

مکان‌یابی برخی QTL‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی در یک جمعیت
دابلد هاپلوئید جو

Mapping QTLs Controlling Drought Tolerance in a Barley
Doubled Haploid Population

محتشم محمدی^۱، علیرضا طالعی^۲، حسن زینالی^۲، محمدرضا نقوی^۲ و مایکل بانوم^۳

۱- دانشجوی سابق دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج

۳- محقق ارشد، مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا)، سوریه

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۸/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۵/۱۰

چکیده

محمدی، م.، طالعی، ع.، زینالی، ح.، نقوی، م. ر. و بانوم، م. ۱۳۸۷. مکان‌یابی برخی QTL‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی در یک جمعیت دابلد هاپلوئید جو. نهال و بدر ۲۴: ۱-۱۵.

این تحقیق به منظور شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی در جو اجرا شد. ۱۵۸ لاین دابلد هاپلوئید جو به همراه والدین متحمل به خشکی آنها (Wi2291 و Tadmor) در دو منطقه تل‌هادیا و بردا با تفاوت بارندگی حدود ۱۰۰ میلی‌متر در شرایط دیم ارزیابی شدند. در هر دو آزمایش مزرعه‌ای از طرح آلفا-لاتیس با دو تکرار استفاده شد. نقشه پیوستگی با استفاده از ۵۰ نشانگر SSR و ۹۳ نشانگر AFLP تشکیل شد و نشانگرها به هشت گروه پیوستگی منتسب شدند. تعداد، مکان ژنومی و میزان اثر QTL‌های کنترل‌کننده صفات وزن هزار دانه، عملکرد دانه، شاخص حساسیت به خشکی (SSI) و محتوای نسبی آب برگ (RWC) تعیین و نشانگرهای پیوسته با آنها شناسایی شد. نتایج حاصله نشان داد که آلل‌های مطلوب QTL‌های کنترل‌کننده اغلب صفات، در هر دو والد وجود داشتند. برای وزن هزار دانه در تل‌هادیا و بردا به ترتیب شش و نه QTL شناسایی شد که میزان اثر افزایشی آنها بین نیم تا دو و نیم گرم بود. از بین هفت QTL شناسایی شده برای عملکرد دانه در دو منطقه، QTL پیوسته با نشانگر *p16m184f* مشترک بود. دو QTL جداگانه در تل‌هادیا و بردا، در میانگین داده‌های دو محیط نیز مشاهده شد. برای شاخص حساسیت به خشکی که مبتنی بر داده‌های دو محیط بود، سه QTL تشخیص داده شد که دو تای آنها در کنترل عملکرد دانه نیز دخالت داشتند. نشانگر *Bmag13* با QTL‌های کنترل‌کننده هر سه صفت وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص حساسیت به خشکی پیوستگی داشت.

واژه‌های کلیدی: جو، دیم، وزن هزار دانه، محتوای نسبی آب برگ، QTL.

مقدمه

تنش خشکی، بیشترین تاثیر را در کاهش عملکرد گیاهان دارد. این تنش سبب ایجاد اثرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می شود (Tanaka *et al.*, 1990)؛ Jamaux *et al.*, 1997؛ Smimoff *et al.*, 1993؛ Tabaizadeh, 1998

جو گیاه متداول در مناطق مدیترانه‌ای خاورمیانه و شمال آفریقا است که دارای بارندگی سالانه کمتر از ۳۰۰ میلی‌متر هستند (Copper *et al.*, 1987)؛ Acevedo and Ceccarelli, 1989). تولید در این منطقه به وسیله یخبندان در زمستان و اوایل بهار و به خصوص تنش‌های گرما و خشکی در خلال زمان پر شدن دانه محدود می‌شود.

ارزیابی عملکرد دانه در مناطق با تنش فراوان، معمول‌ترین معیار عملی برای توصیف سازگاری ارقام برای شرایط پرتنش است (Fischer and Maurer, 1978)؛ Blum, 1988؛ Gauzzi *et al.*, 1993). آزمایش‌های زیادی در سال‌ها و در مناطق متعدد برای شناسایی مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها مورد نیاز است. این راهکار نیاز به صرف زمان زیادی داشته و همچنین نیازمند بررسی صفاتی است که تاثیر مثبتی بر عملکرد و پایداری آن داشته باشند. بنابراین شناسایی صفات مؤثر در پایداری عملکرد در محیط‌هایی که با کمبود آب مواجه باشند دشوار است. صفاتی که امکان ارزیابی وضعیت آب گیاه و به

خصوصاً محتوای نسبی آب (Relative Water Content: RWC) برگ را فراهم می‌سازند، اطلاعات مناسبی برای میزان کمبود آب در گیاه در یک زمان خاص ارائه می‌دهند. توانایی صفت محتوای نسبی آب برگ برای اصلاح در تنش خشکی توسط پلتونن ساینو و ماکلا (Peltonen-sainio and Makela, 1995)، آرنائو و مونویوکس (Arnau and Monneveux, 1995) و تیولات و همکاران (Teulat *et al.*, 2003) برای جو گزارش شده است.

بروز تنش رطوبتی در انتهای فصل رشد که معمولاً توأم با افزایش شدید دمای محیط است، به ویژه در مناطقی که وزش بادهای گرم و خشک در مرحله پر شدن دانه نیز مرسوم است، باعث چروکیدگی و در نتیجه کاهش وزن دانه‌ها می‌شود. طول دوره پر شدن دانه و میزان و سرعت انتقال مواد ذخیره شده به دانه‌ها و کارایی فتوسنتز جاری بر این صفت موثر است (Blum, 1996؛ Caldryn *et al.*, 1999). در دیمزارهای نیمه گرمسیری کشور، خشکی و گرمای انتهای دوره رشد سبب کاهش طول دوره رشد و اختلال در فتوسنتز و جریان انتقال مجدد مواد فتوسنتزی شده و نهایتاً باعث کاهش وزن دانه می‌شود.

