جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال چهارم، شماره نهم، بهار ۱۳۹۴ (۱۴-۱)

Crop Biotech.
Spring (2015) 9: 1-14.

شناسایی QTLهای مرتبط با جوانه‌زنی گندم در شرایط معمولی و تنش خشکی

معروف خلیلی[۱]، سید ابوالقاسم محمدی[۲]
۱. استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۲. استاد گروه اصلاح نباتات، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۵ تاریخ تصویب:۱۳۹٤/۲/۲۸)

Mapping QTLs associated with wheat seed germination under normal and drought stress conditions

Marouf Khalili[1], Seyed Abolghasem Mohammadi[2]
1. Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Payame Noor University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Plant Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(Received: 14 Feb. 2015 -Accepted: 18 May. 2015)

چکیده

جوانه‌زنی بذر (ظرفیت، زمان، میزان و همزمانی) از خصوصیات بارز و مهم یک رقم زراعی توصیف می‌شوند. به منظور شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با جوانه‌زنی دانه گندم، ۱٤۹ لاین هاپلوئید و والدین آنها Rojo Yecora و No. 49 طی سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ در قالب طرح آلفا لاتیس در دو شرایط عادی و تنش رطوبتی اجرا گردیدند. صفات ضریب سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی نهایی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص میزان جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در این بررسی، ۳٤۰ جفت آغازگر ریزماهواره برای تعیین چندشکلی والدین استفاده گردید. همچنین از هفت آغازگر رتروترانسپوزونی مبتنی بر نواحی LTR رتروترانسپوزون‌های جو و ۲۸ ترکیب آن‌ها در تکنیک IRAP و از ترکیب این آغازگر با آغازگرهای ISSR (٦۳ ترکیب) در تکنیک REMAP برای غربال جمعیت استفاده شد. تجزیه QTL به روش نقشه یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) برای هر صفت در هر محیط و میانگین دو محیط انجام گردید. برای همه صفات مورد مطالعه، تفکیک متجاوز مشاهده شد. در مجموع، ۱۱ QTL برای صفات مورد مطالعه شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی کل تبیین‌شده بوسیله این QTLها از۱۱/۸۲ تا ۲۱/٤۲ درصد متغیر بود (بیشترین مقدار LOD برای QTL کنترل کننده سرعت جوانه LOD = ٦/٦٥ روی کروموزوم 4B (Sg-Normal 4B) به‌دست آمد. نتایج نشان داد که QTLهای شاخص میزان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مربوط به کمیت و کیفیت جوانه‌زنی در هر دو شرایط از تظاهر خوبی برخوردار بودند. لذا از QTLهای پایدار و خوشه‌ای شناسایی شده می‌توان در برنامه گزینش به کمک نشانگر (MAS)، استفاده نمود.

واژه های کلیدی: QTL، شاخص‌های جوانه‌زنی، گندم.

Abstract

Seed germination (capacity, time, and synchronization) is a manifest characteristic of the standard germination test of a cultivated variety. In order to identify genomic regions associated with seed germination, 149 bread wheat recombinant inbred lines and their parents RojoYecora and No. 49 were conducted in an alpha lattice design with two replications at the University of Mahabad during 2013-14, under normal and moisture stress conditions. Different traits including index of germination speed, final germination percentage, germination speed, germination rate, and average daily germination were measured. In this study, 340 pairs of microsatellite primers were used to determine the parental polymorphism. Furthermore, 7 retrotransposon-based markers on LTR regions of barely retrotransposons, and their twenty-eight combinations at IRAP technique, as well as, 63 combination of this primer with anchored ISSR primers at REMAP technique were used for population screening. QTL analysis using composite interval mapping (CIM) for each trait in each environment and mean of two environments were accomplished. For all studied traits, transgressive segregation was observed. In general, eleven QTLs were detected for all traits. Total phenotypic variance explained by these QTLs varied from 11.82 to 21.42 percent. The highest LOD value for QTL controlling germination speed (LOD =6.65) was obtained on chromosome 4BQSg-Normal. The results revealed that QTLs of index of germination rate and germination speed related to the quantity and quality of seed germination had desirable performance in all three environments. However, detected stable and cluster QTLs may be used in marker assisted selection (MAS) programs.

Keywords: QTL, germination indices, wheat.

* نویسنده مسئول: دکتر معروف خلیلی
E-mail: makhalily@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) مهمترین گیاه زراعی از نظر میزان تولید و اهمیت در جهان است که در سطحی معادل ۲۱۷ میلیون هکتار کشت می‌شود و میزان تولید سالیانه آن ۶۵۱ میلیون تن گزارش شده است (FAO, 2013). با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، برآورد شده است که تولید گندم در جهان تا سال ۲۰۲۰ باید به طور متوسط سالیانه ۲ درصد افزایش یابد تا پاسخگوی نیاز غذایی جمعیت دنیا باشد (Abdel-Ghany *et al*., 2004).

در بیش از ۵۰ درصد مناطق زیر کشت گندم در دنیا، خشکی عامل اصلی کاهنده تولید این گیاه می‌باشد (Trethowan and Reynolds, 2007). برآورد شده است که در این مناطق به دلیل کمبود آب، میانگین عملکرد گندم ۳۰ تا ۶۰ درصد مقدار واقعی قابل بهره‌برداری است (Nezhad *et al*., 2004). بنابراین، تولید ارقام متحمل به تنش در مراحل مختلف رشد فیزیولوژیکی از چالش‌های اصلی برنامه‌های اصلاح گندم در دنیا می‌باشد. جوانه‌زنی یکی از مراحل حساس به تنش خشکی بوده و در مناطقی که استقرار گیاه در اثر خشکی با مشکل مواجه می‌شود، اصلاح صفات مربوط به جوانه‌زنی یکی از اهداف مهم بشمار می‌آید و در گزینش مقاومت به خشکی توصیه شده است (Rauf *et al*., 2007; Bayoumi *et al*., 2008).

جوانه‌زنی بذر (ظرفیت، زمان، میزان و همزمانی) از خصوصیات بارز آزمون جوانه‌زنی استاندارد یک رقم توصیف می‌شوند(Ilona *et al*., 2014). تنش‌های خشکی می‌توانند در کاهش سرعت جوانه‌زنی و هم درصد جوانه‌زنی تأثیر گذار باشند (Paulsen, 1987). جوانه‌زدن دانه می‌تواند یکی از اولین شاخص‌های زنده ماندن بذر باشد (Lewak, 1998). این پارامتر بیانگر پتانسیل جوانه‌زنی و ارزش زراعی برای کاشت‌دانه می‌باشد (Contreras *et al*., 2005). عوامل بسیاری ممکن است به عوارض جانبی ساختاری جوانه‌زنی ضعیف دانه منجر گردد و تغییرات متابولیکی در دانه باعث کاهش جوانه‌زنی، عدم فعال شدن جنین دانه و بقیه مراحل رشد گیاه را با مشکل مواجه می‌کند. روند جوانه‌زنی بسیار پیچیده بوده و این موضوع به اثرات بسیاری از عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی و محیطی بستگی دارد (Bewley *et al*., 1994). گرچه اثرات اغلب ژن‌ها نیز توسط عوامل محیطی تغییر می‌کند (Falconer and Mackay, 1996). پتانسیل جوانه‌زنی یک صفت کمی و احتمالاً کنترل پلی ژنیک داشته باشد که آن نیز توسط عوامل خارجی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Bettey *et al*., 2000; Zhang *et al*., 2005).

