

اشباع نقشه ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات با استفاده از خانواده‌های F₃ حاصل از تلاقی بادیا×کویر

سمیرا بختیاری‌بستاکی^۱، حسین صبوری^{۲*}، مهدی ملاشاهی^۳، حسین حسینی‌مقدم^۳

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۱۰/۲۳)

Saturation of genetic map and locating of (QTLs) related to Traits Using F₃ Families Caused Badia×Kavir cross

Samira Bakhtiari^{1*}, Hossein Sabouri², Mehdi Mollashahi³, Hossein Hosseini Moghaddam³

1. M.Sc. in Agricultural Biotechnology, University of Gonbad-Kavoos, Iran.

2. Associate Professor, Department of Plant Production, University of Gonbad-Kavoos, Iran.

3. Assistant Professor, Department of Plant Production, University of Gonbad-Kavoos, Iran.

(Received: Jun. 5, 2018 - Accepted: Jan. 13, 2019)

Abstract

Barley (*Hordeum vulgare* L.) is a model plant for genetical and physiological studies and has a high adaptability to different conditions. In order to locate QTL, the genomic areas controlling barley agronomic traits under experimental conditions were conducted in 104 families with their parents (Badia and Kavir) in the Research Farm of Gonbad-e-Kavous College in 2013-2014. Agronomic traits such as biomass, spike weight, spike number, spike length, grain yield, peduncle length, stem diameter, flag leaf length, flag leaf width, flag leaf weight, grain numbers, grain weight, and awn length for all families were measured. For the saturation of map, 19 (93 alleles), the ISSR marker used that assigned to 7 groups of attachment to 7 chromosomes with a genome length of 617.5 cM and the average between markers equal to 5.41 cM Morgan. A total of 21 locations with QTL were identified for the agronomic traits. Thirteen major effect QTLs that controlled a large proportion of phenotypic variation were identified. Major QTLs The effects of controlling the desired attributes and their linked markers can be used in selection programs using the marker.

Keywords: Agronomic traits, Barley, ISSR markers, QTL.

چکیده

جو (*L. vulgare Hordeum*) یک گیاه مدل برای پژوهش‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی بوده و سازگاری بالایی به شرایط مختلف نشان می‌دهد. به منظور مکان‌یابی QTL‌های ژنومی کنترل‌کننده صفات زراعی جو آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۶ - ۱۳۹۵ با ۱۰۴ خانواده به همراه والدین آنها (بادیا و کویر) در مزرعه تحقیقاتی دانشکده گنبدکاووس در قالب طرح اگمنت اجرا گردید. بیوماس، وزن سنبله، تعداد سنبله، طول سنبله، عملکرد دانه، طول پدانکل، قطر ساقه، طول پرچم، عرض پرچم، وزن پرچم، تعداد دانه، وزن دانه، طول ریشک برای کلیه خانواده‌ها اندازه‌گیری شد. برای اشباع نقشه پیوستگی از ۱۹ نشانگر ISSR (در مجموع ۹۳ آلل) در ۷ گروه پیوستگی متعلق به ۷ کروموزوم جو با سانتی‌مورگانی برابر با ۶۱۷/۵ و فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵/۴۱ سانتی‌مورگان منتسب شد. برای صفات زراعی مورد بررسی در مجموع ۲۱ جایگاه واجد QTL مکان‌یابی گردید. برای تعداد خوشه، پنج QTL روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۵ و ۷، برای طول سنبله دو QTL روی کروموزوم‌های ۴ و ۷، برای طول پدانکل در کروموزوم ۳، برای قطر ساقه دو QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۶، برای طول پرچم با سه QTL روی کروموزوم‌های ۳ و ۴ و همچنین برای طول ریشک یک QTL بزرگ اثر ردیابی شد. QTL‌های بزرگ اثر کنترل‌کننده صفات موردنظر و نشانگرهای پیوسته با آنها می‌توانند در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: صفات زراعی، جو، ISSR، QTL.

مقدمه

جو با نام علمی *Hordeum vulgare* L گیاهی زراعی دیپلوئید با $2n=2x=14$ کروموزوم می‌باشد (Germán *et al.*, 2000). زراعت جو در اکثر کشورهای تولیدکننده آن سابقه بسیار طولانی دارد و از زمان‌های خیلی گذشته دانه آن علاوه بر آنکه در تغذیه انسان مورد مصرف داشته، در فن‌ادی‌ها مورد استفاده و از مالت آن نیز در صنعت و داروسازی استفاده می‌شود (Khodarahmi *et al.*, 2015). یکی از اهداف عمده اصلاح جو افزایش عملکرد دانه است. عملکرد دانه در جو بخش اقتصادی گیاه است که بر حسب مقدار دانه یا ماده خشک در واحد سطح اندازه‌گیری می‌شود. عملکرد دانه جو حاصل ضرب اجزای عملکرد یعنی تعداد دانه در سنبله، تعداد سنبله در واحد سطح و وزن دانه است (Zhu *et al.*, 1999). بنابراین یکی از روش‌های افزایش عملکرد می‌تواند بر اساس بهبود اجزای آن باشد. به دلیل اینکه عملکرد و صفات زراعی به وفور در برنامه‌های اصلاحی جو مورد استفاده و ارزیابی قرار می‌گیرند، شناسایی نشانگرهای مرتبط با این صفات می‌تواند ایجاد ارقام جدید جو را تسریع کند و کارایی گزینش را تا حدی افزایش دهد (Pauli *et al.*, 2014). فن‌آوری نشانگرهای مولکولی در طی چند دهه اخیر تحول بزرگی را در تجزیه ژنتیکی گیاهان زراعی ایجاد کرده است (Michelmore *et al.*, 1991). تا کنون تحقیقات بسیاری با هدف کسب اطلاعات در خصوص مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مهم زراعی به اجرا در آمده است (Eshghi *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2006; Marquez-Cedillo *et al.*, 2001; Saal *et al.*, 2011; Xue *et al.*, 2010). شناخت و بررسی خصوصیات زراعی گیاه جو و تعیین اهمیت هر یک از آن‌ها برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی از اهمیت خاصی برخوردار است. عملکرد و اجزای آن صفات کمی و پیچیده هستند که توسط تعداد

زیادی ژن کنترل می‌گردند و شدیداً تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند (Baum *et al.*, 2003; Karimi *et al.*, 1993; Moadab Shabestarim *et al.*, 1990).

نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات چند ژنی یا کمی که ممکن است شامل یک یا چند ژن پیوسته باشند، به نام مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) نامیده می‌شوند (Wu and Li, 1996). هم‌اکنون، به‌نژادگران نبات در پی کسب اطلاعات در خصوص مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) بوده تا با دستکاری آنها، صفت مربوط را بهبود بخشند. برای رسیدن به چنین هدفی باید تعدادی نشانگر ژنتیکی که به خوبی در طول ژنوم مربوط توزیع شده‌اند، شناسایی گردند (Mohammadi and Baum, 2008). وقتی که نشانگرها در مجاورت یک QTL قرار بگیرند، آنگاه انتخاب بر اساس نشانگر (MAS)^۱، انتخاب بر اساس ژنوتیپ خواهد بود و پاسخ به انتخاب به حداکثر خواهد رسید (Dudley, 1993; Long *et al.*, 2008). براساس اطلاعات حاصل از QTLها، تلاقی‌ها طراحی شده و احتمال تجمع عمده QTLهای مطلوب در ژنوتیپ‌ها به حداکثر می‌رسد (Cardinal *et al.*, 2003; Collard and Mackill, 2008). استفاده از نشانگرهای SSR در جو نشان داد ۲۱ ناحیه کروموزومی با صفات عملکرد، ارتفاع و پایداری عملکرد ارتباط دارند (Inostroza *et al.*, 2009). Bagherzadeh و همکاران (2007)، با مطالعه ۹۰ جمعیت F₃ در گیاه جو، برای هفت صفت زراعی، ۲۸ عدد QTL شناسایی کردند و واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها از ۱۲/۵ تا ۴۸/۹ درصد متغیر بود. مطالعه Rahimi و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد که صفت ارتفاع بوته به

1. Marker assisted selection

پوشش قرار گرفت و برای هر یک از صفات ارتفاع بوته، عملکرد سنبله، وزن هزار دانه، بین یک تا هفت QTL مشخص شد. شایان ذکر است که تعداد زیادی از این QTLها با QTLهایی که قبلاً شناخته شده بود هم پوشانی داشتند (Helsingin, 2000). Narjesi و همکاران (2015) به منظور شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات زراعی، عملکرد و اجزای عملکرد، ۱۷۹ جمعیت اینبرد لاین نوترکیب (RIL) گندم حاصل از تلاقی $\text{Attila/Kauz} \times \text{Karchia}$ در ۱۰ محیط (۵ محیط شور و ۵ محیط نرمال) با استفاده از ۱۰ نشانگر ریز ماهواره (SSR) و ۱۰۸ نشانگر (DArT)، دو QTL برای عملکرد بیولوژیکی در شرایط نرمال در کروموزوم‌های ۲B و ۷A شناسایی کردند که به ترتیب ۹ و ۶/۵ درصد از واریانس فنوتیپی مربوط به این صفت را توجیه نمود و دو QTL برای وزن سنبله در کروموزوم‌های ۲A و ۶B شناسایی کردند که به ترتیب ۱۲/۴ و ۶/۵ درصد از واریانس فنوتیپی صفت مربوط را توجیه نمود. از اهداف این پژوهش شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده (QTL) خصوصیات مرتبط با عملکرد و اجزا آن، تعیین سهم و نحوه اثر QTLهای شناسایی شده در تغییرات فنوتیپی صفات مورد نظر و تعیین وراثت پذیری صفات و سهم اثر افزایشی آل‌های والدینی برای QTLهای مکان‌یابی شده در جمعیت جو بود.

مواد و روش

مواد گیاهی و محل اجرای آزمایش

در این پژوهش ۱۰۴ خانواده به همراه دو والد بادیا \times کویر حاصل از تلاقی جمعیت نسل F3 در مزرعه تحقیقات دانشگاه گنبد کاووس کشت شدند. به منظور ارزیابی صفات زراعی مهم، خانواده‌ها در خطوط یک متری با فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی در قالب طرح اگمنت، در سال زراعی ۹۵ - ۹۶ کشت

وسيله چهار QTL روی کروموزوم ۳ کنترل می‌شود. همچنین Wang و همکاران (2014)، پنج QTL برای صفت ارتفاع بوته واقع بر کروموزوم ۳ شناسایی کردند. دو (QPedlg4H و QPedlgL2) برای طول پدانکل بر روی کروموزوم 4H و گروه لینکاژی ناشناخته L شناسایی شد (Ahmadi oj tapeh *et al.*, 1395). Wang و همکاران (2014) هفت QTL برای طول ریشک روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ و سه QTL برای صفت طول ریشک، ۳ شناسایی کردند. برای صفت طول ریشک، Wang و همکاران (2010)، سه QTL در موقعیت‌های MTP، FVRS و gh بر روی کروموزوم ۳ جو و همچنین Bagherzadeh و همکاران (2006) شش QTL روی کروموزوم ۱ و ۴ جو در دو منطقه karag و Mean شناسایی کردند. در مطالعه‌ای به منظور تعیین QTLهای جو با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف از جمله، نشانگر AFLP یک نقشه پیوستگی از کروموزوم (5H) تهیه شد. در این تحقیق با استفاده از ۳۹۸ نشانگر AFLP و با مطالعه توده حاصل از تلاقی ارقام Blenheim \times E22/3 یک نقشه ژنتیکی برای جو تهیه شد که در روی کروموزوم شماره 7H، ۴۳ نشانگر AFLP به ۱۹ نشانگر شناخته شده قبلی اضافه شد. تعدادی QTL برای صفات ارتفاع گیاه، عملکرد و وزن مخصوص در روی کروموزوم شماره 7H مشخص شد. در این مطالعه در مجموع نقشه ژنتیکی تهیه شده ۷۷۷ سانتی‌مورگان از ژنوم را تحت پوشش قرار داد (Powell *et al.*, 1997).