روش‌های به‌نژادی مولکولی، تولید ارقام متحمل به خشکی با ظرفیت نگهداری آب بیشتر را امکان‌پذیر کرده است

مدیترانه دانستند و برخی از QTLها را عمومی دانسته و در زمره QTLهای اصلی محسوب کردند.

Hamman Mohammed (2004) با استفاده از راهبرد جدید شناسایی QTL که مبتنی بر تلاقی برگشتی پیشرفته با خویشاوند وحشی جو (*Hordeum vulgare* L ssp *spontaneum*) بوده است، برای صفات تنظیم اسمزی، محتوای نسبی آب برگ، تبعیض ایزوتوپ کربن، عملکرد ماده خشک، و عملکرد دانه در شرایط خشک در گلخانه، QTLهایی را شناسایی کردند.

شناسایی عوامل ژنتیکی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی که با سهولت بیشتری قابل تشخیص بوده و تحت تاثیر عوامل محیطی قرار نمی‌گیرند، زمینه شناسایی و ایجاد ارقام متحمل به خشکی را از طریق گزینش به کمک نشانگرها به عنوان مکمل روش‌های مرسوم فراهم می‌سازد. ارزیابی صفات در مرحله گیاهچه، سرعت بیشتر نسبت به ارزیابی فنوتیپی، امکان انتخاب همزمان صفات متعدد با یک نمونه DNA، شناسایی ژن‌های فرعی در حضور ژن‌های اصلی و تشخیص ژن‌های مطلوب و نامطلوب از دیگر مزایای گزینش به کمک نشانگرها است.

مکان‌یابی QTLها برای صفات عملکرد دانه، شاخص حساسیت به خشکی (SSI)، وزن هزار دانه و محتوای نسبی آب برگ و همچنین برآورد میزان تاثیر هر یک از QTLها و تعیین

(Hammam Mohammad, 2004). بسیاری از مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی مکان‌یابی شده‌اند و ارتباط بین این مکان‌های ژنی و تحمل به خشکی از طریق عملکرد نسبی لاین‌ها در شرایط خشک ارزیابی شده است (MacKill, 2003).

هندلی و همکاران (Handly et al., 1994) طی تحقیقی پی بردند که QTLهایی در بازوی بلند کروموزوم چهارم جو، بازدهی مصرف آب و سازگاری با محیط‌های خشک را کنترل می‌کنند. تیولات و همکاران (Teulat et al., 2003, 2001a,b)، ۳۲ ناحیه ژنومی کنترل‌کننده صفات تنظیم اسمزی و کربوهیدرات‌های قابل حل در آب و محتوای نسبی آب برگ را در جمعیت حاصل از تلاقی *Tadmor × Er/Apm* شناسایی کردند. التینکو و همکاران (Altinku et al., 2003) با استفاده از نتاج F_2 حاصل از تلاقی دو والد حساس و متحمل به خشکی *Tokak × ST5819*، بین یک نشانگر AFLP و مقاومت در مقابل علف‌کش پاراکوات و مقدار نسبی آب برگ به عنوان معیارهای تحمل به خشکی پیوستگی، مشاهده کردند.

باثوم و همکاران (Baum et al., 1996, 2003) در تحقیقی که در مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ایکاردا) انجام شد، برخی QTLهای کنترل‌کننده صفات وزن هزار و عملکرد دانه جو را شناسایی کردند. این محققین برخی از QTLها را اختصاصی منطقه

نشانه‌های مولکولی پیوسته با QTLها و پیشنهاد آنها برای گزینش به کمک نشانگر، اهداف اصلی این تحقیق بودند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل اجرای آزمایش:

در این تحقیق، ۱۵۸ لاین دابلد هاپلوئید به همراه دو والد متحمل به خشکی جو Wi2291 و Tadmor (Ceccarelli *et al.*, 1998) مورد بررسی قرار گرفتند. تهیه لاین‌های دابلد هاپلوئید با روش کشت دانه گرده نارس انجام شد و تکثیر آنها در گلخانه توسط محققین ایکاردا انجام شده بود. دو آزمایش مزرعه‌ای در ایستگاه‌های تحقیقاتی تل هادیا (طول جغرافیایی $36^{\circ}1'N$ ، عرض جغرافیایی $37^{\circ}26'E$ و ارتفاع از سطح دریا ۳۰۰ متر) و بردا (طول جغرافیایی $35^{\circ}56'N$ ، عرض جغرافیایی $37^{\circ}10'E$ و ارتفاع از سطح دریا ۳۵۴ متر) واقع در شمال کشور سوریه در سال زراعی ۲۰۰۴ انجام شد. در این سال زراعی میزان بارندگی در تل هادیا ۴۲۲ میلی‌متر و در بردا ۳۲۱ میلی‌متر بود.

تمام لاین‌های مورد بررسی به همراه والدین در قالب طرح آلفا-لاتیس در دو تکرار در شرایط مزرعه کاشته شدند و صفات عملکرد دانه، و وزن هزار دانه و شاخص حساسیت به خشکی ارزیابی شدند. برای محاسبه شاخص حساسیت به خشکی از فرمول فیشر و مورر (Fischer and Maurer, 1978) استفاده شد. بدین منظور، به طور قراردادی، ایستگاه تل

هادیا به عنوان محیط مساعد و ایستگاه بردا به منزله محیط نامساعد در نظر گرفته شد. در آزمایش دیگری، لاین‌های مذکور و والدین آنها در سه تکرار درون گلدان در گلخانه‌ای که حرارت آن قابل کنترل بود، کاشته شدند و محتوای نسبی آب برگ از طریق رابطه تیولات و همکاران (Teulat *et al.*, 2001a) و به صورت زیر محاسبه شد:

$$RWC = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس}}{\text{وزن خشک}} \times 100$$

استخراج DNA: DNA ژنومی لاین‌ها بر اساس روش سقایی-معروف و همکاران (Saghai-Marouf *et al.*, 1984) با اندکی تغییر استخراج شد. بخش هوایی ۲۰-۱۰ گیاهچه چهار تا شش هفته‌ای برای هر والد و لاین‌های دابلد هاپلوئید به صورت تازه جمع‌آوری و DNA آنها جداسازی شد. کمیت DNA استخراج شده به صورت مقایسه‌ای در ژل آگارز ۱٪ سنجیده شد.