گزینش مستقیم برای عملکرد در شرایط تنش خشکی با توجه به وراثت‌پذیری کم، کنترل پلی‌ژنی، اپیستازی، اثر متقابل ژنوتیپ×محیط و QTL × محیط و نیز پیچیده بودن سازوکارهای تحمل خشکی کارآیی چندانی ندارد. بنابراین، برای بهبود تحمل به خشکی، شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل (خصوصیات و شاخص‌های جوانه‌زنی) و استفاده از نشانگرهای پیوسته با این ژن‌ها می‌تواند علاوه بر تسریع برنامه‌های اصلاحی، کارآیی آن‌ها را نیز در جهت تولید ارقام متحمل پر محصول افزایش دهد (Cattivelli, 2008).

تعیین تعداد و نوع اثر ژن‌های کنترل کننده صفات کمی از قبیل عملکرد و صفات کیفی مرتبط با آن گام اساسی در اصلاح مولکولی گیاهان است (Cooper *et al*., 2009). تجزیه QTL پلی است که رابطه بین تنوع پیوسته فنوتیپی (قابل اندازه‌گیری) و مکانیزم‌های توارثی حاصل از تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی منفرد را برقرار می‌سازد (Collard *et al*., 2005). شناسایی QTL، امکان گزینش به کمک نشانگر (MAS) را فراهم می‌سازد (Koroff *et al*., 2008; Emebiri *et al*., 2009). اگرچه تحقیقات زیادی در زمینه تجزیه QTL روی گندم انجام شده است، ولی تعداد اندکی مطالعه فقط روی

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

صفات مربوط به کمیت و کیفیت جوانه‌زنی در گندم انجام گرفته است (Ilona *et al*., 2014). در بررسی Ilona *et al*. (2014) QTLهای کنترل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اولیه در ۹۰ دابل هاپلوئید دانه گندم بهاره نتیجه گرفتند: در مجموع سی و هشت QTL برای کلیه صفات مورد مطالعه شناسایی کردند. هفده QTL در شرایط بدون تنش خشکی در کروموزوم‌های 1A،2A ، 7A، 1B، 2B، 3B، 4B، 5B، 6B، 7B، 2D، 3D، 4D و 6D، مکان‌یابی گردیدند در حالی‌که بیست و یک QTL برای صفات مورد مطالعه (جوانه‌زنی و رشد گیاهچه اولیه) در شرایط تنش خشکی در کروموزوم‌های ۱A، 2A، 5A، 2B، 3B، 4B، 5B، 6B، 7B، 3D، 5D و 6D، شناسایی شدند. بسیاری از QTLهای کنترل‌کننده جوانه‌زنی و پارامترهای رشد برگ در کروموزوم 4B (همراه با نشانگر RHT-B1) مکان‌یابی گردیدند. در هر دو شرایط محیطی نتایج نشان می‌دهد صفات مورد مطالعه ماهیت پیچیده و پلی‌ژنیک دارند.

با توجه به پژوهش Landjeva *et al*. (2010) روی صفات جوانه‌زنی در ۸۵ لاین DILs گندم و والدین آنها، بیست QTL شناسایی کردند که بیشتر آنها به صورت خوشه‌ای روی کروموزوم 1DS قرار داشتند.

در نتایج تحقیقات Contreras *et al*. (2005) مشخص گردید که سرعت جوانه‌زنی بیشتر از درصد جوانه‌زنی به تنش آب حساسیت نشان داده وهمانند اکثر صفات جوانه‌زنی از همان سطح اولیه تنش رطوبتی کاهش می‌یابد. ارقامی که دارای سرعت جوانه‌زنی بالاتر باشند، دارای درصد جوانه‌زنی بیشتر بوده و بهتر می‌توانند در برابر تنش‌های مختلف مقاومت کنند از این‌رو بررسی این صفات دارای اهمیت می‌باشد (Pessqraki, 1996). تنش خشکی بر سرعت جوانه‌زنی ژنوتیپ‌ها اثر معنی داری داشته و کمترین سرعت جوانه‌زنی در پتانسیل با بار منفی (۱۲-) مشاهده گردید، پاسخ گوناگون ژنوتیپ‌های مختلف به تنش خشکی میتواند به دلیل عوامل مختلفی از جمله جذب کمتر آب در ارقام حساس، اندازه بذرها و احتمالاً ویژگی‌های پوشش سطحی بذر باشد (Das and Zaidi, 1996; De and Kar, 1994).

اصلاح گیاهان به روش مدرن درمورد صفات پیچیده کمی و کیفی با استفاده از روش‌های ترکیبی مولکولی و فنوتیپی، بایستی در برنامه‌های اصلاحی به صورت مکمل هم استفاده شوند (Ribaut and Ragot, 2007). متخصصان اصلاح نباتات به دنبال یافتن صفاتی هستند که باعث یکنواختی عملکرد در شرایط تنش خشکی می‌شوند، آنها سعی دارند QTLهای این صفات کیفی را در یک لاین جمع نمایند، بدون اینکه این QTLها تاثیری بر روی کاهش پتانسیل عملکرد داشته باشند. این راهبرد باعث ایجاد لاین‌های با عملکرد بالا و کیفیت مورد نظر شده و عملکرد را در شرایط تنش خشکی بهبود می‌بخشد. برای بهبود تحمل به خشکی بایستی صفاتی که باعث یکنواختی عملکرد می‌شوند را شناسایی و به ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا منتقل نمود (Cattivelli *et al*., 2008).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل ۱۴۹ لاین اینبرد نوترکیب گندم نان بهاره حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo (زودرس و پاکوتاه به عنوان والد پدری با منشأ امریکا) و ژنوتیپ No. 49 (دیررس و پابلند به عنوان والد مادری با منشأ سیستان و بلوچستان) به همراه والدین بود. جمعیت حاصل از طریق روش بالک تک بذری تولید و تا زمان رسیدن به خلوص، گزینشی در لاین‌ها انجام نشده است. بذور لاین‌ها از دانشگاه ریورساید در اختیار قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز قرار داده شده است. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در قالب طرح آلفا لاتیس در مزعه تحقیقاتی دانشگاه مهاباد در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ کشت شدند، که بر اساس طبقه‌بندی دومارتن، جزو مناطق نیمه‌خشک کشور طبقه‌بندی می‌شود. آبیاری در

تیمارهای بدون تنش، بعد از ۹۰ میلی‌متر تبخیر از طشتک کلاس A، بسته به دما و میزان تبخیر و تعرق انجام گردید و در شرایط تنش کمبود آب بر اساس ۱۹۰ میلی‌متر تبخیر از طشتک کلاس A اعمال گردید. صفات مورد اندازه‌گیری مرتبط با شاخص‌های جوانه‌زنی عبارت بودند از: صفات ضریب سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی نهایی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص میزان جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه بر اساس روش‌های Almudaris (1998) و De and Kar (1994) اندازه‌گیری شدند.