به منظور مطالعه QTLهای برخی صفات زراعی مهم در جو، یک نسل هاپلوئید مضاعف شده جو حاصل از تلاقی بین دو رقم جوی شش ردیفه (Botania \times Rolfi) مورد مطالعه قرار گرفت. برای تهیه نقشه لینکاژی در جو از نشانگر RAPD استفاده شد که نهایتاً ۶۵۴ سانتی‌مورگان از ژنوم تحت

ISSR در برنامه حرارتی تاج‌داون مطابق جدول ۳ قرار گرفت.

بارگیری و رنگ‌آمیزی محصولات PCR

۴ میکرولیتر از محصولات PCR همراه ۲ میکرولیتر محلول بارگذاری (day 6x) در چاهک‌های ژل الکتروفورز تزریق شد. پس از این مرحله دستگاه روشن و با شدت جریان و ولت متغیر تنظیم گردیدند. پس از پایان کار و شستشو ژل‌ها، از روش سریع نیترات نقره (An *et al.*, 2009; Byum *et al.*, 2009) برای رنگ‌آمیزی و بهتر نشان دادن باندها استفاده شد. در نهایت ژل در یخچال نگهداری شد و برای اسکووردهی استفاده گردید.

تجزیه‌های آماری و نرم‌افزارهای مورد استفاده

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار MapManager QTX17 (Manly and Olson, 1999) و برای رسم نقشه از نرم‌افزار Map Chart (Voorrips and Hered, 2002) و در نهایت برای پیدا کردن QTLها از Qgene (Nelson, 1997) استفاده شد.

شدند. بیوماس، وزن سنبله، تعداد سنبله، طول سنبله، وزن سنبله، عملکرد دانه و همچنین طول پدانکل، قطر ساقه، طول پرچم، عرض پرچم، وزن پرچم، تعداد دانه، وزن دانه، طول ریشک برای کلیه خانواده‌ها و والدین اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

استخراج DNA

برای ثبت ارزش فنوتیپی خانواده‌ها، ۲۰ بوته از هر خانواده به طور تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. DNA برگ‌های جو به روش CTAB (Saghi *et al.*, 1994) استخراج شد. تعیین کیفیت DNA با ژل آگارز ۰/۸٪ سنجیده شد.

تعیین ژنوتیپ خانواده‌های F₃

به منظور اشباع نقشه پیوستگی (Taghizadeh *et al.*, 1395) از ۱۹ نشانگر ISSR (در مجموع ۹۳ آلل)، جدول ۴ استفاده شد و روی نقشه نهایی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) مطابق جدول ۲ در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه DNA انجام پذیرفت و برای تکثیر جایگاه‌های

جدول ۱. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در دو والد بادیا و کویر

صفت	کویر	بادیا	اختلاف
وزن کل	۱۲۶/۳۷۸	۱۴۹/۰۷۷	۲۲/۶۹۹**
وزن کل سنبله	۳۴/۴۲۱	۵۱/۷۴۶	۱۷/۳۲۵**
تعداد سنبله	۳۴	۴۵	۱۱**
طول سنبله	۹۹	۱۱۰	۱۱**
عملکرد دانه	۴۳/۲۹۷	۶۳/۵۲۶	۲۰/۲۲۹**
طول پدانکل	۳	۶/۴۲	۳/۴۲**
قطر ساقه	۴/۱۰	۴/۴۸	۰/۳۸ns
طول پرچم	۱۱/۳	۹/۹	۱/۴**
عرض پرچم	۷	۵/۴	۲/۴**
وزن پرچم	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۱۲**
تعداد دانه	۳۴/۸	۳۶	۱/۲**
وزن دانه	۱/۳۴	۱/۸۲	۰/۴۸**
طول ریشک	۱۲/۳۶	۱۰/۴	۱/۹۶**
وزن هر سنبله	۱/۵۰	۱/۹۸	۰/۴۸*
تعداد دانه در سنبله	۴/۸۳	۶/۱۰	۱/۲۷**
وزن دانه در سنبله	۱۷۴	۱۸۰	۶*

جدول ۲. مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای نشانگر ISSR

Components	Concentration	Amount (μl)
Buffer PCR10X	1X	1
MgCl ₂	50 mM	0.48
dNTP	10 μl	0.6
Taq DNA Polymerase Enzyme		0.12
Primer	60 ng	1.5 μl
DNA diluted	0.75-0.5 ng	2.5 μl
H ₂ O		3.8 μl
the final content		10 μl

جدول ۳. برنامه حرارتی تاج داون برای تکثیر جایگاه‌های ISSR

Number of cycles	Time (minute) & (second)	Temperature (°C)	Step
1	5'	95	Primary denaturing
10	45"	95	Denaturing
	45"	-	Annealing
25	45"	72	Synthesis
	45"	95	Denaturing
	45"	-	Annealing
	45"	72	Synthesis
1	5'	72	Final duplication

جدول ۴. نشانگرهای ISSR مورد استفاده برای اشباع نقشه پیوستگی

Marker	Sequence
ISSR	
ISSR16	CTCTCTCTCTCTCTCTG
ISSR20	CTCTCTCTCTCTCTCT
ISSR22	CTCTCTCTCTCTCTCTT
ISSR29	TCTCTCTCTCTCTCTCA
ISSR30	GAGGAGAGAGAGAGAG
ISSR31	GAGAGAGAGAGAGAGA
ISSR38	GGAAGGAAGGAAGGAAGGAAT
ISSR47	CTCCTCCTCCTCCTCCTCG
ISSR48	ACACACACACACACACACTA