ارزیابی نشانگرهای مولکولی: تعداد ۶۸ نشانگر SSR و ۱۰۳ نشانگر AFLP برای تعیین ژنوتیپ، روی جمعیت مورد بررسی استفاده شد که نهایتاً با حذف نشانگرهای دارای کج شکلی تفرق، نشانگرهای انفرادی غیر پیوسته و گروه‌های کوچک فاقد نشانگر SSR، تعداد ۵۰ نشانگر SSR و ۹۳ نشانگر AFLP روی نقشه نهایی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به روش رامسی و همکاران (Ramsay *et al.*, 2000) در تجزیه SSR و با روش زایوو و وس

برای تطبیق نسبت‌های آللی موجود با نسبت‌های مندلی مورد انتظار در هر مکان ژنی برای هر نشانگر، آزمون χ^2 انجام شد. نقشه نهایی با حذف نشانگرهایی که جایگاه واحدی داشته یا انحراف از تفرق مندلی نشان دادند، تهیه شد. همچنین تک نشانگرهای غیرپیوسته و گروه‌های کوچک فاقد نشانگر SSR از نقشه نهایی حذف شدند.

تجزیه QTL به کمک نرم افزار QTL-Carthographer نسخه ۱/۱۵ (Christopher *et al.*, 2001) انجام شد و با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب مبتنی بر رگرسیون چندگانه مورد استفاده قرار گرفت. حداقل LOD برای شناسایی QTL برابر ۲/۵ و حداکثر فاصله پویش، دو سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. علاوه بر تعیین جایگاه و میزان اثر هر QTL، واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTLها و نیز توسط مجموع QTLها در یک مدل رگرسیون چندگانه توجیه می‌شد، محاسبه شد.

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی و تفکیک متجاوز صفات

ضریب تغییرات ژنتیکی به عنوان نماد تنوع صفات، نشان داد که در تل هادیا و بردا، صفات مورد بررسی دارای تنوع کافی بودند (جدول ۱).

بررسی اختلاف بین والدین و یا مقایسه بهترین والد و بهترین لاین از نتاج دابلد

(Zabeau and Vos, 1993) در تجزیه AFLP انجام شد. برای نشانگرهای SSR، دمای اتصال بر حسب طول آغازگر و مطابق با توصیه شرکت سازنده و تجارب آزمایشگاه بیوتکنولوژی ایکاردا در نظر گرفته شد. تجزیه مولکول‌های نشان‌دار شده DNA با رنگ‌های فلورسنت چندگانه به وسیله دستگاه توالی‌یاب اتوماتیک ABI Prism1377 انجام شد. بعد از آن که نمونه‌ها در داخل یک سیستم ژل عمودی تزریق شدند، الکتروفور، آشکار شدن لیزری و سپس تجزیه‌های کامپیوتری بر روی با استفاده از نرم‌افزارهای Genescan و Genotyper انجام و نمره‌دهی شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه واریانس برای هر یک از صفات در دو آزمایش مزرعه‌ای به صورت جداگانه انجام شد. ضریب تغییرات ژنتیکی صفات مزبور نیز محاسبه شد. برای تهیه نقشه پیوستگی از نرم افزار Mapmaker 3.0 استفاده شد (Lander *et al.*, 1987). نسبت‌های نوترکیبی بر اساس معادله کوزامبی (Kosambi, 1944) به فاصله بر حسب واحد سانتی‌مورگان تبدیل شد. گروه‌های پیوستگی با حداکثر میزان نوترکیبی معادل ۰/۵ و حداقل LOD معادل ۹ تشکیل شدند. انتساب گروه‌ها به کروموزوم‌ها با استفاده از گزارش‌های موجود در رابطه با مکان کروموزومی نشانگرهای SSR و با فرض عدم وجود معاوضه، چرخش یا مضاعف شدن صورت گرفت.

QTL مشترک با نشانگر $P_{18m237b}$ در کروموزوم پنج پیوستگی نزدیک داشت و از والد Wi2291 منشأ گرفته بود. آلل‌های افزایشنده این چهار QTL در تل‌ها دیا به ترتیب $1/4$ ، $1/5$ ، $1/3$ و $0/5$ گرم بر وزن هزار دانه تاثیر می‌گذاشتند. همین QTL‌ها در بردا سبب افزایش وزن هزار دانه‌ای به ترتیب معادل 1 ، $1/3$ ، $1/4$ و 1 گرم می‌شدند. وجود QTL‌های کنترل‌کننده وزن هزار دانه روی هر هفت کروموزوم ژنوم جو در مطالعات بی‌کس و همکاران (Bakes *et al.*, 1995)، تیولات و همکاران (Teulat, 2001b) و بائوم و همکاران (Baum *et al.*, 2003) گزارش شده است. وجود برخی QTL‌های کنترل‌کننده وزن هزار دانه روی کروموزوم‌های یک، پنج و هفت نیز شناسایی شده‌اند.