با شمارش بذرهای جوانه‌دار شده به‌طور روزانه، معیارهای ضریب سرعت جوانه‌زنی، (Coefficient of Velocity of Germination: CVG) شاخص میزان جوانه‌زنی (Germination Rate Index: GRI)، درصد جوانه‌زنی نهایی (Final Germination Percent: FGP)، میانگین زمان جوانه‌زنی و میانگین سرعت جوانه‌زنی از روابط ذیل برآورد گردیدند.

(۱) ضریب سرعت جوانه‌زنی

$$CVG=۱۰۰\times\frac{\sum N_I}{\sum N_i T_i}$$

(۲) شاخص میزان جوانه‌زنی

$$RGI=\frac{G_۱}{۱}+\frac{G_۲}{۲}+...+\frac{G_i}{i}$$

(۳) درصد جوانه‌زنی نهایی

$$FGP=\frac{N_g}{N_t}\times۱۰۰$$

(۴) میانگین زمان جوانه‌زنی

$$MDG=\sum(\frac{N_t}{\sum N})$$

(۵) میانگین سرعت جوانه‌زنی

$$MSG=\sum_{i}^{n}T=\frac{N}{t}$$

Ti و Ni: به ترتیب تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز و تعداد روز از شروع آزمایش

Gi: درصد جوانه‌زنی در روز درصد جوانه‌زنی در روز iام

Ng و Nt: به ترتیب تعداد کل بذرهای جوانه زده و تعداد کل بذرهای مورد ارزیابی

آغازگرهای مورد استفاده

در این بررسی، ۳۴۰ جفت آغازگر ریزماهواره برای تعیین چندشکلی والدین استفاده شد که در نهایت از ۱۷۰ جفت آغازگر چند شکل برای غربال جمعیت استفاده گردید. لازم به ذکر است که تعدادی از آغازگرها بیش از یک جایگاه ژنومی را تکثیر کردند. همچنین از هفت آغازگر رتروترانسپوزونی مبتنی بر نواحی LTR رتروترانسپوزون‌های جو و ترکیبات آن‌ها (۲۸ ترکیب) در تکنیک IRAP و از ترکیب این آغازگر با آغازگرهای ISSR (۶۳ ترکیب) در تکنیک REMAP برای غربال جمعیت استفاده شد. از کل ترکیبات مورد ارزیابی (۹۱ ترکیب) ۲۰ ترکیب آغازگری بین والدین چندشکل بودند.

قبل از تجزیه پیوستگی، تجزیه انحراف از نسبت‌های مندلی ۱:۱ در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب بر اساس نشانگر ریزماهواره با استفاده از نرم‌افزار MapDisto 1.7 (Loriex, 2012) انجام شد. تجزیه پیوستگی، پس از حذف نشانگرهای دارای انحراف از نسبت مندلی، براساس LOD≥۳ و بیشینه فاصله ژنتیکی برابر با ۵۰ سانتی‌مورگان با استفاده از برنامه MapDisto 1.7 انجام گردید. تجزیه QTL به کمک برنامه Windows QTL Cartographer V.2.5_009 (Wang *et al*., 2012) و بر اساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب انجام و برای QTLهای شناسایی شده، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی برآورد شد. نهایتاً، برای شناسایی اثرات متقابل بین مکان ژنی یا اپیستازی، آزمون اثرات اصلی QTLهای شناسایی شده و معنی‌دار بودن یا نبودن اثرات آنها، تست معنی‌دار بودن یا نبودن اپیستازی در تجزیه همزمان QTLها در یک مدل رگرسیون چندگانه، از روش مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه[1] (MIM) در برنامه QTL Cartographer استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 صورت گرفت.

1. Multiple Interval Mapping

نتایج و بحث

پس از بررسی و تایید برقراری فرض‌های تجزیه واریانس، یعنی نرمال بودن توزیع خطاها، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری و اثر افزایشی بلوک با تیمار، تجزیه واریانس مرکب با استفاده از داده‌های دو شرایط انجام گردید. تجزیه واریانس برای هر یک از صفات به صورت جداگانه با رویه لاتیس نرم‌افزار SAS انجام گرفت. با توجه به این‌که، کارایی لاتیس برای اکثریت صفات کمتر از ۱۰۰ و برای برخی از صفات ۱۰۵–۱۰۰ درصد بود، کلیه داده‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه شدند. نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی و بدون تنش (جدول ۱) نشان داد که ژنوتیپ های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ آماری دارند. اما اثر متقابل ژنوتیپ×محیط برای هیچ کدام از صفات معنی‌دار نبود. به‌طور کلی نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات شاخص‌های جوانه‌زنی وجود دارد و می‌توان از این تنوع در برنامه‌های گزینش برای افزایش کمیت و کیفیت این شاخص‌ها بهره‌برداری کرد. عدم معنی‌دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ×محیط برای صفات، نشانگر تاثیر یکسان شرایط محیطی روی صفات مورد آزمایش بود. Jajermy (2013) در تحقیقات خود روی جوانه‌زنی گندم اثر ژنوتیپ را معنی‌دار و اثر ژنوتیپ×محیط را برای اکثریت صفات غیر معنی دار گزارش نمود. پارامترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه بین ۱۴۹ لاین هاپلوئید مورد مطالعه به همراه دو والد (Yecora Rojo × No. 49) در میانگین دو محیط درجدول ۲ درج گردیده است. اختلاف بین میانگین والدین برای تمامی صفات در سطح ۱٪ آماری معنی‌دار گردید که نشان می‌دهد والدین برای صفات شاخص‌های جوانه‌زنی مورد مطالعه در دو حد نهایی انتخاب گردیده‌اند. درمقایسه بهترین والد و بهترین لاین، همواره تفکیک متجاوز (پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت) مشاهده گردید. نتایج بدست آمده با تحقیقات Norain *et al.*(2013) روی همین والدین با صفات زراعی مطابقت دارد. معنی‌دار بودن پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت و منفی، نشان می‌دهد که آلل‌های کاهنده و افزایش‌دهنده در بین والدین وجود دارد. معنی‌دار بودن تفکیک متجاوز در والدین پیش‌نیاز انجام تجزیه QTL می‌باشد، زیرا نشان می‌دهد والدین از نظر ژن‌های کنترل‌کننده صفات متفاوت می‌باشند.

