

بررسی تنوع ژنتیکی و مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه گندم

معروف خلیلی^{۱*}، فهیمه جواهری کاشانی^۲، محمد علی ابراهیمی^۱

۱- عضو هیئت علمی بخش کشاورزی، دانشگاه پیام نور، واحد کرج، ایران

۲- دانش آموخته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور، واحد کرج، ایران

چکیده

به منظور بررسی تنوع و مکان‌یابی QTL‌های کنترل کننده صفات مورفولوژیکی و رویشی بذر گندم، ۱۴۸ اینبرد لاین نوترکیب همراه با دو والد Rojo Yecora و No. 49، آزمایشی در قالب طرح آلفا لائیس با دو تکرار و دو شرایط نرمال و تنش رطوبتی در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. صفات درصد جوانه‌زنی نهایی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و شاخص بنیه بذر مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در شرایط نرمال رطوبتی بالاترین مقدار وراثت‌پذیری خصوصی به صفات طول ساقه‌چه، وزن ساقه‌چه، شاخص بنیه بذر و درصد جوانه‌زنی نهایی اختصاص داشت، همچنین بالاترین مقدار وراثت‌پذیری خصوصی در شرایط تنش کم آبی به صفت طول ریشه‌چه اختصاص داشت. تجزیه QTL به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) برای هر صفت در هر محیط و میانگین دو محیط انجام گردید. در شرایط نرمال در مجموع ۱۶ عدد QTL شناسایی شد. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها از ۱۱/۵ تا ۲۱/۶ درصد متغیر بود. بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی به ترتیب متعلق به وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه بود و همچنین LOD در دامنه ۳/۱۵ تا ۶/۷۶ قرار داشت. در شرایط تنش رطوبتی در مجموع ۲۰ عدد QTL شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها از ۱۱/۹ تا ۲۴/۷ درصد متغیر بود که به ترتیب صفات وزن خشک ریشه‌چه و طول ساقه‌چه اختصاص داشت، LOD نیز در دامنه ۳/۱۱ تا ۹/۶۷ قرار داشت. برای صفات مورد مطالعه در میانگین دو محیط ۱۴ عدد QTL شناسایی شد. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها از ۱۱/۴۱ تا ۲۳/۲ درصد متغیر بود که به ترتیب صفات وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه اختصاص داشت. LOD در دامنه ۳/۱۲ تا ۷/۲۵ قرار داشت. در دو شرایط محیطی مختلف و میانگین آنها، QTL شناسایی شده بر روی کروموزوم شماره 4B و حد فاصل دو مارکر Wms121-Sukkula.1300 کنترل کننده صفات وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر و QTL قرار گرفته بر روی کروموزوم 2D حد فاصل دو مارکر Gwm349-Wmc445 کنترل کننده صفت شاخص بنیه بذر، در کلیه شرایط پایداری کامل داشتند که می‌توان از آنها برای گزینش به کمک نشانگر (MAS) استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اینبرد لاین نوترکیب، QTL، شاخص‌های گیاهچه‌ای، گندم

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, 2015). در بیش از ۵۰ درصد مناطق زیر کشت گندم در دنیا، خشکی عامل اصلی کاهش تولید این گیاه می‌باشد (Trethowan and Reynolds, 2007). بنابراین، تولید ارقام متحمل به تنش در مراحل مختلف رشد فیزیولوژیکی از چالش‌های اصلی برنامه‌های اصلاح گندم در دنیا می‌باشد.

جوانه زنی 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 جوانه زنی یکی از اهداف مهم بشمار می‌آید و در گزینش مقاومت به خشکی توصیه شده است (Bayoumi et al., 2008). جوانه‌زدن بذر یکی از اولین شاخص‌های زنده ماندن بذر بوده و این پارامتر بیانگر پتانسیل جوانه زنی و ارزش زراعی برای کاشت بذر می‌باشد (Contreras et al., 2005). عوامل بسیاری ممکن است به عوارض جانبی ساختاری جوانه زنی ضعیف بذر منجر گردد و تغییرات متابولیکی در بذر باعث کاهش جوانه‌زنی، عدم فعال شدن جنین بذر و بقیه مراحل رشد گیاه را با مشکل مواجه می‌کند. روند جوانه زنی بسیار پیچیده بوده و این موضوع به اثرات بسیاری از عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی و محیطی بستگی دارد (Bewley et al., 1994). پتانسیل جوانه زنی یک صفت کمی و احتمالاً کنترل پلی ژنیک داشته باشد که آن

