۴۷	۱۲/۷	-۰/۰۲۵	XGWM233-XBARC70
GSC	XDUPW254	Aci14	۱۲	7A	۵۶	۳/۴۰	۱۲/۴	۰/۰۲۵	XGWM1065-XGWM282
GSC	XBARC193	Aci15	۹	4B	۲۴	۳/۹۲	۱۴/۲	۰/۰۶۶	XGWM369-XWMC233
NDF	XBARC68	Aci14	۱۱	6B	۱۰۸	۳/۶۶	۱۳/۳	-۰/۷۴۱	XBARC18-BF483631
NDF	XDUPW254	Aci15	۱۲	7A	۵۴	۳/۰۷	۱۱/۳	-۰/۹۹۲	XGWM1065-XGWM282

GSC: محتوی نشاسته دانه، NDF: فیبر شوینده خنثی، POS: موقعیت (cM)، Aci14: آچیراله ۱۳۹۳، Aci15: آچیراله ۱۳۹۴

References

Abumhadi, N., Kamenarova, K., Todorovska, E., Dimov, G., Trifonova, A., Gecheff, K. & Atanassov, A. (2005). Callus induction and plant regeneration from barley mature embryos (*Hordeum vulgare* L.). *Biotechnology and Biotechnology Equipment*, 19 (3), 32-38.

Anjum, F.M., Khan, M.R., Din, A., Saeed, M, Pasha, I., & Arshad, M.U. (2007). Wheat gluten: high molecular weight glutenin subunits–structure, genetics, and relation to dough elasticity. *Journal of Food Science*, 72 (3), 56-63.

Barnett, K. & Harder, S. (2014). Remedies in Australian private law: *Cambridge University* Press.

Colasuonno, P., Marcotuli, I., Gadaleta, A., & Soriano, J.M. (2021). From genetic maps to QTL cloning: an overview for durum wheat. *Plants*, 10 (2), 315-326.

Darvasi, A. & Soller, M. (1997). A simple method to calculate resolving power and confidence interval of QTL map location. *Genetics*, 27, 125-132.

Deng, Z., Tian, J., Chen, F., Li, W., Zheng, F. & Chen, J. (2014). Genetic dissection on wheat flour quality traits in two related populations. *Euphytica*, 1-15.

Esposito, S., Taranto, F., Vitale, P., Ficco, D.B., Colecchia, S.A., Stevanato, P. & De Vita, P. (2022). Unlocking the molecular basis of wheat straw composition and morphological traits through multi-locus GWAS. *BMC Plant Biology*, 22, 519-538.

Fan, X., Liu, X., Feng, B., Zhou, Q., Deng, G., Long, H., Cao, J., Gou, Sh., Ji, G., Xu, Z.H. & Wang, T. (2022). Construction of a novel Wheat 55 K SNP array-derived genetic map and its utilization in QTL mapping for grain yield and quality related traits. *Frontiers of Genetics*, 1- 14.

Gupta, P.K., Langridge, P., & Mir, R.R. (2010). Marker-assisted wheat breeding: present status and future possibilities. *Molecular Breeding*, 26, 145-161.

International Grains Council (IGC). (2020). World grain statistics 2016 [Online]. Available: 1051 https://www.igc.int/en/subscriptions/subscription.aspx [Accessed 05/21/2020].

Joehanes, R. & Nelson, J. (2008). QGene 4.0, an extensible Java QTL-analysis platform. *Bioinformatics*, 24 (23), 2788-2789.

Krishnappa, G., Singh, A.M., Chaudhary, S., Ahlawat, A.K., Singh, S. K., Shukla, R.B., Jaiswal, J.P., Singh, G. & Solanki, I, S. (2017). Molecular mapping of the grain iron and zinc concentration, protein content and thousand kernel weight in wheat (*Triticum aestivum* L.). *PLoS ONE*, 12 (4), 1-17.

Lewin, H. A., Larkin, D. M., Pontius, J. & O'Brien, S. J. (2009). Every genome sequence needs a good map. *Genome Research*, 19, 1925-1928.

Liu, H., Able, A. J. & Able, J.A. (2019). Genotypic performance of Australian durum under single and combined water-deficit and heat stress during reproduction. *Scientific Report*, 9, 14986.