جدول ۱– تجزیه واریانس مرکب صفات مرتیط با جوانه‌زنی

SOV	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
			ضریب سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی نهایی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص میزان جوانه‌زنی	متوسط جوانه‌زنی
Location (L)	محیط	1	0.15**	1475.8**	1.68**	2537.1**	59.03*
Replication in location	تکرار داخل مکان	2	0.001	49.81	0.001	18.37	1.99
Genotype (G)	ژنوتیپ	150	0.002**	60.53**	0.034**	37.60**	2.42**
G × L	ژنوتیپ×محیط	150	0.001ns	1.04ns	0.001ns	0.55ns	0.04ns
Error	خطا	300	0.0001	3.75	0.003	0.86	0.15

ns عدم معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱٪ آماری.

در گزارشات متعدد تاکید شده است که بدون پیشرفت ژنتیکی، مقادیر وراثت‌پذیری اهمیت کاربردی در گزینش بر اساس فنوتیپ نخواهد داشت (Ehdaie and Waines, 1989). لذا در برنامه‌های اصلاحی برای گزینش توأم، پیشرفت ژنتیکی بایستی همراه با وراثت‌پذیری در نظر گرفته شود. در این تحقیق، مقادیر وراثت پذیری بالا با پیشرفت ژنتیکی بالا برای برخی از صفات (سرعت جوانه‌زنی) مندرج در جدول ۲ نشان می‌دهد که در مورد این صفات، ماهیت افزایشی واریانس ژنتیکی از والدین به نتاج قابل انتقال است. همچنین، این صفات به راحتی می‌توانند از طریق گزینش در نسل‌های اولیه در ژنوتیپ‌ها تثبیت گردند. وراثت‌پذیری بالا با پیشرفت ژنتیکی پائین برای صفاتی مانند شاخص میزان جوانه‌زنی حاصل شدند که حاکی از برتری (غالبیت) عمل ژن غیرافزایشی بود که از طریق اصلاح هتروزیس قابل بهره‌برداری است. محققان قبلی گزارش کرده‌اند که وراثت‌پذیری بالا ضرورتاً به افزایش پیشرفت ژنتیکی منجر نمی‌شود مگر این‌که تغییرپذیری کافی در ژرم پلاسم وجود داشته باشد (Ehdaie and Waines, 1989). Shahbazi *et al.*(2007) نتیجه گرفتند که معیارهای مربوط به سرعت جوانه‌زنی درمجموع از وراثت‌پذیری خصوصی خوبی برخوردار بوده و همبستگی معنی‌داری با تحمل به خشکی داشتند.

جدول ۲- پارامترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه بین ۱۴۹ لاین ریل به همراه دو والد (no.49 ×Yecora) درمیانگین دو شرایط نرمال و تنش آبی

Parameter	پارامتر	ضریب سرعت جوانه‌زنی cvg	درصد جوانه‌زنی نهایی fgp	سرعت جوانه‌زنی sg	شاخص میزان جوانه‌زنی gri	متوسط جوانه‌زنی روزانه mdg
Rojo Yecora (p_1)	والد روجو یکورا	0.465	94.75	2.148	44.342	18.95
No. 49 (p_2)	والد ۴۹	0.434	88	2.279	40.092	17.6
(P1-P2)	اختلاف والدین	0.031^{**}	6.75^{**}	$-.131^{**}$	4.25^{**}	1.35^{**}
Xp=(P1+P2)/2	میانگین والدین	.4495	91.37	2.213	42.717	18.275
B.DH	بهترین لاین	0.475	96.5	2.559	.446۷4	19.3
W.DH	بدترین لاین	0.382	79.25	2.094	33.088	15.85
X.DH	میانگین لاین‌ها	0.447277	90.83	2.217284	42.17863	18.16622
R	دامنه تغیرات	0.93	17.25	0.465	13.358	3.45
SD.P	انحراف استاندارد	0.023594	4.381507	0.13448	3.217435	0.77013
X.DH-XP	اختلاف میانگین لاین‌ها از والدین[1]	$-.01^{+}$	-0.54^{ns}	$.01^{ns}$	-0.538^{ns}	-0.109^{ns}
GGp=B.DH-Bp	پیشرفت ژنتیکی مثبت	0.01^{ns}	1.75^{ns}	0.28^{**}	3.11^{**}	0.35^{ns}
GGn=W.DH-Wp	پیشرفت ژنتیکی منفی	-0.052^{**}	-8.75^{**}	-0.054^{ns}	-7.004^{**}	-1.75^{**}
Gcv(%)	ضریب تنوع ژنوتیپی	3.537625	2.86191	3.904581	4.98869	2.612603
Pcv(%)	ضریب تنوع فنوتیپی	5.274791	4.823411	6.065238	7.626821	4.239029
hN2	وراثت پذیری خصوصی	0.765808	0.684871	0.83897	0.749443	0.710151
GC5%	بازده ژنتیکی	16.10362	16.20346	14.04698	10.87118	17.98905
Lsd	حداقل اختلاف معنی دار	0.020	4.115	0.120	2.839	0.708
CV.DH	ضریب تغییرات	2.03%	2.13%	2.38%	2.21%	2.13%

Descriptive statistics, heritability and genetic gain of double haploid barley lines and their parents (Rojo Yecora and No. 49) for qualitative and quantitative traits

P_1: parent 1, P_2: parent 2, (P_1- P_2): Difference between parents, X_P: Mean parents, B.DH: Best double haploids, W.D.H: Worst of double haploids, X.D.H: Mean of double haploids, V.R: Range of variation, S.D: Standard deviation, X.DH-XP: Mean of double haploids minus mean of parents, TS: Transgrisive segregations'. Gcv(%): Genetic coefficient of variations, Pcv (%): Phenotypic coffenetic of variations, hN^2: narrow sense heritability. (GC5% genetic gain respectively. LSD: least significant difference.

1= tested by F test in orthogonal compares

تجزیه QTL در شرایط مختلف محیطی

نتایج تجزیه QTL برای صفات مربوط به کمیت و کیفیت شاخص‌های جوانه‌زنی ۱۴۹ لاین حاصل از تلاقی والدین (Yecora Rojo × No. 49) برای هر محیط جداگانه و میانگین داده‌های دو محیط، اطلاعات مربوط به هر صفت با QTLهای مربوطه و محل قرار گرفتن آن‌ها در روی کروموزوم در جدول ۳ و شکل ۱ خلاصه گردیده است. برای ۵ صفت مورد مطالعه در مجموع ۱۱، QTL شناسایی گردیدند. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها از مقدار ۱۱/۸۲ درصد برای ضریب سرعت جوانه‌زنی (cvg) در شرایط تنش کم آبی تا ۲۱/۴۲ درصد برای سرعت جوانه‌زنی (sg) در شرایط عادی متغیر بود. بیشترین وکمترین LOD مربوطبه QTL کنترل‌کننده با سرعت جوانه‌زنی ۶/۶۵ و ضریب سرعت جوانه‌زنی با ۳/۱۱ بدست آمد.