نیز توسط عوامل خارجی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Zhang et al., 2005). رشد اولیه گیاه مهم ترین مرحله برای استقرار گیاه، به خصوص در شرایط تنش خشکی است. علاوه بر این غلاتی که در پاییز کشت می‌شوند، اغلب در آغاز فصل تنش خشکی را تجربه می‌کنند (Landjeva et al., 2008). گندم‌های با بنیه اولیه قویتر، سریع‌تر بر روی سطح خاک سایه می‌اندازند و هدر رفتن آب را کاهش می‌دهند. هدر رفتن آب با تبخیر از سطح خاک بر کارایی مصرف آب به خصوص در نواحی خشک تاثیر می‌گذارد (Spielmeyer et al., 2007; Nezhad et al., 2012). همچنین رشد سریع اولیه با افزایش قدرت رقابت گیاه در مواجه شدن با علف‌های هرز منجر به کاهش رشد علف‌های هرز می‌شود (عبدالشاهی و همکاران، ۱۳۸۸).

گزینش مستقیم برای عملکرد در شرایط تنش خشکی با توجه به وراثت‌پذیری کم، کنترل پلی‌ژنی، اپیستازی، اثر متقابل ژنوتیپ \times محیط و QTL \times محیط و نیز پیچیده بودن ساز و کارهای تحمل خشکی کارآیی چندانی ندارد. بنابراین، برای بهبود تحمل به خشکی، شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل خشکی (خصوصیات و شاخص‌های جوانه زنی) و استفاده از نشانگرهای پیوسته با این ژن‌های 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

و هشت QTL برای کلیه صفات مورد مطالعه شناسایی کردند. هفده QTL در شرایط بدون تنش خشکی بر روی ۱۴ کروموزوم و بیست و یک QTL در شرایط تنش خشکی در ۱۲ کروموزوم شناسایی شدند. بسیاری از QTLهای کنترل کننده جوانه زنی و پارامترهای رشد برگ در کروموزوم 4B (همراه با نشانگر RHT-B1) مکان یابی گردیدند. در هر دو شرایط محیطی نتایج نشان داد صفات مورد مطالعه ماهیت پیچیده و پلی ژنیک داشتند.

خلیلی و محمدی (۱۳۹۴) در کل یازده QTL را برای صفات مرتبط با جوانه زنی شناسایی کردند که واریانس فنوتیپی کل تبیین شده بوسیله این QTLها از ۱۱/۸ تا ۲۱/۴ درصد متغیر بود.

طاهری و همکاران (۱۳۹۰) در مطالعه مکان یابی ژنهای مرتبط با تحمل به خشکی در مرحله جوانه زنی گندم، تعداد بیست و چهار QTL برای صفات وزن تر ریشه (در شرایط استرس)، و وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه در شرایط تنش کم آبی و وزن تر ریشه و وزن تر ساقه بر روی کروموزوم های A3، B3، A5، B5، D5، A6، B6 و D6 شناسایی نمودند. آنها در ژنوم های A، B و D به ترتیب ۱۱، ۸ و ۵ عدد QTL مکان یابی کردند که کروموزوم A6 بیشترین تعداد QTLها را به خود اختصاص داده بود.

اهمیت فاکتورهای موثر در جوانه زنی بذر و استقرار اولیه گیاهچه در خاک در شرایط تنش خشکی کمتر مورد توجه محققین قرار گرفته است (Landjeva *et al.*, 2008). از اینرو شناخت مسائل ژنتیکی این فاکتورها برای اصلاحگران در برنامه های اصلاح برای تنش خشکی می تواند از اهمیت به

پلی است که رابطه بین تنوع پیوسته فنوتیپی (قابل اندازه گیری) و مکانیزم های توارثی حاصل از تنوع ژنتیکی مکان های ژنی منفرد را برقرار می سازد *et al* (Collard *et al.*, 2005).