به موازات افزایش وزن دانه در هر دو محیط آزمایش، عملکرد دانه کاهش یافته بود. همبستگی وزن هزار دانه با عملکرد دانه در تل‌ها دیا و بردا به ترتیب $0/21^*$ و $0/67^{**}$ بود که با نتایج به دست آمده توسط آسودو و شکارلی (Acevedo and Ceccarelli, 1989) و امین و همکاران (Amin *et al.*, 1992) مغایرت دارد. معهدا دو کویوکو و آکایا (Dokuyuku and Akkaya, 1999) نیز نتیجه مشابهی به دست آوردند. همبستگی منفی معنی‌دار بین عملکرد دانه و وزن هزار دانه در سطوح احتمال پنج و یک درصد به ترتیب در تل‌ها دیا و بردا را می‌توان به دلیل وقوع

هابلویید، برای تمام صفات، تفکیک متجاوز نشان داد. این امر نشان داد که والدین از نظر ژن‌های کنترل‌کننده صفت مزبور متفاوت هستند. علاوه بر این، مبین ماهیت کمی صفت بوده و به معنای آن است که آلل‌های افزایش‌دهنده و کاهش‌دهنده مقدار صفت همزمان در هر کدام از دو والد حضور دارند و در برخی از نتایج، تعداد بیشتری آلل افزایشنده یا کاهشنده نسبت به والدین جمع شده و ترکیب آن‌ها منتج به مقادیر بالاتر و پایین‌تر از والد‌ها شده است.

مجموعاً تعداد پانزده QTL در هر دو منطقه برای وزن هزار دانه شناسایی شد. میزان اثر افزایشی آن‌ها در محدوده نیم تا دو و نیم گرم بود. اثر افزایشی آلل‌ها نشان داد که آلل‌های افزایشنده وزن هزار دانه در هر دو والد قرار دارند. چهار QTL به طور مشترک در هر دو منطقه شناسایی شد که سه QTL در تجزیه بر اساس میانگین داده‌های فوتویی دو محیط نیز تشخیص داده شد. یک QTL نیز در میانگین محیط‌ها و تل‌ها دیا مشترک بود. QTL مشترک پیوسته با نشانگر $P_{18m237a}$ کروموزوم ششم، نه درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه کرد. نشانگر $P_{18m184c}$ واقع بر کروموزوم دوم با QTL مشترک دیگری پیوستگی داشت و آلل افزایشنده آن نظیر QTL قبلی از والد Tadmor به ارث می‌رسد. QTL مشترک بعدی با نشانگر $Bmag5b$ پیوستگی نزدیک داشت و آلل افزایشنده آن از رقم Wi2291 بود. چهارمین

جدول ۱- تنوع والدین و تفکیک متجاوز برتری برای صفات مختلف در دو منطقه تل هادیا و بردا و میانگین آنها

Table1. Variation in parents and transgressive segregation in parents for different traits in Tel-Hadya and Breda and their means

محیطها و ویژگی‌ها Environments and characteristics	وزن هزار دانه TKW	عملکرد دانه GYD	شاخص حساسی به خشکی SSI	محتوای نسبی آب RWC
Tel-Hadya				
Wi2291	48.0	4253.0	4.1	64.5
Tadmor	43.7	3403.0	2.6	67.8
P ₁ -P ₂ ⁺	4.4	850.0**	1.5 *	-3.3
BDH	64.0	5482.0	1.5	74.2
BDH-B _p ⁺⁺	15.9 **	1232.0 *	-1.1	6.4 **
CV	7.8	12.4	-	-
Breda				
Wi2291	45.2	19.2	-	-
Tadmor	42.6	2006.0	-	-
P ₁ -P ₂ ⁺	2.6	13.0	-	-
BDH	55.4	4612.0	-	-
BDH-B _p ⁺⁺	10.2 *	253.0 **	-	-
CV	5.4	10.4	-	-
Means				
Wi2291	64.7	3136.0	-	-
Tadmor	43.2	2705.0	-	-
P ₁ -P ₂ ⁺	3.5	431.0	-	-
BDH	75.5	3831.0	-	-
BDH-B _p ⁺⁺	19.2 **	695.0**	-	-
CV	-	-	8.5	5.0
Wi2291				

+ : Difference of two parents

++ : Difference of best line from best parent

* and **: Significant at 5% and 1%.

SSI: Stress Susceptible Index; RWC: Relative Water Content; GYD: Grain Yield; TKW: Thousand Kernel Weight

+ تفاوت دو والد

++ تفاوت بهترین لاین از بهترین والد

* و **: به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطوح یک و پنج درصد.

شد. علاوه بر این، دو QTL دیگر مشاهده شده در تل هادیا یا بردا، در میانگین مناطق نیز شناسایی گردید.

QTL مشترک با نشانگر *P16m184f* که در کروموزوم دوم پیوستگی نزدیک داشت، در دو منطقه تل هادیا و بردا به ترتیب هشت و یازده درصد از تغییرات فنوتیپی عملکرد دانه را توجیه کرد و به طور متوسط ۲۱۶ و ۱۵۹ کیلوگرم در هکتار به ترتیب در تل هادیا و بردا به عملکرد

بارندگی ۲۰-۱۸ میلی‌متری در نیمه دوم زمان پر شدن دانه و سنگین تر شدن دانه‌های لاین‌های دیررس دانست.