نتایج و بحث

مربوط به صفت طول سنبله (۳/۳۶۲۲۰۰) بود. نتایج بدست آمده، وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در بین ژنوتیپ‌ها برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی را نشان داد. Farahani and Arzan (۱۳۸۵) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و هیبریدهای F₁ گندم دوروم با استفاده از صفات زراعی و مورفولوژیک بیشترین ضریب تغییرات را مربوط به تعداد سنبله در واحد سطح با میزان ۱۳/۸۷ درصد و کمترین ضریب تغییرات را مربوط به تعداد روز تا رسیدگی با مقدار ۰/۴ درصد اعلام کردند. Barati و همکاران (۱۳۹۳)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان داد بین ژنوتیپ‌های جو برای صفات بیوماس و همچنین وزن کل رقم، تعداد کل خوشه، ارتفاع کل خوشه، وزن کل خوشه، طول پدانکل، قطر ساقه، طول پرچم، عرض پرچم، وزن پرچم، وزن دانه، تعداد دانه، طول ریشک در سطح احتمال یک درصد (P<۰/۰۱) و هم در سطح احتمال پنج درصد (P<۰/۰۵) اختلاف معنی دار وجود دارد. بیشترین میزان تنوع ضریب تغییرات مربوط به صفت تعداد دانه (۱۱۶/۹۱۹۰) و کمترین

در پژوهشی نشان دادند که برای صفات تعداد پنجه، تعداد گره، ارتفاع بوته، طول سنبله، طول ریشک، طول برگ پرچم، طول پدانکل، تعداد ردیف، تعداد سنبلچه، وزن هزار دانه و عملکرد در بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. نقشه پیوستگی تهیه شده بر اساس ۱۹ نشانگر ISSR (در مجموع ۹۳ آلل) روی ۱۰۴ خانواده جمعیت F_3 ، نشانگرها را به ۷ گروه پیوستگی متعلق به ۷ کروموزوم جو با طول نقشه بر اساس تابع کوزامبی (Kosambi, 1994) برابر با ۶۱۷/۵ سانتی‌مورگان و فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵/۴۱ سانتی‌مورگان منتسب کرد (شکل ۱). QTL‌های هشت صفت زراعی مورد بررسی در ۱۰۴ خانواده F_3 مورد مطالعه در جدول ۷ نشان داده شده است. در مجموع تعداد بیست و یک QTL شناسایی

شد. درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها برای صفات زراعی ۹/۲ تا ۱۸/۴ متغیر بود. کمترین و بیشترین LOD در دامنه ۲/۰۳۸ - ۴/۵۳۷ برای طول ریشک و طول پرچم بدست آمد. پنج QTL، برای تعداد سنبله روی گروه‌های پیوستگی شماره ۳، ۴ (دو مورد)، ۵ و ۷ ردیابی شد. qSN-3، qSN-4a، qSN-4b، qSN-5، qSN-7 به ترتیب در موقعیت‌های ۵۲،۲۶،۰،۶۸ و ۰ سانتی‌مورگان، نزدیک نشانگرهای ISSR31-5، ISSR31-6، ISSR22-5، ISSR30-3، ISSR48-1 قرار داشتند. برای طول سنبله، چهار QTL کنترل‌کننده (qSL-4a، qSL-4b، qSL-7a، qSL-7b)، روی کروموزوم‌های ۴ (دو مورد) و ۷ (دو مورد) به ترتیب در موقعیت‌های ۱۰۲، ۷۰،۰ و ۱۰۴ سانتی‌مورگان نزدیک نشانگرهای ISSR31-6، ISSR20-1، ISSR16-7، ISSR30-6 تعیین مکان گردید.

جدول ۵. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی بر روی خانواده‌های F_3 جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کویر

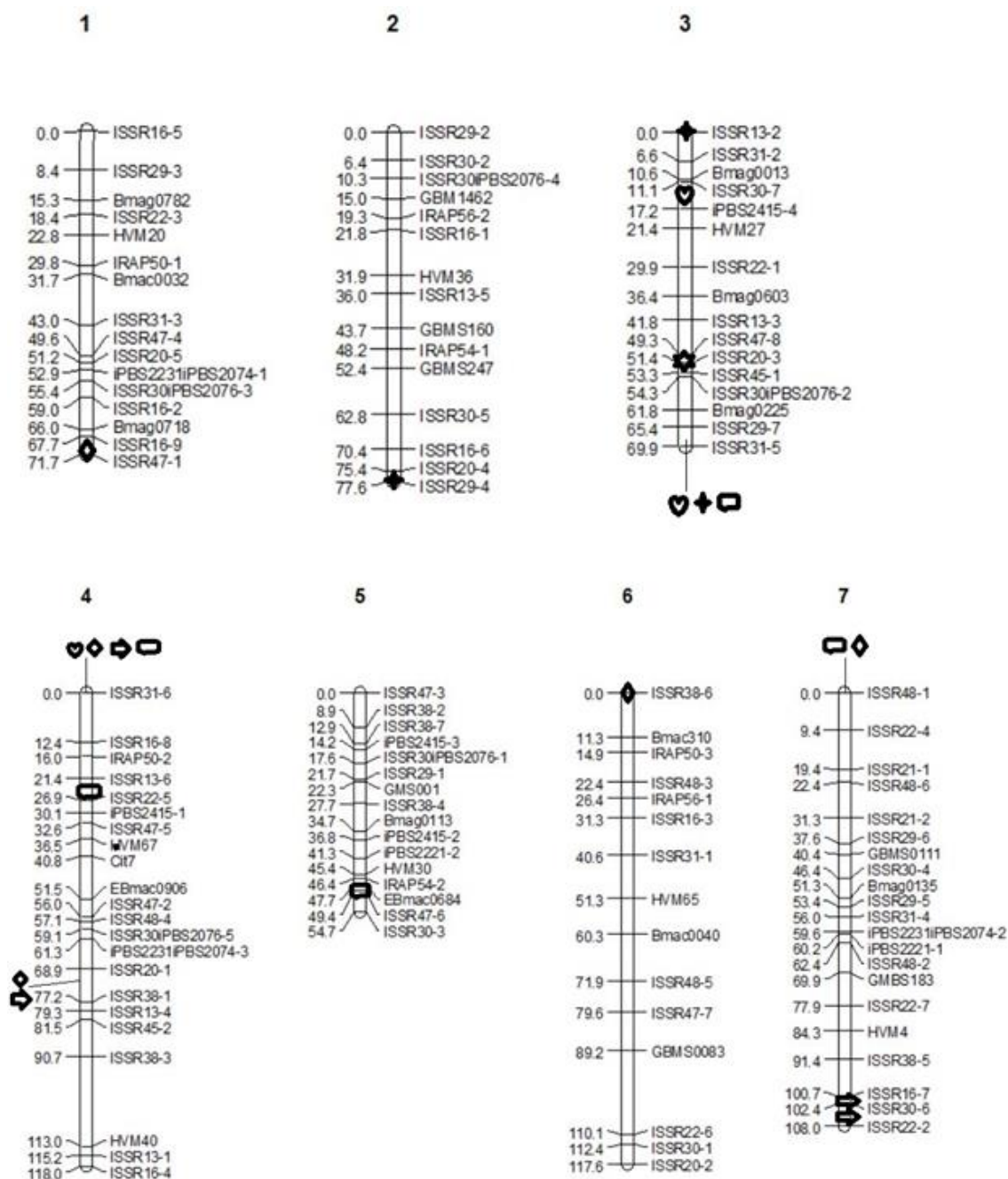
میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن سنبله	طول سنبله	تعداد سنبله	وزن کل		
۲۷/۷۰۳۹۲ns	۸/۵۳۶۴۵ns	۷/۸۳۳۳۳ns	۷۱۳۶/۳۳۴ns	۶	بلوک
۲۲۶/۰۵۰۰۷*	۸۴/۸۸۶۳۱*	۲۲۹/۵۲۷۳۱*	۸۹۸۵/۱۰۵۴*	۱۰۵	رقم
۲۲۳/۵۵۸۷۵*	۸۵/۳۹۲۳۸*	۲۳۶/۷۴۲۷۵*	۲۲۳۶/۱۰۷۳*	۹۹	تیمار
۹۵/۴۳۷۱۷	۱۰/۰۱۸۴۶	۱۲/۳۸۶۳۶	۲۲۳۵/۴۱۹	۲۲	خطا
۲۶/۵۵۲۴۹	۳/۳۶۲۲۰	۹/۸۲۵۲۲۶	۲۸/۰۶۹۳۳		ضریب تغییرات