یکی از دلایلی که باعث می شود تا یک QTL مشخص در نواحی مختلف ژنوم واقع شود، اثر محیط است. ناپایداری QTLها در محیط های متفاوت ناشی از کنترل صفات به وسیله تعداد زیادی مکان ژنی با اثر کم است و اثر محیط در آنها زیاد است. جوامع اصلاحی وقتی در محیط های متنوع آزمایش می شوند، معمولاً اثر محیط را نشان می دهند. اثر متقابل QTL×E به صورت تغییر در تعداد QTLها یا تغییر در اندازه اثر آنها در محیط های متفاوت بیان می شود (Hayes *et al.*, 1993)، بنابراین در تجزیه QTL تکرار آزمایش در چند محیط اهمیت خاصی دارد زیرا بعضی از QTLها اختصاصی محیط هستند و در صورت فقدان تکرار در محیط شناسایی نخواهند شد. عواملی مانند جامعه گیاهی، نرم افزار، تابع نقشه کشی، تعداد و نوع نشانگرها نیز ممکن است بر یکسان نبودن نتایج به دست آمده تأثیر بگذارند (Siahsar and Narouei, 2010). علاوه بر این مقادیر گوناگون خطا در آزمایش های متفاوت نیز ممکن است موجب ناپایداری شود. بنابراین برای اینکه بتوان از QTLها برای بهبود گونه های زراعی استفاده کرد، نیاز به مطالعات زیادی در سال ها، مکان ها، زمینه های ژنتیکی متفاوت و همچنین جمعیت های گوناگون است.

ایونا و همکاران (Iiona *et al.*, 2014) در بررسی QTLهای کنترل جوانه زنی و رشد گیاهچه اولیه در ۹۰ دابلدها پلوئید گندم بهاره، در مجموع سی

۱۰۵-۱۰۰ درصد بود، کلیه داده‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی تجزیه شدند.

در این بررسی صفات درصد جوانه‌زنی نهایی، سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک گیاه‌چه (Ellis and Roberts, 1981) و شاخص بنیه‌بذر اندازه‌گیری شدند (Scott et al., 1984).

$$SVI = FGP \times SDW$$

درصد جوانه زنی نهایی = FGP

وزن خشک گیاهچه = SVI

در این بررسی آماره‌های میانگین، دامنه تغییرات، ضریب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی، وراثت-پذیری خصوصی و بازده ژنتیکی برای شدت گزینش ۵ درصد برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده با رویه Univariate در نرم‌افزار SAS محاسبه شدند. تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی با استفاده از فرمول‌های $100 \times PCV = (\sigma_p/x)$ و $100 \times GCV = (\sigma_g/x)$ محاسبه گردیدند که در آن‌ها σ_p و σ_g به ترتیب انحراف معیارهای فنوتیپی و ژنوتیپی و x میانگین صفت در کل جمعیت است. بازده ژنتیکی برای شدت گزینش ۵ درصد با استفاده از رابطه $GC = Kh^2\sigma_p$ محاسبه شد، که در آن K دیفرانسیل گزینش استاندارد شده (۲/۰۶۵ برای ۵ درصد گزینش)، σ_p انحراف معیار فنوتیپی و h^2 وارثت‌پذیری خصوصی صفات است.

آغازگرهای مورد استفاده: در این بررسی، ۳۴۰ جفت آغازگر ریزوماهواره برای تعیین چندشکلی والدین استفاده شد که در نهایت از ۱۷۰ جفت آغازگر چند شکل برای غربال جمعیت استفاده گردید. تعدادی از آغازگرها بیش از یک جایگاه ژنومی را تکثیر کردند. همچنین از هفت آغازگر

سزائی برخوردار باشد. با توجه به اینکه بسیاری از صفات موثر در تحمل خشکی با چندین ژن کنترل شده و به صورت کمی به ارث می‌رسند، شناسایی QTL‌های مربوطه و کاربرد آنها در انتخاب به کمک نشانگر از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین مهمترین اهداف این تحقیق عبارت بودند از: ۱- بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گندم از لحاظ بنیه‌بذر، ۲- مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه گندم و پایداری آنها.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده شامل ۱۴۸ 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 توسط آقای دکتر بهمن اهدایی از دانشگاه ریورساید در اختیار قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز قرار داده شده است. این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۵ در قالب طرح آلفا لایس با دو تکرار انجام شد. که ژنوتیپ‌ها در دو شرایط نرمال و تنش خشکی (به وسیله پلی اتیل گلیکول PEG ۰/۶ میلی مولار) مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه واریانس برای هر یک از صفات به صورت جداگانه با رویه لایس نرم‌افزار SAS انجام گرفت ولی با توجه به این‌که، کارایی لایس برای اکثریت صفات کمتر از ۱۰۰ و برای برخی از صفات