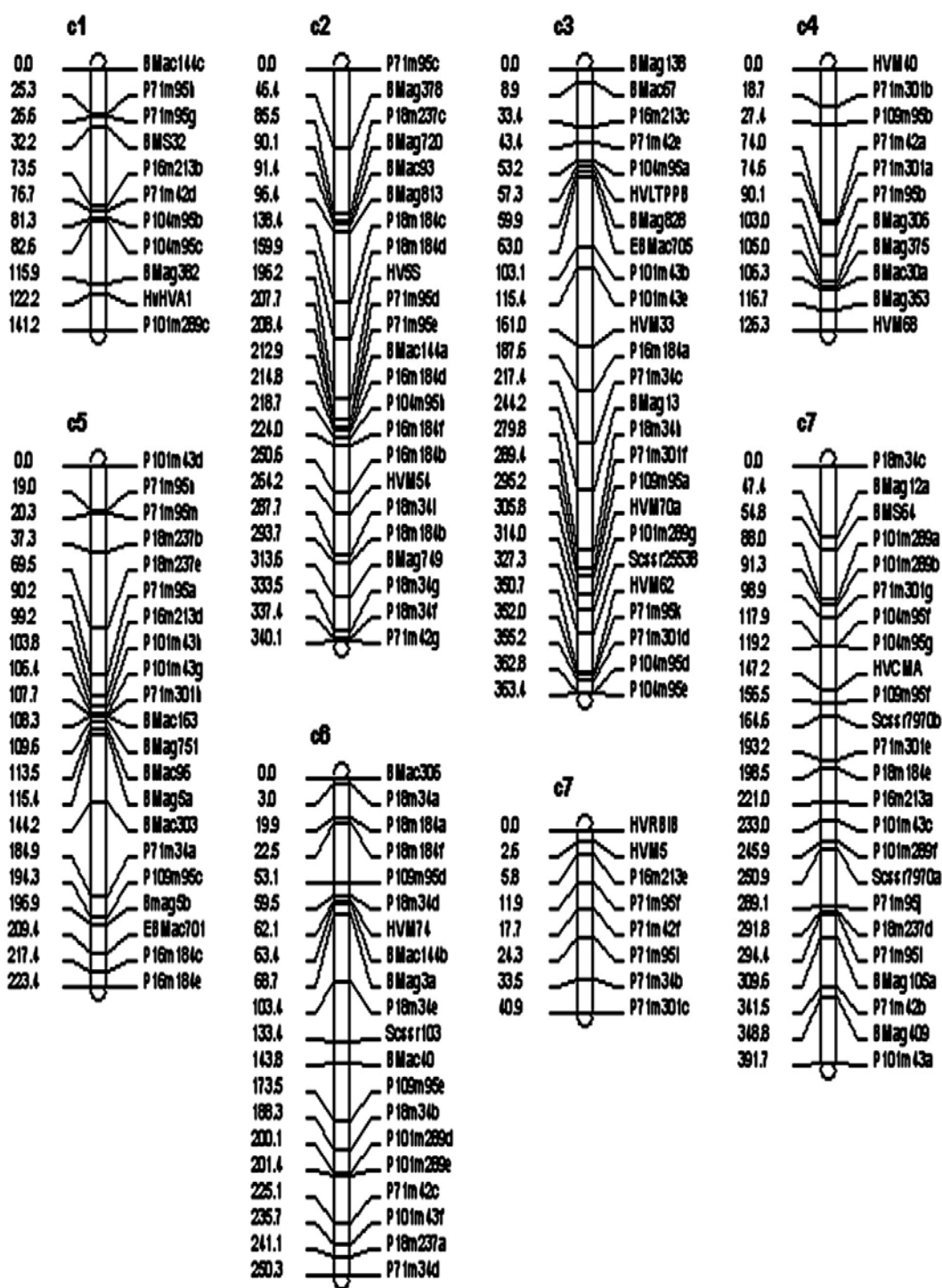
سه QTL روی کروموزوم‌های یک، دو و شش برای عملکرد دانه در بردا شناسایی شد و چهار QTL واقع بر کروموزوم‌های دو، سه و هفت نیز در تل هادیا تشخیص داده شد. QTL پیوسته با نشانگر *P16m184f* واقع بر کروموزوم شماره دو در میانگین محیط‌ها نیز تشخیص داده

تحقق پتانسیل عملکرد در دیمزارها، استفاده از شاخص حساسیت به خشکی نسبت به سایر شاخص‌های موجود ارجحیت دارد و شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده این ویژگی سبب تسهیل در تشخیص منابع ژنتیکی متحمل به خشکی خواهد شد.

برای محتوای نسبی آب برگ (RWC) یک QTL کوچک اثر روی کروموزوم سوم شناسایی شد که تاکنون گزارش نشده بود. آلل افزایش‌دهنده میزان RWC در والد Wi2291 قرار داشت. در این تحقیق، میزان همبستگی محتوای نسبی آب برگ با میزان عملکرد دانه در تل‌ها دیا و بردا به ترتیب * $0/19$ و * $0/35$ بود. در غلات همبستگی مثبت و معنی‌دار بین محتوای نسبی آب برگ و عملکرد دانه گزارش شده است (Merah, 2001؛ Schonfeld *et al.*, 1988؛ Peltonen Sainoi and Makela, 1995؛ Sing and Patel, 1996؛ Tahara *et al.*, 1990). نشانگر *Bmag13* که با QTL‌های کنترل‌کننده وزن هزار دانه و عملکرد دانه پیوستگی داشت، همچنین با یکی از QTL‌های شناسایی شده برای شاخص حساسیت به خشکی پیوستگی نشان داد. هایس و همکاران (Hayes *et al.*, 2003) معتقدند که QTL‌ها معمولاً بر روی تمام قسمت‌های کروموزوم واقع شده‌اند، اما دسته‌هایی از QTL‌ها در نواحی کروموزومی معینی هم مشاهده شده است. وجود QTL‌های مؤثر بر چندین صفت نیز معمول است.

دانه می‌افزاید. آلل افزایش‌دهنده QTL موجود در روی کروموزوم اول در رقم Tadmor و آلل‌های افزایش‌دهنده سایر QTL‌ها در تل‌ها دیا و بردا رقم Wi2291 قرار دارد. تیولات و همکاران (Teulat *et al.*, 2001 a,b) و بائوم و همکاران (Baum *et al.*, 2003)، با بررسی دو جمعیت متشکل از والد‌های سازگار در شرایط مدیترانه‌ای، QTL‌هایی را روی کروموزوم‌های یک، سه، چهار و پنج و هفت گزارش کردند. همام محمد (Hammam Mohammad 2004) نیز حضور یک QTL کنترل‌کننده عملکرد دانه را روی کروموزوم ششم گزارش کرد.