در شرایط بدون تنش خشکی چهار QTL با اثر بزرگ و متوسط بر روی کروموزوم‌های 4B و 2A مکان‌یابی گردیدند. برای صفت سرعت جوانه‌زنی دو QTLکه در مجموع ۳۳/۳۸ درصد واریانس فنوتیپی از تنوع کل این صفت را کنترل می‌کنند. QTLهای QSG4B-Normal و QSG2A-Normal به ترتیب در موقعیت‌های۵/۰ و ۲/۳سانتی مورگان در مجاورت نشانگرهای Wms121-Sukkula.1300 و Gwm35-Gwm296 قرار داشتند. QTLهای مکان‌یابی شده برای سرعت جوانه‌زنی با تحقیق Iiona *et al.* (2014) روی کروموزوم2A، 4B و 4D تقریباً همخوانی داشت. همچنین دو QTL روی کروموزوم 4B برای شاخص میزان جوانه در موقعیت‌های ۶/۰ و ۲/۱ سانتی‌مورگان با اثرات آللی افزایشی مثبت و منفی در مجاورت نشانگرهای Wms121-Sukkula.1300 و Psp2999-Wmc336 قرار داشتند که هر کدام به ترتیب ۱۵/۱۸ و ۱۲/۳۲ درصد واریانس فنوتیپی و در مجموع ۲۷/۵ درصد از تنوع کل را توجیه نمودند.

در شرایط تنش خشکی مجموعاً چهار QTL با اثرات مختلف بر روی کروموزوم 4B مکان‌یابی گردیدند برای ضریب سرعت جوانه‌زنی به عنوان یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده و تاثیرگذار در کیفیت و کمیت جوانه‌زنی، یک QTL روی کروموزوم‌های 4B در نقطه ۵ سانتی‌مورگان فاصلهQTL از نشانگر سمت چپ Wms121-Sukkula.1300مکان‌یابی گردید. QTL اصلی Qcvg4B-Stress با LOD=۳/۱۱ بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل این صفت داشت که در مجموع ۱۱/۸۲ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود. صفت سرعت جوانه‌زنی به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی در تعیین کمیت و کیفیت جوانه‌زنی، توسط یک QTL، Qsg4B-Stress که روی کروموزوم 4B مکان‌یابی گردید، کنترل می‌شود. QTL فوق مقدار واریانس فنوتیپی (۱۳/۸۷ درصد) را توجیه نمود. شاخص میزان جوانه‌زنی توسط دو QTL بزرگ اثر، (Qgri4B-Stress) با LOD=۵/۶۱ نزدیک نشانگر Wms121-Sukkula.1300 بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل (R^2 فنوتیپی) صفت فوق را داشت. اثرات آللی QTL اصلی مثبت (۱/۲۶ و QTL دیگر با LOD=۴/۶۷ و اثر آللی منفی (۱/۱۶-) بودند. QTLهای، Qgri4B-Stress در مجموع ۳۲/۳۶ درصد از تنوع شاخص میزان جوانه‌زنی را کنترل نموده و به ترتیب در موقعیت‌های۷/۰ و ۲/۱ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 4B قرار داشتند. Iiona *et al.* (2014) در شرایط تنش خشکی برای شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی QTLهای روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 4B و 3D مکان‌یابی کردند در صورتی‌که Landjeva *et al.* (2010) در پژوهش خود روی صفت جوانه‌زنی در ۸۵ لاین DILs گندم و والدین آنها، ۲۰ QTL شناسایی نموده که بیشتر آنها به صورت خوشه‌ای روی کروموزوم 1DS قرار داشتند.

نتایج تجزیه QTL برای صفات مربوط به کمیت و کیفیت شاخص‌های جوانه‌زنی در میانگین دو محیط، مجموعاً سه QTL با اثرات مختلف بر روی کروموزوم 4B مکان‌یابی گردیدند.

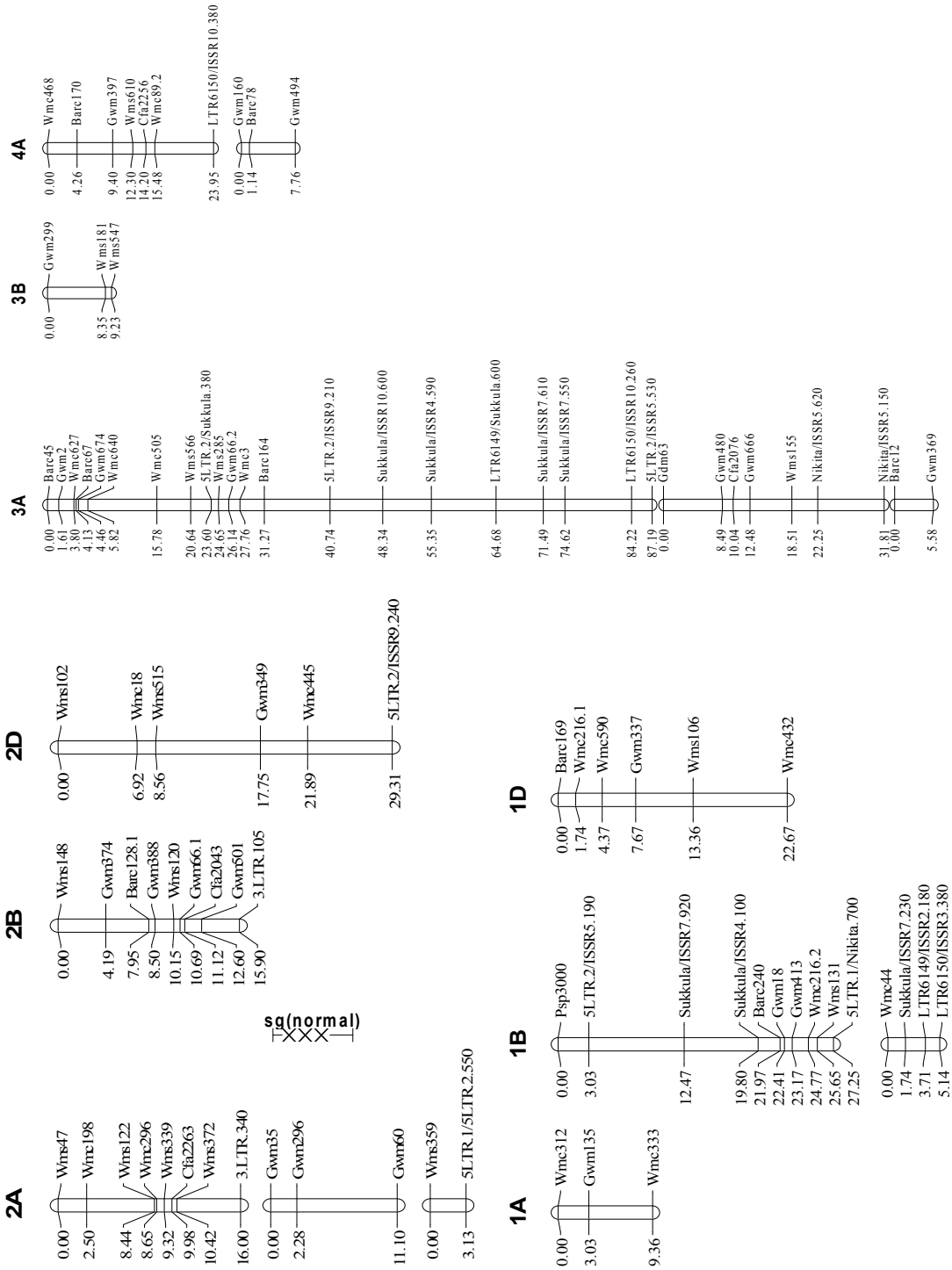
جدول ۳- جایگاه کروموزومی نشانگرهای احاطه‌کننده، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مورد ارزیابی