Liu, Y., Tao, Y., Wang, Z., Guo, Q., Wu, F. & Yang, X. (2018). Identification of QTL for flag leaf length in common wheat and their pleiotropic effects. *Molecular Breeding*, 38 (1), 1-11.

Maccaferri, M., Sanguineti, M.C., Demontis, A., El-Ahmed, A., Garcı´a del Moral, L., Maalouf, F., Rhouma, S., Royo, C., Villegas, D. & Tuberosa, R. (2011). Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. *Journal of Experimental Botany*, 62, 409-438.

Majzoobi, M., Radi, M., Farahnaki, A., Jamalian, J. & Mesbahi, G. (2008). Effect of ascorbic acid on functional properties of wheat starch. *Advances in Food and Nutrition Research*, 58, 1-31.

Majzoobi, M., Sabery, B., Farahnaky, A. & Karrila, T.T. (2012). Physicochemical properties of cross-linked-annealed wheat starch. *Iranian Polymer Journal*, 21, 513-22.

McCartney, C. Somers, A., Lukow, D.J., Ames, O., Noll, N., Cloutier, J.S., Humphreys, D.G. & McCallum, B.D. (2006). QTL analysis of quality traits in the spring wheat cross L4452 x AC domain. *Plant Breeding*, 125, 565-575.

Mulualem, T. & Bekeko, Z. (2016). Advances in Quantitative Trait Loci, Mapping and Importance of Markers Assisted Selection in Plant Breeding Research. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 10 (2), 58- 68.

Nachit, M.M., Elouafi, I., Pagnotta, M.A., El Saleh, A., Lacono, E. & Labhilili M. (2001). Molecular linkage map for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. durum). *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 177-186.

Naseri, R. (2023). Identification and localization of chemical compounds QTLs of durum wheat grain (Ph.D. Thesis). *Razi University*.

Noori, M. & Taliman, N.A. (2022). Effect of drought stress and chemical fertilizers on wheat productivity and grain quality, *Plant Production and Genetics*, 3(1), 43-56.

Oba, M. & Allen, M.S. (1999) Evaluation of the importance of NDF digestibility: Effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82(3), 589-596.

OECD; FAO. (2022). OECD-FAO Agricultural Outlook 2022–2031; OECD: Paris, France.

Sen, S. & Churchill, G. A. (2001). A statistical framework for quantitative trait mapping. *Genetics*, 159, 371-387.

Soriano, J.M., Colasuonno, P., Marcotuli, I. & Gadaleta, A. (2021). Meta-QTL analysis and identifcation of candidate genes for quality, abiotic and biotic stress in durum wheat. *Scientifics Reports*, 11, 1-17.

Tester, R.F., Karkalas, J. & Qi, X. (2004). Starch-composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39,151-65.

Wang, Y., Xu, X., Hao, Y., Zhang, Y., Liu, Y. & Pu, Z. (2021). QTL mapping for grain zinc and

iron concentrations in bread wheat. *Frontiers of Nutrition*, 8, 1- 11.

Würschum, T., Maurer, H.P., Schulz, B., Möhring, J. & Reif, J.C. (2011). Genome-wide association mapping reveals epistasis and genetic interaction networks in sugar beet. *Theoretical and Applied Genetics*, 123, 109-118.

Yang, Z., Jin, L., Zhu, H., Wang, S., Zhang, G. & Liu, G. (2018). Analysis of Epistasis among QTLs on Heading Date based on Single Segment Substitution Lines in Rice. *Scientific Reports*, 8, 3059.

Zarei, L. (2011). Mapping QTLs related to drought tolerance in durum wheat (*Triticum turgidum* var durum. (Ph.D. Thesis). *Razi University*.

Zeng, Z. B. 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*, 136 (4), 1457-68.

Zhang, S., Ghatak, A., Bazargani, M.M., Bajaj, P., Varshney, R.K. & Chaturvedi, P. (2021). Spatial distribution of proteins and metabolites in developing wheat grain and their differential regulatory response during the grain filling process. *Plant Journal*, 107 (3), 669-687.

Zhou, Y., Conway, B., Miller, D., Marshall, D., Cooper, A., Murphy, P. & Costa, J. (2017). Quantitative trait loci mapping for spike characteristics in hexaploid wheat. *The Plant Genome*, 10 (2), 1-16.