با تجزیه QTL برای شاخص حساسیت به خشکی (SSI)، سه QTL روی کروموزوم‌های ۲ و ۳ (دو QTL) شناسایی شد که به ترتیب ۱۲، ۱۰ و ۶ درصد از واریانس فنوتیپی این شاخص را توجیه کردند. با توجه به این که تمامی این‌ها دارای اثر افزایشی مثبت بودند، لذا آلل‌های موجد تحمل از والد Tadmor منتقل شدند. پراثرترین QTL شناسایی شده برای این صفت (QTL پیوسته با نشانگر *P18m34g*) همچنین برای عملکرد دانه در تل‌ها دیا و میانگین دو منطقه نیز شناسایی شد. در برازش مدل هم زمان QTL‌ها، ۳۴ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت توسط سه QTL مذکور توجیه شد. این افزایش نسبت به QTL‌های انفرادی می‌تواند ناشی از همبستگی بین QTL‌ها باشد. با توجه به جایگاه اکولوژیک جو در نظام زراعی و عدم



شکل ۱ - نقشه لینکاژی لاین‌های دابلد هاپلوئید حاصل از تلاقی Wi2291×Tadmor

اعداد بالای گروه‌های پیوستگی (کروموزوم‌ها) نشان‌دهنده گروه‌های پیوستگی و اعداد سمت چپ گروه‌های پیوستگی نیز نشان‌دهنده فاصله هر نشانگر از اولین نشانگر آن گروه پیوستگی بر حسب سانتی‌مورگان است. اسامی نشانگرها نیز در سمت راست گروه‌ها نشان داده شده است.

Fig. 1. Linkage map of barely doubled haploid lines obtained from Wi2291 × Tadmor. Numbers above the linkage groups (chromosomes) indicates number of linkage group, left numbers indicates distance of each marker from the first marker in each group and name of marker has been shown on right side of each group.

جدول ۲- جایگاه کروموزومی، اثر افزایشی، LOD و درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده برای QTLهای شناسایی شده صفات مختلف در دو منطقه تل هادیا و بردا و میانگین آنها

Table 2. Chromosomal location, additive effect, LOD and justified phenotypic variance percent for identified QTLs of different traits in Tel-Hadya and Breda and their means

نزدیک ترین نشانگر	فاصله از نزدیک ترین نشانگر	اثر افزایشی			کروموزوم	محیط	صفت
Nearest marker	DNM	Additive effect	R ²	LOD	Chromosom	Environment	Trait
<i>P18m184c</i>	20.4	1.5	0.12	6.1	2	T	تل هادیا TKW
<i>BMag5</i>	0.1	-1.3	0.25	4.9	5	T	تل هادیا TKW
<i>P18m237b</i>	3.3	-0.5	0.05	2.5	5	T	تل هادیا TKW
<i>Bmac144b</i>	0.6	-1.7	0.14	2.9	6	T	تل هادیا TKW
<i>P18m237a</i>	1.1	1.4	0.09	5.2	6	T	تل هادیا TKW
<i>P104m95g</i>	0.2	1.1	0.06	3.0	7	T	تل هادیا TKW
<i>P18m184c</i>	3.4	-0.8	0.06	3.1	2	B	بردا TKW
<i>Bmac144a</i>	0.1	0.9	0.10	6.9	2	B	بردا TKW
<i>P16m184f</i>	4.0	-1.3	0.13	5.7	2	B	بردا TKW
<i>P18m184b</i>	9.7	-1.1	0.15	4.7	2	B	بردا TKW
<i>P18m237b</i>	0.3	0.7	0.06	3.5	5	B	بردا TKW
<i>BMag5</i>	0.1	1.6	0.11	4.8	5	B	بردا TKW
<i>P18m237a</i>	0.9	1.0	0.10	3.5	6	B	بردا TKW
<i>P101m289f</i>	4.9	-1.3	0.12	3.2	7	B	بردا TKW
<i>Scssr7970a</i>	15.1	1.0	0.10	2.5	7	B	بردا TKW
<i>P18m184c</i>	5.4	1.2	0.11	4.7	2	M	میانگین TKW
<i>BMag144a</i>	0.1	1.1	0.12	7.1	2	M	میانگین TKW
<i>BMag13</i>	17.8	-1.1	0.02	2.9	3	M	میانگین TKW
<i>BMag375</i>	0.0	-0.8	0.04	2.6	4	M	میانگین TKW
<i>P18m237b</i>	9.7	-1.0	0.08	3.6	5	M	میانگین TKW
<i>BMag5</i>	0.1	-1.4	0.16	9.1	5	M	میانگین TKW
<i>BMS64</i>	0.4	2.4	0.17	3.2	7	M	میانگین TKW
<i>P101m289g</i>	1.0	1.0	0.09	2.5	3	G	گلخانه محتوای نسبی آب برگ RWC
<i>P16m184f</i>	0.0	216	0.08	3.1	2	T	تل هادیا GY
<i>P18m34g</i>	1.5	201	0.11	4.5	2	T	تل هادیا GY
<i>BMag13</i>	0.2	255	0.16	3	3	T	تل هادیا GY
<i>P101m289a</i>	8.0	303	0.24	5	7	T	تل هادیا GY
<i>P16m213b</i>	1.5	-103	0.06	5	1	B	بردا GY
<i>P16m184f</i>	1.0	159	0.11	7	2	B	بردا GY
<i>P18m184f</i>	1.5	291	0.25	5	6	B	بردا GY
<i>P16m184f</i>	0.0	233	0.16	7	2	M	میانگین GY
<i>P18m34g</i>	7.5	120	0.06	2	2	M	میانگین GY
<i>P71m95b</i>	0.1	213	0.06	9	4	M	میانگین GY

DNM: Distance from nearest marker; T: Tel-Hadya; B: Breda; M: Mean; TKW: Thousand kernel weight; RWC: Relative water content; GY: Grain yield; G: Greenhouse; SSI: Stress susceptible index.