ns، *، ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار.

ادامه جدول ۵. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی بر روی خانواده‌های F_3 جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کویر

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
تعداد دانه	وزن پرچم	عرض پرچم	طول پرچم	قطر ساقه	طول پدانکل		
۴/۸۳۵۸۳ns	۰/۰۰۰۳۲ns	۰/۰۶۷۲۹ns	۰/۲۴۸۴۱ns	۰/۲۰۳۱۲ns	۰/۲۴۷۳۴ns	۶	بلوک
۶۹/۷۸۸۶۸*	۰/۰۲۳۹۷*	۲/۰۲۳۶۹*	۴/۹۲۴۰۱*	۰/۵۶۰۰۲۸*	۳/۲۰۳۲۶*	۱۰۵	رقم
۷۱/۰۶۱۰۳*	۰/۰۲۴۰۹*	۲/۰۹۷۱۸*	۵/۰۰۳۳۳**	۰/۵۶۹۰۶**	۳/۲۴۵۰۳*	۹۹	تیمار
۱۵/۰۷۹۷۷	۰/۰۰۰۴۲	۰/۵۹۷۷۸	۱/۹۲۲۰۹	۰/۲۹۳۵۸	۰/۳۷۱۵۳	۲۲	خطا
۱۴/۹۱۰۲۰	۶۵/۸۱۴۱۶	۱۷/۰۲۱۱۸	۱۷/۸۰۹۶۴	۱۵/۴۲۴۷۶	۱۱/۰۰۲۸۱		ضریب تغییرات

ns، *، ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار.



شکل ۱. نقشه پیوستگی حاصل از تلاقی ارقام بادیا × کویر بر اساس ۱۹ نشانگر ISSR (۹۳ آلل)

(تقی زاده و همکاران، ۱۳۹۵)

● تعداد سنبله ◀ طول سنبله * طول پدانکل ♥ طول پرچم ✦ طول ریشک ◊ قطر ساقه

توجیه نمود. پنج جایگاه واجد QTL کنترل‌کننده قطر ساقه (qSD-1)، qSD-4a، qSD-4b، qSD-6، qSD-7) به ترتیب روی کروموزم‌های ۱، ۴، ۴، ۶ و ۷ در جایگاه‌های ۰، ۷۰، ۰، ۷۲، ۰ و ۰ سانتی‌مورگان نزدیک

در مکان‌یابی کنترل صفات زراعی، qPL-3 برای طول پدانکل، در موقعیت ۴۸ سانتی‌مورگان با فاصله نشانگرهای ISSR13-3-ISSR47-8 تعیین مکان گردید که ۹/۲ درصد از تنوع کل این صفت را

توانست جز QTL‌های بزرگ اثر در این صفت باشد. با توجه به نتایج واریانس به‌دست‌آمده، می‌توان خاطرنشان کرد تنوع ژنتیکی مطلوبی در بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد و می‌توان برای انجام برنامه‌های اصلاحی از آن بهره گرفت. بررسی نقشه پیوستگی به‌دست‌آمده نشان داد که توزیع نشانگرها بر روی گروه‌های پیوستگی به‌صورت یکنواخت نبوده و بیشترین تعداد نشانگر مربوط به گروه پیوستگی شماره‌های ۳ و ۴ و کمترین تعداد نشانگرها به گروه پیوستگی شماره‌های ۲، ۵ و ۶ تعلق دارند (جدول ۷). نظر به اینکه طول نقشه برابر با ۶۱۷/۵ سانتی‌مورگان و فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵/۴۱ سانتی‌مورگان بود، نقشه حاصل جهت مکان‌یابی ژن‌ها مناسب تشخیص داده شد (شکل ۱).