نشانگر	فاصله QTL از نشانگر سمت چپ (cM)	کروموزوم	اثر افزایشی	LOD	درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت
sg-Normal					
Wms121-Sukkula.1300	5.0	4B	-0.0319	6.65	21.42
Gwm35-Gwm296	2.3	2A	-0.0297	3.4	11.96
gri-Normal					
Wms121-Sukkula.1300	6.0	4B	0.9145	4.97	15.18
Psp2999-Wmc336	2.1	4B	-0.8152	3.58	12.32
cvg-Stress					
Wms121-Sukkula.1300	5.0	4B	0.0063	3.11	11.82
sg-Stress					
Wms121-Sukkula.1300	5.0	4B	-0.0288	3.95	13.87
gri-Stress					
Wms121-Sukkula.1300	7.0	4B	1.2670	5.61	18.02
Psp2999-Wmc336	2.1	4B	-1.160	4.67	14.34
sg-Combined					
Wms121-Sukkula.1300	5.0	4B	-0.0504	4.85	16.85
gri-Combined					
Wms121-Sukkula.1300	6.0	4B	1.0068	5.63	18.75
Psp2999-Wmc336	2.1	4B	-0.9157	4.64	14.23

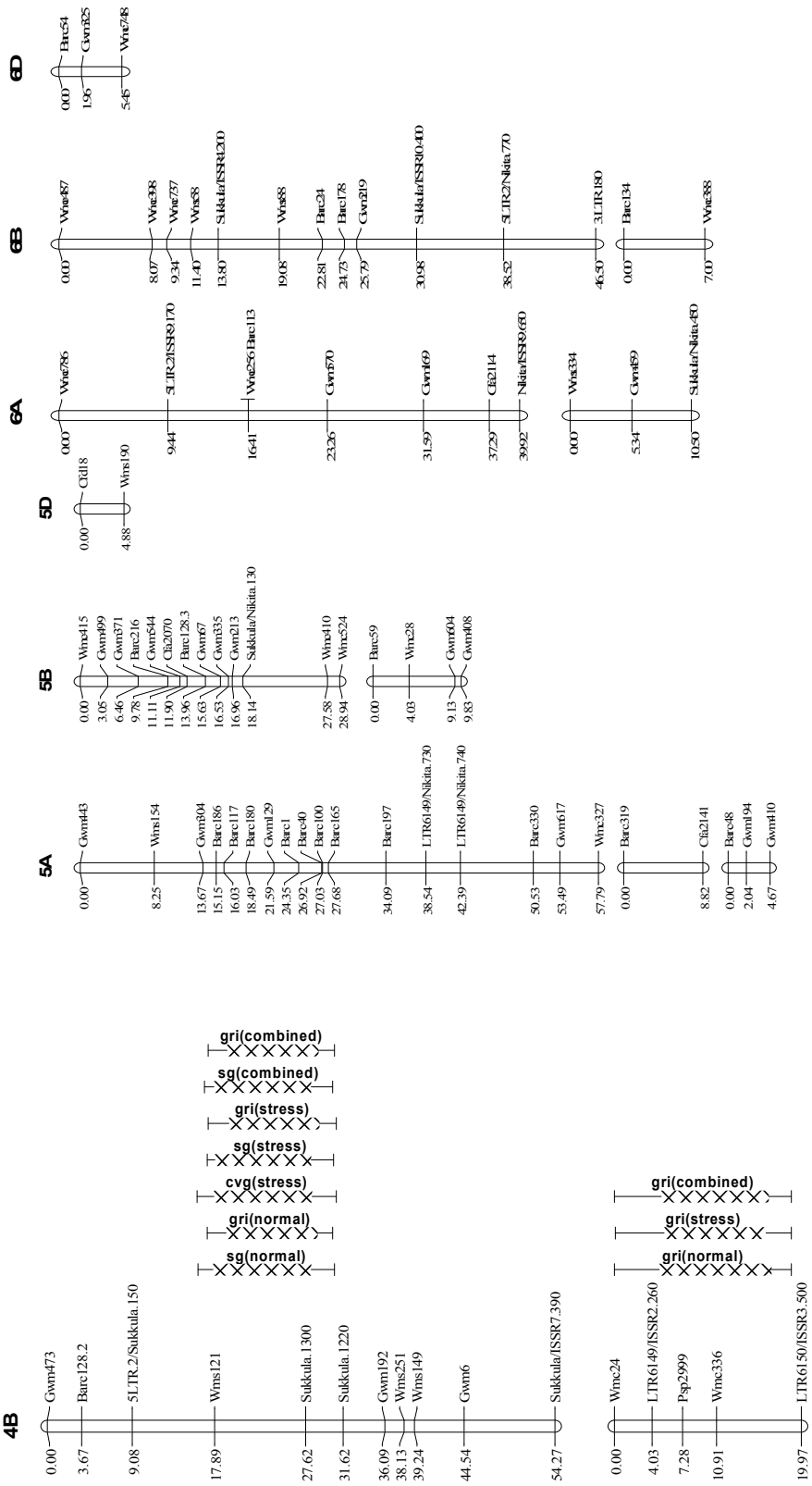
یک QTL، Qsg4B-Combined روی کروموزم 4B با موقعیت ۵ سانتی مورگان برای توجیه سرعت جوانه‌زنی بذر شناسایی گردید که ۱۶/۸۵ درصد از تنوع فنوتیپی کل این صفت را توجیه نمود. مقدار LOD این QTL برابر با ۴/۸۵ می‌باشد. اثرات آللی این QTL برابر (۰/۰۵-) بود. اثر افزایشی مثبت مربوط به الل والد Yecora Rojo و منفی به الل والد No.49 است. شاخص میزان جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده و تاثیرگذار در جوانه‌زنی، با دو QTL، Qgri4B-Combined روی کروموزوم 4B در موقعیت‌های ۶/۰ و ۲/۱ کنترل می‌گردد، این QTLها در مجموع ۳۲/۹۸ درصد از تنوع کل را توجیه می‌کنند.