Table 2. Continued

ادامه جدول ۲

نزدیک‌ترین نشانگر	فاصله از نزدیک‌ترین نشانگر	اثر افزایشی	R ²	LOD	کروموزوم	محیط	صفت
Nearest marker	DNM	Additive effect			Chromosom	Environment	Trait
<i>P18m184f</i>	8.5	190	0.19	8	6	M	عملکرد دانه
<i>P18m34g</i>	0.5	0.3	0.12	6	2	T-B	شاخص حساسیت به خشکی SSI
<i>BMag13</i>	8.0	0.4	0.10	5	3	T-B	شاخص حساسیت به خشکی SSI
<i>P101m43b</i>	1.1	0.2	0.06	8	3	T-B	شاخص حساسیت به خشکی SSI

DNM: Distance from nearest marker; T: Tel-Hadya; B: Breda; M: Mean; TKW: Thousand kernel weight; RWC: Relative water content; GY: Grain yield; G: Greenhouse; SSI: Stress susceptible index.

دوام و شدت تنش خشکی در دو محیط تل‌هادیا و بردا متفاوت بوده است. ترکیب و تنوع این ویژگی‌ها سبب بروز اثر متقابل محیط \times QTL و تنوع زیاد QTL‌ها بین این دو محیط شده است. نتایج حاصله نشان داد که برای تمام صفات مورد بررسی، تعداد ده QTL در تل‌هادیا و دوازده QTL در بردا شناسایی شد. تعداد پنج QTL در هر دو منطقه به صورت مشترک بود که چهار تای آنها در میانگین داده‌ها نیز مشاهده شد. همچنین سه QTL در یکی از محیط‌ها و میانگین آنها مشترکاً شناسایی شد. علاوه بر این، سه QTL مربوط به شاخص حساسیت به خشکی، مبتنی بر ترکیبی از نتایج هر دو محیط بوده است. QTL‌های مشترک دو منطقه دارای بالاترین LOD و بیشترین اثر افزایشی بودند. حضور یک QTL در دو محیط بیانگر ثبات بیان ژن است و این که بین QTL و محیط اثر آنتاگونیستی وجود نداشته است، بنابراین به نظر می‌رسد که بتوان این QTL‌ها را در زمره QTL‌های پایدار و اصلی

مقایسه نتایج حاصله با QTL‌های شناخته شده در مطالعات دیگر مفید است ولی نباید از نظر دور داشت که در اغلب این مطالعات از نشانگرهای RFLP یا ترکیبی از نشانگرهای RFLP و RAPD استفاده شده است و لذا هر چند امکان مقایسه منتفی نیست، ولی مشکل است (Yin *et al.*, 1999). انجام چنین مقایسه‌هایی با انتخاب مجموعه مشخصی از کاوشگرها یا آغازگرها بر روی این جمعیت امکان‌پذیر است. زیرا نشانگرهای AFLP در مقایسه با نشانگرهای RFLP و RAPD، بخش‌های متفاوتی از ژنوم را پوشش می‌کنند (Yin *et al.*, 1999). از سوی دیگر نباید فراموش کرد که جمعیت مورد بررسی برای شرایط پرتنش مدیترانه‌ای سازگار است و به استثناء بررسی‌های تیولات و همکاران (Teulat *et al.*, 2003) و باثوم و همکاران (Baum *et al.*, 1996, 2003)، جمعیت‌های آزمایش شده در شرایط مساعدتر رطوبتی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. همچنین زمان شروع،

استفاده از نشانگرهای مولکولی به عنوان معیار انتخاب همچنین جانشین مهمی برای اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی است (Price and Courtois, 1999).

با توجه به وجود تنوع آب و هوایی در سال‌ها و مناطق مختلف، تقویت اعتبار QTL‌های شناسایی شده، مستلزم بررسی‌های بیشتر بر روی همین زمینه ژنتیکی و سایر زمینه‌های ژنتیکی در مناطق متعددی از حوزه آب و هوایی مدیترانه‌ای است. این امر امکان ارزیابی دقیق‌تر و بررسی اثر متقابل محیط \times QTL برای سنجش پایداری QTL‌ها را فراهم می‌سازد.

کنترل‌کننده صفات مورد بررسی محسوب کرد و با اطمینان بیشتری از آن‌ها در برنامه گزینش به کمک نشانگر به عنوان مکمل روش‌های اصلاح کلاسیک استفاده کرد. هرچند در بین سایر QTL‌های کنترل‌کننده صفات یا سایر صفات، QTL‌های پراثری شناسایی شده که به یک محیط اختصاص داشته‌اند و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی منطقه‌ای موثر خواهد بود.

تجزیه ژنتیکی صفات پیچیده از قبیل تحمل به خشکی و شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی امکان انتخاب به کمک نشانگرها را فراهم کرده و نهایتاً سبب بهبود کارایی گزینش برای عملکرد می‌شود.