نشانگرهای ISSR20-1، ISSR31-6، ISSR47-1، ISSR38-6، ISSR48-1 تعیین مکان گردید. اثر افزایشی والد بادیا باعث افزایش قطر ساقه شد. ۱۲/۲، ۱۰/۵ نقش QTL‌های بزرگ اثر را داشتند. برای طول پرچم، سه QTL با توجیه ۱۱/۵، ۱۱/۸ و ۱۸/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت با نقش بزرگ اثر در نزدیکی نشانگرهای Bmag0013، ISSR31-5، ISSR31-6 به ترتیب در موقعیت‌های ۱۰، ۶۸ و ۰ شناسایی شدند. برای طول ریشک، سه QTL در گروه پیوستگی روی کروموزم‌های ۲ و ۳ (qRL-2aT، qRL-3a و qRL-3b)، به‌ترتیب در موقعیت‌های ۷۶، ۲ و ۶۸ ردیابی شد. در مجموع حدود ۲۹/۳ درصد از تنوع کل این صفت را توجیه نمودند. تنها ۱۱/۸ درصد

جدول ۶. QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی نسل F₃ حاصل از تلاقی بادیا × کویر در جو

صفت Trait	کیو تی ال QTL	کروموزم Chromosom	موقعیت position	مارکر Marker	لود LOD	اثر افزایشی Additive	ضریب تبیین R ²	جهت آل Allele direction
	qSN-3	۳	۶۸	ISSR29-7-ISSR31-5	۶۵۴/۲	۶۹۱/۵	۱۱/۲	کویر
	qSN-4a	۴	۰	ISSR31-6- ISSR16-8	۳۶۴/۳	۶۳۴/۶	۱۴	کویر
تعداد سنبله	qSN-4b	۴	۲۶	ISSR13-6-ISSR22-5	۵۳۴/۲	۴۹۱/۵-	۱۰/۷	بادیا
	qSN-5	۵	۵۲	ISSR47-6-ISSR30-3	۶۸۴/۲	۷۸۹/۲۱	۱۱/۳	کویر
	qSN-7	۷	۰	ISSR48-1-ISSR22-4	۴۹۸/۴	۰۱/۶-	۱۸/۲	بادیا
	qSL-4a	۴	۰	ISSR31-6- ISSR16-8	۹۲۶/۲	۶۱۸/۶	۱۲/۳	کویر
	qSL-4b	۴	۷۰	ISSR20-1-ISSR38-1	۶۱۷/۲	۴۷۸/۵-	۱۱	بادیا
طول سنبله	qSL-7a	۷	۱۰۲	ISSR16-7- ISSR30-6	۳۱۲/۲	۰۳۷/۴-	۹/۸	بادیا
	qSL-7b	۷	۱۰۴	ISSR30-6-ISSR22-2	۳۳۶/۲	۳۸۶/۵-	۹/۹	بادیا
طول پدانکل	qPL-3	۳	۴۸	ISSR13-3- ISSR47-8	۲/۱۵۸	-۰/۸۱۳	۹/۲	کویر
	qSD-1	۱	۷۰	ISSR16-9-ISSR47-1	۲/۹۱۱	-۰/۷۱۳	۱۲/۲	کویر
	qSD-4a	۴	۰	ISSR31-6- ISSR16-8	۲/۲۸۹	۰/۵۸۱	۹/۷	بادیا
	qSD-4b	۴	۷۲	ISSR20-1-ISSR38-1	۲/۲۴۰	-۰/۵۸۳	۹/۵	کویر
قطر ساقه	qSD-6	۶	۰	ISSR38-6-Bmac310	۲/۴۷۸	۰/۵۸۰	۱۰/۵	بادیا
	qSD-7	۷	۰	ISSR48-1-ISSR22-4	۰۴۱۸۲	-۰/۴۳۷	۸/۷	کویر
	qFL-3a	۳	۱۰	ISSR31-2- Bmag0013	۲/۷۴۵	-۰/۶۰۵	۱۱/۵	بادیا
	qFL-3b	۳	۶۸	ISSR29-7-ISSR31-5	۲/۸۰۶	۰/۹۴۹	۱۱/۸	کویر
طول پرچم	qFL-4	۴	۰	ISSR31-6- ISSR16-8	۴/۵۳۷	۱/۲۳۵	۱۸/۴	کویر
	qRL-2	۲	۷۶	ISSR20-4 - ISSR29-4	۲/۰۳۸	۱,۴۳۲-	۸/۷	بادیا
	qRL-3a	۳	۲	ISSR13-2 - ISSR31-2	۲/۰۷۲	-۱/۶۸۸	۸/۸	بادیا
طول ریشک	qRL-3b	۳	۶۸	ISSR29-7 - ISSR31-5	۲/۸۰۲	-۰/۷۰۷	۱۱/۸	بادیا

Baum و Mohamadi (2007) مطابقت داشت. (2007) در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Wi2291×Tadmor تعداد چهار QTL بر روی کروموزم‌های ۲، ۳، ۴ و ۶ در منطقه تل‌های دیا و تعداد سه QTL واقع بر کروموزم‌های ۳، ۴ و ۷ در منطقه بردا تشخیص داده شد. اثرات افزایشی برای QTL‌های کنترل‌کننده قطر ساقه (qSD-1، qSD-2، qSD-3، qSD-4a، qSD-4b، qSD-6، qSD-7) از والد بادیا باعث افزایش قطر ساقه شد. از بین سه QTL ردیابی شده برای طول پرچم یک QTL نقش کاهنده (از طرف والد بادیا) و دو QTL نقش افزایشنده (از طرف والد کویر) داشت.