زیاد داخل جمعیت بود. از آنجا که جامعه لاین‌های نوترکیب خالص هستند، بنابراین تنوع موجود در این جمعیت غالباً ناشی از آثار افزایشی است. اثر متقابل ژنوتیپ × محیط نیز برای اکثریت صفات معنی‌دار بود که بیانگر واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در محیط‌های متفاوت است. مشابه نتایج این تحقیق، فاخری و بایکی (۱۳۹۳) در بررسی نقشه‌یابی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک مرتبط با جوانه‌زنی گندم نان در وضعیت طبیعی و تنش اسمزی بین دو محیط نرمال و تنش، بین ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط اختلاف معنی‌داری مشاهده نمودند. بر اساس نتایج جدول ضرایب همبستگی بین صفات در هر دو شرایط نرمال و تنش کم آبی بین سرعت جوانه‌زنی و صفات درصد نهایی جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، وزن ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر همبستگی مثبت و معنی‌دار دیده شد. دیگر ضرایب همبستگی بین صفات در جدول ۲ قید گردیده است.

پارامترهای ژنتیکی: پارامترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه بین ۱۴۸ لاین اینبرد مورد مطالعه به همراه دو والد (Yecora Rojo × No. 49) در شرایط نرمال و تنش خشکی در جداول ۲ و ۳ درج گردیده است. اختلاف والدین برای صفات درصد جوانه‌زنی نهایی، طول ساقه‌چه، وزن ریشه‌چه، وزن ساقه‌چه، وزن خشک گیاه‌چه و شاخص بنیه بذر معنی‌دار بود. وجود اختلاف معنی‌دار بین والدین حاکی از آن است که دو والد از لحاظ صفات مورد بررسی در دو حد انتهایی بوده و جمعیت حاصل از آنها برای تجزیه QTL مناسب می‌باشد. در شرایط نرمال و تنش خشکی تفکیک متجاوز مثبت و منفی

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.

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 فاصله‌ی چندگانه^۱ (MIM) در برنامه QTL Cartographer استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.2 صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه پس از بررسی و تایید برقراری فرض‌های تجزیه واریانس، یعنی نرمال بودن توزیع خطاها، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری انجام گردید. نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی و بدون تنش (جدول ۱) نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری داشتند که نشانگر تنوع

1- Multiple Interval Mapping

تحت شرایط نرمال رطوبتی مقدار وراثت پذیری عمومی برآورد شده برای کلیه صفات متوسط به بالا بود به نحوی که صفت میانگین سرعت جوانه زنی با ۵۸/۸ درصد کمترین و صفت طول ساقه چه با متوسط ۹۸/۳ درصد بالاترین مقدار وراثت پذیری داشتند.

معنی دار برای اغلب صفات مشاهده شد، معنی دار شدن تفکیک متجاوز در جهت مثبت و منفی در مورد هر دو والد مبین این واقعیت است که ژنوتیپ های برتر از هر والد طیف وسیعی از تنوع صفات در نتاج را نشان دادند. ضریب تغییرات تنوع فنوتیپی در صفات از ۳/۹۶ درصد تا ۱۹/۲ درصد و ضریب تغییرات تنوع ژنتیکی از ۳/۸ تا ۱۸/۹ درصد متغیر بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس مرکب صفات مرتبط با جوانه زنی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		درصد جوانه زنی نهایی	میانگین سرعت جوانه زنی	طول ریشه چه	طول ساقه چه	وزن خشک ریشه چه	وزن خشک ساقه چه	وزن خشک گیاه چه	شاخص بنبه بذر
محیط	۱	۱۴۶/۸۱**	۰/۶۸**	۲۲۵/۰۵**	۹۱/۷**	۰/۰۴۷**	۰/۰۲۲**	۰/۱۲**	۲۶۲/۴**
E ₁	۲	۷/۱۶	۰/۱۱	۶/۲۷	۵/۲۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۲۷/۰۵
ژنوتیپ	۱۴۹	۴۸/۹۹**	۰/۰۴**	۱/۴۲**	۳/۱۵**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۲**	۱/۹۷**
ژنوتیپ × محیط	۱۴۹	۶/۲۰ ^{ns}	۰/۰۲**	۱/۲۵**	۱/۳۳**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۰۱۵**	۱/۴۱**
E ₂	۲۹۸	۸/۶۷	۰/۰۱۵	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۴	۰/۳۴

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱٪.