References

- Acevedo, E., and Ceccarelli, S. 1989.** Role of physiologist- breeder in a breeding program for drought resistance conditions. pp. 117-141. In: Baker, F.W.G. (ed.). Drought Resistance in Cereals. CAB. International, UK.
- Altinku, A., Kazan, K., and Gozukirmize, N. 2003.** AFLP marker linked to water stress tolerant bulks in barley. *Genetic Molecular Biology* 26: 77-82.
- Amin, M. R., Barma, N. C. D., and Razzaque, M. A. 1992.** Variability, heritability, genetic advance and correlation study in some quantitative characters in durum wheat. *Rachis* 11: 30-32.
- Arnau, G., and Monneveux, P. 1995.** Physiology and genetics of terminal water-stress tolerance in barley. *Journal of Genetics and Breeding* 49:327-332.
- Backes, G., Graner, A., Foroughi –Wehr, B., Fischbeck, G., Wenzel, G., and Jahoor, A. 1995.** Localization of quantitative trait loci (QTLs) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare*). *Theoretical and Applied Genetics* 90: 294-302.
- 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* 41-1. Theoretical and Applied Genetics 107: 1215-1225.
- Baum, M., Sayed, H., Araus, J. L., Grando, S., Ceccarelli, S., Backes, G., Molher, V., Jahoor, A., and 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.
- Blum, A. 1988.** Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press. Boca Raton.
- Blum, A. 1996.** Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. Euphytica 100:77-83.
- Calderini, D. F., Reynolds, M. P., and Slafer, G. A. 1999.** Genetic gains in wheat yield and main physiological changes associated with them during the 20th century. pp. 145-156. In: Satore, E. H., and Slafer, G. A. (eds.) Wheat: Ecology and Physiology of Yield Determination. Food Product Press, New York.
- Ceccarelli, S., Grando, S., and Impiglia, A. 1998.** Choise of selection strategy in breeding barley for stress environments. Euphytica 103: 307-318.
- Christopher, J., Bruce, S. W., and Zhao- Bang, Z. 2001.** QTL Cartographer version 1.15 Bioinformatics Research Center. North Carolina State University. Raleigh, NC 27695-7566.
- Dokuyucu, T., and Akkaya, A. 1999.** Path coefficient analysis and correlation of grain yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). Rachis 18 (2): 17 – 20.
- Fischer, R. A., and Maurer R. 1978.** Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29: 897-912.
- Gavuzzi, P., Delougu, G., Boggini, G., DI Fonzo, N., and Borghi, B. 1993.** Identification of bread wheat, durum wheat and barley cultivars adapted to dry areas of Southern Italy. Euphytica 68: 131-145.
- Hammam Mohammed, K. A. 2004.** Improving crop varieties of spring barley for drought and heat tolerance with AB-QTL analysis. Ph.D. Thesis. Institute für Pflanzenbau, Germany.
- Handly, L. L., Nevo, E., Raven, J. A., Martinez, R., Scrimgou, C. M., and Pakniyat. H. 1994.** Chromosome 4 controls potential water use efficiency in barley. Journal of Experimental Botany 45: 1661-1663

- Hayes, P. M., Chen, F. Q., Kleinhofs, A., Kilian, A., and Mather, D .E. 1996.** Barley genome mapping and it's applications. pp. 229-249 In: Jauhar, P. (ed.) Method of Genome Analysis in Plants. CRC Press. Boca Raton.
- Jamaux, I., Steinmetz, A., and Belhassen, E. 1997.** Looking for molecular and physiological markers of osmotic adjustment in sunflower. *New Phytology* 137: 117-127.
- Kosambi, D. D. 1944.** The estimation of map distance form recombination values. *Ann Eugen* 12:172-175.
- Lander, E. S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M. J., Lincoln, S. E., and Newburg, G. L. 1987.** MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1: 174-181.
- MacKill, D. J. 2003.** What molecular tools are available for selection for drought tolerance? pp. 55-61. In : Fischer, K. S., Laffite, R., and Fukai, S. (eds.) *Environments*. IRRI, Philippines.
- Merah, O. 2001.** Potential importance of water-status traits for durum wheat improvement under Mediterranean conditions. *Journal of Agricultural Science* 137: 139-145.
- Peltonen – Sainio, P., and Makela, P. 1995.** Comparison of physiological methods to assess drought- tolerance in oats. *Acta Agri. Scand* 45:32-38.
- Price, A., and Courtois, B. 1999.** Mapping QTLs associated with drought resistance in rice: progress, problems and prospects. *Plant Growth Regulators* 29: 123-133.
- Ramsay, L. , Macaulay, M., Degli Ivanissevich, S., MacLean, K., Carsle, L., Fuller, J., Edwards, K.J., Turesson, S., Morganter, M., Massari, A., Masteri, E., Marmioli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powel, W., and Waugh, W. 2000.** A simple sequence repeat- based linkage map of barley. *Genetics* 156: 1997-2005.
- Saghai –Maroof, M.A., Soliman, K.M., Gorgensen, R.A., and Allard, R.W. 1984.** Ribosomal DNA spacer –length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of National Academic Science, USA* 81: 8014-8018.

- Schonfeld M.P., Richard, J.C., Carver, B.F., and Mornhi, N.W. 1988.** Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science* 28: 526-531.
- Singh, J., and Patel, A. L. 1996.** Water-status, gas exchange, prolin accumulation and yield of wheat in response to water deficit. *Annals of Biology* 12: 77-81.
- Smirnoff, N. 1993.** The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytology* 125: 27-58.
- Tabaeizadeh, Z. 1998.** Drought induced responses in plant cells. *International Review of Cytology* 182: 193-242.
- Tahara, M., Carver, B.F., Johnson, R.C., and Smith, E.L. 1990.** Relationship between relative water-content during reproductive development and winter wheat grain yield. *Euphytica* 49: 255-262.
- Tanaka, K., Masuda, R., Sugimoto, T., Omasa, K., and Sakaki, T. 1990.** Water deficiency induced changes in the contents of defensive substances against active oxygen in spinach leaves. *Agricultural Biology and Chemistry* 54: 2629-2634.
- Teulat, B., Borries, C., and This, D. 2001a.** 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., and This, D. 2001b.** QTLs for agronomic traits from a Mediterranean barley progeny grown in several environments . *Theoretical Applied Genetics* 103: 774-787.
- Teulat, B., Zourmarou – Wallis, N., Rotter, B., Ben Salem, M., Bahri H., and This, D. 2003.** QTL For relative water content in field – grown barley and their stability across Mediterranean environments, *Theoretical Applied Genetics* 108: 181 – 188.
- Yin, X., Stam, P., Dourleijin, C.J., and Kropf, J. 1999.** AFLP mapping of quantitative trait loci for yield determining physiological characters in spring barley. *Theoretical Applied Genetics* 99: 244-253.
- Zabeau, M., and Vos, P. 1993.** Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA finger printing. *Eurpat app 92402629.7* (Publ. number O 534858 A1).