QTL‌های ردیابی شده برای طول ریشک در مجموع حدود ۲۹/۳ درصد از تنوع کل این صفت را توجیه نمودند. qRL-3a و qRL-3b در سایر مطالعات نیز گزارش شدند (Sameri *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2010). Sameri و همکاران (2006) در بررسی مکان‌یابی صفات زراعی در جمعیت اینبرد لاین جو سه QTL برای طول ریشک شناسایی کردند که یکی از این QTL‌ها بر روی کروموزوم ۳H قرار داشت که ۷۶ درصد از واریانس فنوتیپی صفت مربوطه را توجیه کرد. همچنین Wang و همکاران (2010) به منظور شناسایی و نقشه‌یابی ژن کوتولگی در ۹۲ لاین دابل هاپلوئید جو یک QTL برای طول ریشک در کروموزوم ۳H شناسایی کردند که ۷۰ تا ۸۱ درصد از واریانس فنوتیپی صفت مربوطه را کنترل کرد. در آزمایشی به منظور مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی در ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب نسل F13 جو حاصل از تلاقی دو والد Kanto Nakate Gold × Azumamugi با استفاده از ۶۲ نشانگر AFLP، ۳۴ نشانگر STS، ۲ نشانگر ایزوزایم و ۲ نشانگر مورفولوژیک یک QTL برای وزن هزار دانه در فاصله نشانگرهای MWG503 و vrs1 با توجیه ۳۷ درصد از

در این مطالعه در مجموع ۲۱ جایگاه واجد QTL شناسایی گردید. برای تعداد خوشه، روی کروموزوم‌های ۳، ۴، ۵ و ۷ پنج QTL بزرگ اثر، طول سنبله روی کروموزوم‌های ۴ و ۷، دو QTL بزرگ اثر، طول پدانکل در کروموزوم ۳، قطر ساقه روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۶ و ۷ با دو QTL بزرگ اثر، طول پرچم با سه QTL بزرگ اثر روی کروموزوم‌های ۳ و ۴ و همچنین طول ریشک یک QTL بزرگ اثر ردیابی شد. در مجموع سیزده QTL بزرگ اثر که سهم زیادی از تنوع فنوتیپی صفت را کنترل می‌کردند، شناسایی شد. واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط QTL‌های ردیابی شده در این مطالعه بین ۹/۲ تا ۱۸/۴ متغیر بود که کمترین و بیشترین LOD متعلق به طول ریشک (۲/۰۳۸) و طول پرچم (۴/۵۳۷) بود. از بین پنج QTL، برای تعداد سنبله qSN-7 با توجیه ۱۸/۲ درصد بالاترین درصد تأثیرگذاری را بر صفت مذکور داشت. همچنین از بین چهار QTL برای طول سنبله qSL-4a با بیشترین LOD برابر با ۲/۹۲۶ روی کروموزوم ۴ به صوزا بزرگ اثر ردیابی شد.

Teulat و همکاران (2001a, 2001b) و Baum و همکاران (1996, 2003)، با بررسی دو جمعیت متشکل از والد‌های سازگار در شرایط مدیترانه‌ای، QTL‌هایی را روی کروموزوم‌های یک، سه، چهار و پنج و هفت برای صفت عملکرد دانه گزارش کردند. همچنین Hammam (2004) Mohammed، نیز حضور یک QTL کنترل‌کننده عملکرد دانه را روی کروموزوم شش گزارش کرد. نتایج این پژوهش برای این صفت با نتایج Teulat و همکاران (2001a, 2001b) و Baum و همکاران (1996, 2003) مطابق و با نتایج Hammam (2004) Mohammed هیچ مطابقتی نداشت. QTL ردیابی شده برای طول پدانکل (qPL-3) در این پژوهش با نتایج Baum و Mohamadi

شناسایی شدند (Shahinniya *et al.*, 1393).
 QTLهای بزرگ اثر کنترل‌کننده صفات مورد نظر و
 نشانگرهای پیوسته با آنها می‌توانند در برنامه‌های
 انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند.

تغییرات فنوتیپی ردیابی شد. همچنین دو QTL برای
 عملکرد دانه با توجیه ۱۰ و ۱۳ درصد از واریانس
 فنوتیپی این صفت در فاصله نشانگرهای e13m23.6 و
 e13m31.7.1 و نشانگرهای MWG503 و vrs1

REFERENCES

- Ahmadi Oj Tape H, Soltanlou H, Ramezanpour SS, Nagavi MR, Kalate Arabi M, Nikkhah HR, Uosefirad S (1395) Localization of QTLs conferring lodging resistance in barley recombinant inbred lines. *Journal of Genetics Novin* 12(2): 244-237.
- Bagherzadeh A, Taei AR, Naghavi MR (2007) QTL analysis for some agronomic traits in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Agric. Biol.* 2: 372-374.
- Basten CJ, Weir BS, Zeng ZB (1997) QTL Cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping. North Carolina state university, USA. P: 163.
- Baum M, Sayed H, Araus JL, Grando S, Ceccarelli S, Backes G, Molher V, Jahoor A, Fischbeck G (1996) QTL analysis of agronomic important characters for dryland conditions in barley. pp. 241-243. In: *Proceedings of the Vth IOC-VII IBGS Meeting*, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Baum M, Grando S, Bakes G, Jahoor A and Ceccarelli S (2003) QTLs for agronomic traits in the Mediterranean environments identified in recombinant inbred lines of the cross Arta×H. spontaneum. *Journal of Theoretical and Applied Genetics.* 107: 1215-1225.
- Cardinal AJ, Lee M, Moore KJ (2003) Genetic mapping and analysis of quantitative trait loci affecting fiber and lignin content in maize. *Theoretical & Applied Genetics* 106: 866-874.
- Collard BC, Mackill DJ (2008) Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 557-572.
- Dudley JW (1993) Molecular markers in plant improvement. *Crop Science* 33: 660-668.
- Eshghi R, Ojaghi J, Rahimi M, Salayeva S (2010) Genetic Characteristics of Grain Yield and its Components in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Under Normal and Drought Conditions. *American Eurasian J. Agric. Environ. Sci.* 9: 519-528.
- Germán S, Arbelbide M. Abadie T, Romero R, Peculio A (2000) Characterization of photoperiod response of barley genotypes from diverse origin. In: S. Logue (ed.), *Barley Genetics VIII*, 212-214, Vol. III-Contributed Papers. Department of Plant Science, Aderaide University, Glen Osmond.
- Hammam Mohammed KA (2004) Improving crop varieties of spring barley for drought and heat tolerance with AB-QTL analysis. Ph.D. Thesis. Institute für Pflanzenbau, Germany.
- Helsingin Y (2000) Genetic mapping of traits important in barley breeding. *Verkkojulkaisut, Helsinki*, 26: 318-326.
- Inostroza L, del Pozo A, Matus I, Castillo D, Hayes P, Machado S, Corey A. (2009) Association mapping of plant height, yield, and yield stability in recombinant chromosome substitution lines (RCSLs) using *Hordeum vulgare* subsp. spontaneum as a source of donor alleles in a *Hordeum vulgare* subsp. vulgare background. *Molecular Breeding* 23:365-376.
- Karimi M, Nekoei A (1993) Physiological indices and effective