جدول ۲- همبستگی بین صفات مورد بررسی در شرایط نرمال (اعداد پایین) و تنش رطوبتی (اعداد بالا)

شاخص	وزن گیاهچه	وزن ساقه چه	وزن ریشه چه	طول ساقه چه	طول ریشه چه	میانگین سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی نهایی
شاخص بنبه بذر	۰/۳۸**	۰/۱۸*	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۹*	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۳۷**
سرعت جوانه زنی	۰/۲۷**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۰*	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۴۴**	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۵۴**
طول ریشه چه	۰/۵۰**	۰/۴۶**	۰/۳۳**	۰/۶۷**	۰/۷۶**	۰/۳۰**	۰/۲۵**
طول ساقه چه	۰/۶۱**	۰/۶۱**	۰/۴۹**	۰/۶۳**	۰/۳۹**	۰/۳۳**	۰/۰۷ ^{ns}
وزن خشک ریشه چه	۰/۶۸**	۰/۶۸**	۰/۴۳**	۰/۴۸**	۰/۷۹**	۰/۱۹*	۰/۰۹ ^{ns}
وزن خشک ساقه چه	۰/۹۲**	۰/۹۵**	۰/۵۹**	۰/۸۵**	۰/۴۹**	۰/۴۳**	۰/۱۰ ^{ns}
وزن خشک گیاهچه	۰/۹۷**	۰/۸۹**	۰/۸۹**	۰/۷۴**	۰/۷۲**	۰/۱۹*	۰/۱۱ ^{ns}
شاخص بنبه بذر	۰/۹۷**	۰/۸۷**	۰/۸۶**	۰/۷۲**	۰/۷۳**	۰/۲۶**	۰/۳۳**

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱٪.

جوانه زنی نهایی، طول ساقه چه و شاخص بنیه بذر به دست آمد. بنابراین، می‌توان این صفات را از طریق گزینش در نسل‌های اولیه در ژنوتیپ‌ها تثبیت کرد. ضرایب تنوع فنوتیپی برای صفات بررسی شده بیشتر از ضرایب تنوع ژنتیکی بودند، البته در بسیاری از حالات تفاوت آنها کم بود، که این مسئله نشان دهنده آثار کم عوامل محیطی در برآورد آنهاست. تحت شرایط تنش رطوبتی، مقدار وراثت پذیری عمومی در صفات مورد بررسی از دامنه تنوع بالاتری در مقایسه با شرایط نرمال برخوردار بود (جدول ۳).

با توجه به اینکه واریانس ژنتیکی بین لاین‌های خالص نوترکیب معادل دو برابر واریانس افزایشی است بنابراین وراثت‌پذیری خصوصی بر این مبنا برآورد شد (Houshmand, 2003). در گزارشات متعدد تاکید شده است که بدون پیشرفت ژنتیکی، مقادیر وراثت‌پذیری اهمیت کاربردی در گزینش بر اساس فنوتیپ نخواهد داشت (Ehdaie and Wains, 1997). لذا، در برنامه‌های اصلاحی برای گزینش توأم، پیشرفت ژنتیکی بایستی همراه با وراثت‌پذیری در نظر گرفته شود. در این تحقیق، مقادیر وراثت‌پذیری با پیشرفت ژنتیکی خوب برای درصد

جدول ۳- پارامترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه تحت شرایط نرمال رطوبتی