در هر سه شرایط مختلف، در کروموزوم 4B، QTLهای کنترل‌کننده سرعت جوانه‌زنی (Qsg4B) در موقعیت 5/0 سانتی مورگان با اثرات آللی منفی و شاخص میزان جوانه‌زنی (Qgri4B) در موقعیت تقریباً ۶/۰ سانتی مورگان با اثرات آللی مثبت، مجاور نشانگرهای Wms121-Sukkula.1300قرار دارند. Ilona *et al.* (2014) و Landjeva *et al.* (2010) در شرایط مختلف محیطی برای شاخص‌های مختلف جوانه‌زنی QTLها را به صورت خوشه‌ای و روی کروموزوم‌های مشابه مکان‌یابی کردند. تظاهر QTLها در شرایط مختلف محیطی نشان از پایداری آنها می‌باشد و خوشه‌ای بودن آنها، کار گزینش و انتقال QTLها را آسان‌تر می‌نماید. Ullrich *et al. (2009)* در اغلب موارد QTLهای خواب بذر و جوانه‌زنی را هم مکان در جو گزارش نمودند، آنها QTLهای کنترل‌کننده خواب بذر را در روی کروموزوم‌های 1H، 2H و 7H و جوانه‌زنی را

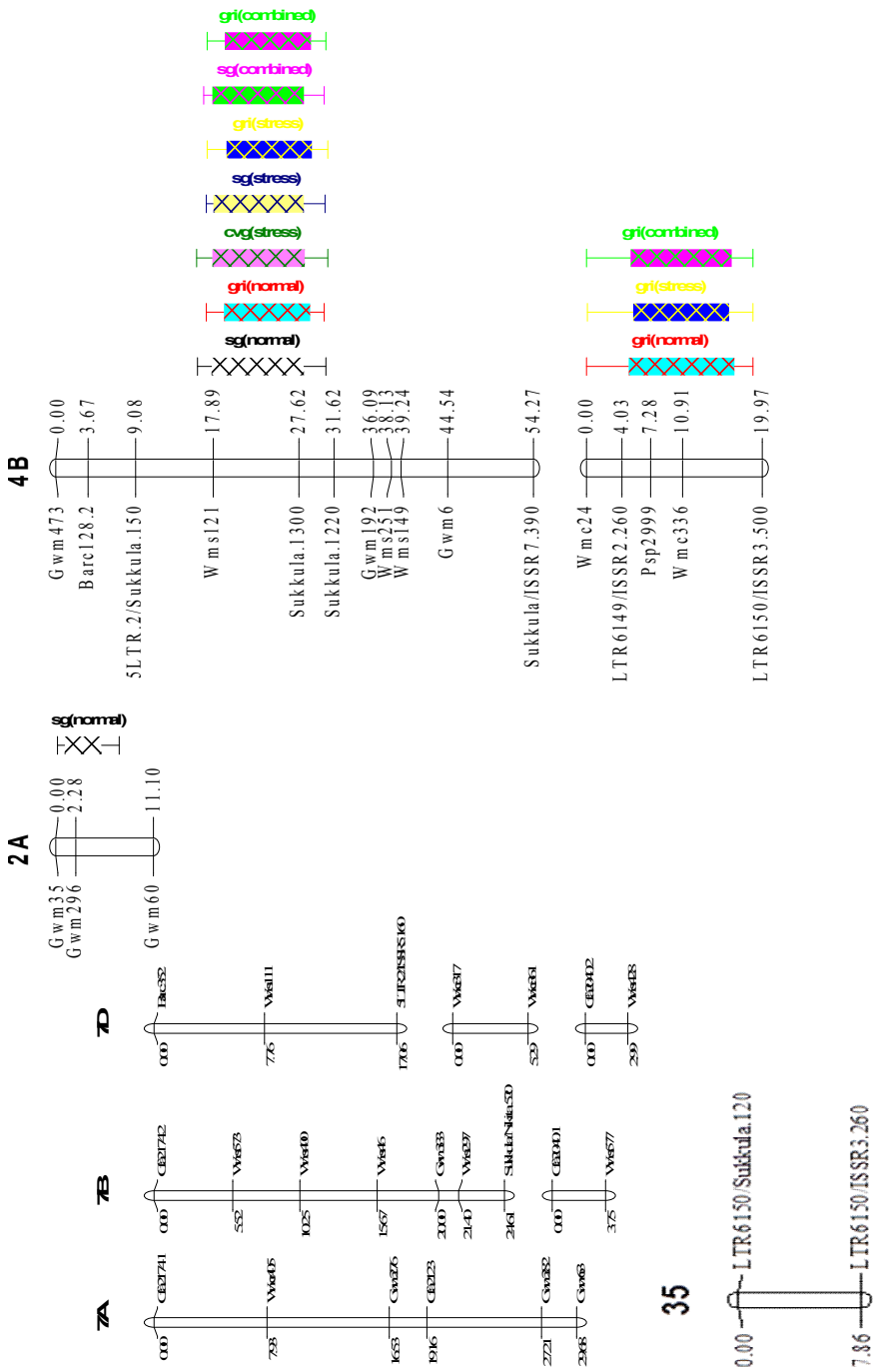
روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H و 7H شناسایی کردند. Zhang *et al.* (2011) هم مکانی QTLهای خواب بذر ومقاومت به جوانه‌زنی (PHS) را روی کروموزوم 5H گزارش نمودند.



شکل ۱- نقشه پیوستگی صفات مختلف و QTLهای شناسایی شده در ۱۴۹ لاین RIL و والدین آنها (No.49 ×Yecora) در دو شرایط نرمال و تنش رطوبتی



ادامه شکل ۱- نقشه پیوستگی صفات مختلف و QTLهای شناسایی شده در ۱۴۹ لاین RIL و والدین آنها (No.49 ×Yecora) در دو شرایط نرمال و تنش رطوبتی



ادامه شکل ۱- نقشه پیوستگی صفات مختلف و QTLهای شناسایی شده در ۱۴۹ لاین RIL و والدین آنها (No.49 ×Yecora) در دو شرایط نرمال و تنش رطوبتی و میانگین دو محیط

اثرات آللی سرعت جوانه‌زنی منفی و اثرات آللی شاخص میزان جوانه‌زنی دانه مثبت بود و این نشان می‌دهد آلل‌هایی که باعث کاهش شاخص میزان جوانه‌زنی می‌شوند همین آلل‌ها باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی دانه جو می‌گردند و همبستگی منفی و معنی‌دار ($r=-0/88^{**}$) بین دو صفت تاییدکننده این مطلب می‌باشد و از طرفی احتمالاً ژن‌های خوشه ایی کنترل کننده کیفیت و کمیت جوانه‌زنی دانه در این

ناحیه از کروموزوم قرار گرفته‌اند. ژن‌های خوشه‌ای، صفات متفاوت که در مجاورت همدیگر در یک ناحیه خاص از کروموزوم قراردارند ممکن است موجب همپوشانی QTLها گردند. Orf *et al*(1999) QTLهای خوشه‌ای با اثرات شدید بر گلدهی، رسیدگی، ارتفاع بوته و ورس را گزارش نموده‌اند. در هر حال برای فهم این که ماهیت نواحی کنترل‌کننده بیشتر از یک صفت، ناشی از لینکاژ، پلیوتروپی و یا ژن‌های خوشه‌ای است، نقشه با چگالی بسیار بالا برای نقشه یابی مورد نیاز است.