- components of seed yield in wheat cultivars. First Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding. Karaj.
- Khodarahmi MA, Amini R (1996) Study of the correlation of traits and causality analysis of grain yield in triticale. *Journal of Agricultural Sciences of Iran* 37 (1), 77-83.
- Kosambi, DD (1994) The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics*. 12:172-175.
- Li JZ, Huang XQ, Heinrichs F, Ganai MW, Roder MS (2006) Analysis of QTLs for yield components, agronomic traits, and disease resistance in an advanced backcross population of spring barley. *Genome*. 49: 454-466.
- Long Y, Zhang C, Meng J (2008). Challenges for QTL analysis in crops. *Journal of Crop Science and Biotechnology* 11 (1): 7-12.
- Manly KF, Olson JM (1999) Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QTL. *Mammalian Genom* 10: 327-334.
- Marquez-Cedillo LA, Hayes PM, Kleinhofs A, Legge WG, Rosnagel BG, Sato K, Ullrich SE, Wesenberg DM (2001) QTL analysis of agronomic traits in barley based on the doubled haploid progeny of two elite North American varieties representing different germplasm groups. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 625-637.
- Michelmore RW, Paran I, Kessali RV (1991) Identification of markers linked to disease resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method detects markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Science*. 88: 9828-9832.
- Moadab Shabestarim M, Mojtahedi M (1990) *Crop Physiology*. Tehran University Press. 431pp.
- Mohamadi M, Baum M (2007) QTLs analysis for morphological traits in barley double haploid. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 12: 111-120.
- Mohammadi M, Baum M (2008) QTL analysis of morphologic traits in doubled haploid population of barley. *Journal of Water and Soil Science*. 12 (45): 111-120.
- Narjesi, V, Mardi M, MajidiHervan E, Azadi A, Naghavi MR, Ebrahimi M, Zali AA (2015) Analysis of Quantitative Trait Loci (QTL) for Grain Yield and Agronomic Traits in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Normal and Salt-Stress Conditions. *Journal of Plant Molecular Biology*, 33: 2030-2040.
- Nelson JC (1997) QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding*, 3(3): 239-245.
- Pauli D, Muehlbauer GJ, Smith KP, Cooper B, Hole D, Obert DE, Ullrich SE, Blake TK (2014) Association Mapping of Agronomic QTLs in US Spring Barley Breeding Germplasm. *The Plant Genome* 7: 1-15.
- Powell W, Thomas WTB, Baivid E, Lawrence P, Booth A, Harrower B, Mcnicol JW, Waugh R (1997) Analysis of quantitative traits in barley by the use of amplified fragment length polymorphisms. *Heredity*, 79:48-59.
- Rahimi M, Ibrahimpour F, Love R (1991) Determination of the inheritance and location of crop control genes in the atmosphere. *Biotechnology Journal of Agricultural Plants*, 2(3): 48-35.
- Saal B, Korff M, Leon J, Pillen K (2011) Advanced-backcross QTL analysis in spring barley: IV. Localization of QTL 3 nitrogen interaction effects for yield related traits. *Euphytica*. 177: 223-239.
- Saghi Maroof MA, Biyaoshev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extra

- ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Processing of the Academy of Science, USA*, 91: 4566-5570.
- Sameri M, Takeda K, Komatsuda T (2006) Quantitative trait loci controlling agronomic traits in recombinant inbred lines from a cross of oriental-and occidental-type barley cultivars. *Journal of Breeding Science*. 56: 243-252.
- Shahininia F, Rezaei A, Tabatabaei SB, Mohammadi A (1393) Quantitative Traits Controller Gene Location (QTL) Performance and Yield Components in Barley Lines. *Journal of Seed and Plant Seedlings*. 30: 101- 85.
- Taghizadeh Z, Sabouri H, Hosseini Moghdam H, Fallahi HA, Katouzi M. (2018) Locations of genes controlling the germination and morphological traits of barley (*Hordeum vulgare* L.) in the third and fourth generations of Badaya×Kavir crosses using microsatellite and microsatellite markers. Master's degree dissertation, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Plant Production, Gonbad Kavoos, Iran, p: 160.
- Teulat B, Borries C, This D (2001) A new QTLs identified for plant water – status, water-soluble carbohydrate and osmotic adjustment in a barley population grown in a growth – chamber under two water regimes. *Theoretical Applied Genetics* 103: 161-170.
- Teulat B, Merah O, Souyris I, This D (2001) QTLs for agronomic traits from a Mediterranean barley progeny grown in several environments. *Theoretical Applied Genetics* 103: 774-787.
- Voorrips RE, Hered J (2002) Map chart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*. 93(1):77-8.
- Wang J, Yang J, Jia Q, Zhu J, Shang Y, Hua W, Zho M (2014) A New QTL for Plant Height in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Showing No Negative Effects on Grain Yield. *PLoS ONE*. 9(2): e90144.
- Wang J, Yang J, McNeil DL, Zho M (2010) Identification and molecular mapping of a dwarfing gene in barley (*Hordeum vulgare* L.) and its correlation with other agronomic traits. *Euphytica*. 175: 331-342.
- Wu WR, Li WM (1996) Model fitting and model testing in the method of joint mapping of quantitative trait loci. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 477-482.
- Xue D, Chen M, Zhou M, Chen S, Mao Y, Zhang G (2008) QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content. *Journal of Zhejiang University Science* 9: 938-943.
- Xue D, Zhou M, Zhang X, Chen S, Wei K, Zeng F, Mao Y, Wu F, Zhang G (2010) Identification of QTLs for yield and yield components of barley under different growth conditions. *Journal of Zhejiang University Science* 11: 169-176.
- Zhu H, Bricero, G, Dovel R, Hayes PM, Liu BH, Ullrich SE (1999). Molecular breeding for grain yield in barley: An evaluation of QTL effects in a spring barley. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 772-779.