شاخص بنیه بذر	وزن خشک گیاهچه (میلی گرم)	وزن خشک ساقه چه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه چه (میلی گرم)	طول ساقه چه (cm)	طول ریشه چه (cm)	میانگین سرعت جوانه زنی (روز)	درصد جوانه زنی نهایی	شرایط نرمال	درصد	
									PCV%	GCV%
۶/۵۶	۶۹	۳۳	۳۶	۶/۲۹	۵/۴۵	۲/۲۰	۹۴/۷۵	Yecora Rojo		
۵/۷۴	۶۴	۳۱	۳۳	۵/۶۳	۴/۸۰	۲/۳۴	۸۸/۷۵	No. 49		
۰/۸۱	۵	۲	۳	۰/۵۷	۰/۶۴	-۰/۱۳۹	۶	اختلاف والدین		
۶/۱۵	۶۷	۳۲	۳۴	۵/۹۲	۵/۳۱	۲/۲۷	۹۱/۷۵	میانگین والدین		
۹/۲۶	۹۷	۵۱	۵۴	۸/۷۶	۷/۳۲	۲/۶۵	۹۸/۷۵	حداکثر		
۳/۱۷	۳۶	۱۶	۱۶	۲/۹۴	۲/۲۰	۱/۹۶	۸۰/۷۵	حداقل		
۶/۴۶	۶۹	۳۳	۳۶	۶/۰۱	۵/۳۱	۲/۱۷	۹۲/۵۱	میانگین لاین‌ها		
۶/۰۸	۳۳	۳۴	۳۸	۵/۸۲	۵/۱۱	۰/۶۸	۱۷/۷۵	دامنه تعییرات		
-۰/۳۱	۳	۱	-۱	-۰/۰۹۵	-۰/۱۸	۰/۱۰	-۰/۷۶	اختلاف میانگین لاین‌ها		
۲/۶۹	۲۷	۱۸	۱۸	۲/۵۵	۱/۸۶	۰/۳۰	۳/۷۵	تفکیک متجاوز مثبت		
-۲/۵۶	-۲۸	-۱۴	-۱۶	-۲/۶۹	-۲/۶۰	-۰/۲۴	-۸	تفکیک متجاوز منفی		
۱۷/۲۶	۱۷/۷۴	۱۹/۱۶	۱۶/۶۶	۱۸/۳۰	۱۴/۹۴	۶	۳/۹۶	PCV%		
۱۶/۸۴	۱۴/۴۹	۱۸/۹۲	۱۵/۷۱	۱۸/۱۵	۱۳/۷۱	۴/۶۰	۳/۷۷	GCV%		
۹۵/۱۶	۶۶/۶۶	۹۷/۵	۸۸/۸۸	۹۸/۳۴	۸۴/۱۲	۵۸/۸۲	۹۰/۸۰	h ² % عمومی		
۴۷/۵۸	۳۳/۳۳	۴۸/۷۵	۴۴/۴۴	۴۹/۱۷	۴۲/۰۶	۲۹/۴۱	۴۵/۴۰	h ² % خصوصی		
۱/۰۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۱/۰۸	۰/۶۶	۰/۰۷	۳/۳۳	Gc ₅ %		
۰/۵۴	۰/۰۰۵۴	۰/۰۰۰۵۷	۰/۰۰۱۲	۰/۳۵	۰/۷۳	۰/۲۰	۲/۵۷	LSD ₅ %		

PCV% = درصد تنوع ژنوتیپی GCV% = درصد تنوع ژنوتیپی Gc₅% بازده گزینشی ۵٪

جدول ۴- پارامترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه تحت شرایط تنش رطوبتی