پژوهش حاضر نشان داد که بین لاین‌های اینبرد نوترکیب مورد مطالعه و والدین آنها تنوع بسیار مطلوب از نظر صفات کمیت و کیفیت جوانه‌زنی دانه گندم وجود دارد که از این تنوع می‌توان برای اهداف مختلف به‌نژادی استفاده کرد و از صفات و شاخص‌های بسیار مهم مانند سرعت جوانه‌زنی، شاخص میزان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه که تاثیر اساسی در کیفیت و کمیت جوانه‌زنی دانه دارند و همچنین اندازه‌گیری ساده و اقتصادی از نظر زمان و هزینه نسبت به صفات پیچیده و هزینه بر در سطح میکرو[1] و استفاده از امکانات و دستگاهای گران‌قیمت دارند، برای ارزیابی و گزینش ارقام مناسب استفاده کرد. علاوه بر این از QTLهای پایدار و خوشه‌ای شناسایی شده برای صفات کمی و کیفی مربوط به جوانه‌زنی در دانه گندم در برنامه گزینش به کمک نشانگر (MAS) استفاده نمود. همچنین می‌توان از برخی از نشانگرهای شناسایی شده به عنوان نشانگر مثبت[2] در امر گزینش برای افزایش جوانه‌زنی نهایی کمک گرفت.

1. Micro
2. Informative

REFERENCES

Abdel-Ghany HM, Nawar AA, Ibrahim ME, El-Shamarka A, Selim MM, Fahmi AI (2004) Using tissue culture to select for drought tolerance in bread wheat. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia, 26 Sep. -1 Oct.

Almudaris MA (1998) Notes on various parameters recording the speed of seed germination. DerTropenlandwirt. 99: 147-154.

Bayoumi TY, Eid MH, Metwali E M (2008) Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. Afric. J. Biotech. 7: 2341-2352.

Bettey M, Finch–Savage WE, King GJ Lynn JR (2000) Quantitative genetic analysis of seed vigor and pre-emergence seedling growth traits in Brassica oleracea. New Phytol., 148: 227-286.

Bewley JD, Black M (1994) Seeds-physiology of development and germination, 2nd Edn, Plenum Press, New York.

Cattivelli L, Reza F, Badeck FW, Mazzucotelli AM, Masterangelo E, Francia C, Tondelli A, Stanca, (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. Field Crop Research, 105: 1-14.

Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. Euphytica, 142: 169-196

Contreras S, Barros M (2005) Vigor tests on lettuce seeds and their correlation with emergence, Cien. Inv. Agr., 32(1): 3-10.

Cooper M, Eeuwijk FAV, Hamme GL, Podlich DW, Messina C (2009) Modeling QTL for complex traits: detection and context for plant

breeding. Plant Biology, 12: 231-240.
De F, Kar R K (1994) Seed germination and seeding growth of mung been under water stress induced by PEG 6000. Seed seince and technology 23. 301-304.
Ehdaie B, Waines JG (1989) Genetic variation, heritability and path analysis in land races of bread wheat from South Western Iran. Euphytica, 41: 183-190.
Emebiri L, Michael P, Moody DB, Ogbonnaya FC, and Black C (2009) Pyramiding QTLs to improve malting quality in barley: gains in phenotype and genetic diversity. Molecular Breeding, 23: 219-228.
Falconer, D.S., and Mackay, T.F.C. 1996. Introductions to quantitative genetics. Longman, Essex. UK.
FAO. 2013. FAOSTAT, http://faostat.fao.org/site/
Ilona Czyczyło-Mysza, I, Izabela Marcińska I, Edyta Skrzypek S, Cyganek K, Juzoń1, K, Karbarz M (2014) QTL mapping for germination of seeds obtained from previous wheat generation under drought. Central European Journal of Biology. 9(4): 374-382.
Jajermi M (2013) Effect of drought stress on germination indices in seven wheat cultivars (*T. aestivum* L.). Agronomy and plant breeding magazine. 8(4): 183-192. (in Persia).
Korff M, Wang H, Le´on J, and Pillen K (2008) AB-QTL analysis in spring barley: III. Identification of exotic alleles for the improvement of malting quality. Molecular Breeding, 21: 81-93.
Landjeva S, Lohwasser U, Bo¨rner A (2010) Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. Euphytica, 171: 129-143.
Lewak, S. 1998. Seeds' germination , In: Kopcewicz J., Lewak S. (Eds). Plant Physiology ,1st ed., PWN, Warszawa.
Nezhad KZ, Weber WE, Roder MS, Sharma S, Lohwasser U, Meyer RC, Saal B, Borner A (2012) QTL analysis for thousand-grain weight under terminal drought stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica, 186: 127-138.
Orf JH, Chase K, Jarvik T, Mansur L M, Cregan PB, Adler FR, Lark KG (1999) Genetics of soybean agronomic traits: I, Comparison of three related recombinant inbred populations. Crop Science, 39: 1642-1651.
Paulsen G M (1987) Wheat stand establishment. wheat and wheat important American sSoc. Agron., USA.
Pessaraki M (1996) Plant and crop stress. Handbook, Marcel deckker, New York
Rauf M, Munir M, Ul-Hassan M, Ahmed M, Afzai M (2007) Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. Afric. J. Biotech. 8: 971-975.
Ribaut J, Ragot M (2007) Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. Journal of Experimental Botany, 58: 351-360.
Shahbazi H, Bihamta MR, Taeb M, Darvish F (2011) Inheritance of seed germination related traits for drought tolerance in bread wheat cultivars. Iranian agronomy science, 12 (1): 199-212.
Trethowan RM, Reynolds M (2007) Drought resistance: Genetic approaches for improving productivity under stress. In: Buck H.R. et al. (eds): Wheat production in stressed environments, 289-299, Springer Pub., the Netherlands
Ullrich SE, lee H, Clancy JA, Del blanco IA, Jitkov VA, Kleinhofs A, Han F, Prada D, Romagosa I, Mplina-cano JL (2009) Genetic relationships between

pre-harvest sprouting and dormancy in barley. Euphytica, 168: 331-345.

Wang LF, Ge HM, Hao CY, Dong YS, Zhang XY (2012) Identifying loci influencing 1,000-kernel weight in wheat by microsatellite screening for evidence of selection during breeding. Plos One 7.

Wang S, Basten CJ, Zeng ZB (2007) Windows QTL cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleig, NC. (Available at http:// statgen. Ncsu.edu/qtlcart/wQTL.htm/).

Zhang ZH, Yu SB, Yu T (2005) Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling-vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). Field Crop Res. 91(2-3): 161-170

Zhang X, Westcott S, Panozzo J, Cakir M, Harasymow S, Tarr A, Broughton S, Lance R, Li C (2011) Comparative analysis of Australian and Canadian barleys for seed dormancy and malting quality. Euphytica, 1: 1-9.