شاخص بنیه بذر	وزن خشک گیاهیچه (میلی گرم)	وزن خشک ساقه چه (میلی گرم)	وزن خشک ریشه چه (میلی گرم)	طول ساقه چه (cm)	طول ریشه چه (cm)	میانگین سرعت جوانه زنی (روز)	درصد جوانه زنی نهایی	شرایط نرمال
۳/۳۲	۳۷	۱۸	۲۰	۲/۹۸	۴/۶۱	۲/۲۱	۹۳/۵	Yecora Rojo
۳/۰۸	۳۴	۱۶	۱۸	۲/۸۳	۴/۵۴	۲/۳۵	۸۸/۲۵	No. 49
۰/۲۳	۳	۲	۲	۰/۱۵	۰/۰۶۷	-۰/۱۳	۵/۲۵	اختلاف والدین
۳/۲۰	۳۶	۱۷	۱۹	۲/۹۰	۴/۵۷	۲/۲۸	۹۰/۸۷	میانگین والدین
۵/۵۳	۶۱	۳۳	۲۷	۶/۳۱	۷/۱۲	۲/۶۵	۹۶/۷۵	حداکثر
۲/۴۵	۲۸	۱۱	۱۱	۱/۶۷	۱/۱۶	۲/۰۸	۷۷/۷۵	حداقل
۳/۵۶	۳۹	۲۱	۲۱	۳/۴۵	۵/۶۷	۲/۳۴	۹۱/۴۱	میانگین لاین‌ها
۳/۰۷	۳۲	۲۱	۱۵	۴/۶۴	۵/۹۶	۰/۵۷	۱۹	دامنه تعییرات
-۰/۳۵	۳	۴	-۲	-۰/۶۴	-۱/۱	-۰/۰۶	-۱/۴۶	اختلاف میانگین لاین‌ها
۲/۲۱	۲۳	۱۵	۷	۳/۳	۲/۵۱	۰/۳۰	۳/۲۵	تفکیک متجاوز مثبت
-۰/۶۲	-۶	-۴	-۷	-۱/۱۵	-۳/۳۸	-۰/۱۳۴	-۱۰/۵	تفکیک متجاوز منفی
۱۸/۶۸	۱۸/۱۳	۲۶/۰۸	۴۱/۵۷	۲۰/۵۵	۲۰/۵۰	۵/۴۶	۴/۱۶	PCV%
۱۱/۲۶	۹/۹۳	۱۰/۶۴	۳۰/۴۲	۱۶/۸۵	۱۶/۹۵	۳/۹۹	۳/۱۳	GCV%
۳۶/۳۶	۳۰/۱۲	۱۶/۶۶	۵۳/۵۷	۶۸	۸۵/۷۱	۵۳/۳۳	۵۶/۶۶	h ² % عمومی
۱۸/۱۸	۱۵/۰۶	۸/۳۳	۲۶/۷۸	۳۴	۴۲/۸۵	۲۶/۶۶	۲۸/۳۰	h ² % خصوصی
۰/۲۴	۰/۰۰۲۱	۰/۰۰۰۹۱	۰/۴۰	۰/۴۸	۰/۷۱	۰/۰۶۵	۲/۱۰	Gc ₅ %
۱/۲۱	۰/۰۰۳	۰/۰۱۱	۰/۰۰۳۷	۰/۹۴	۰/۲۳	۰/۱۹	۵/۶۸	LSD ₅ %

PCV% = درصد تنوع ژنوتیپی GCV% = درصد تنوع ژنوتیپی Gc₅% بازده گزینشی ۵٪

(Richards, 1994). بنابراین می‌توان اظهار داشت در کنترل صفت درصد جوانه زنی نهایی اثرات افزایشی ژن‌ها و در کنترل صفت وزن خشک ساقه چه اثرات غیر افزایشی نقش دارند و گزینش بر اساس صفات مذکور در جمعیت مؤثر واقع می‌شود.

تجزیه QTL: در شرایط نرمال، برای صفات مورد مطالعه در مجموع ۱۶ عدد QTL شناسایی شدند. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها از ۱۱/۵ تا ۲۱/۸ درصد متغیر بود. بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی به ترتیب متعلق به وزن خشک ساقه چه و وزن خشک ریشه چه بود (جدول ۵). برای صفت سرعت جوانه زنی دو QTL که در مجموع

با توجه به تنوع موجود برای طول ریشه چه، طول ساقه چه و شاخص بنیه بذر، استنباط شد که انتخاب برای بهبود آنها مؤثر خواهد بود. با این حال، کارایی انتخاب بستگی به پیشرفت ژنتیکی پیش بینی شده دارد. صفاتی که توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی زیادی دارند، ممکن است در کنترل عمل جمع‌پذیر ژن‌ها باشند. علاوه بر این، برآورد بالای توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی ممکن است به دلیل واریانس محیطی پایین صفات باشد (Panse, 1957). صفاتی که هم زمان توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالایی ندارند، احتمالاً در کنترل آثار جمع‌ناپذیر ژن‌ها (غالبیت و اپیستازی) هستند (Liang and

که در مجاورت نشانگرهای Wms121- و Gwm35-Gwm296، Sukkula.1300 و Gwm349-Wmc445 قرار داشتند.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر بر روی کروموزوم شماره 4B، QTLهای کنترل کننده صفات سرعت جوانه زنی، وزن خشک ریشه چه، طول ساقه چه، وزن خشک ساقه چه و شاخص بنیه بذر به صورت خوشه ای در فاصله ژنی مشابه و بین مارکرهای Wms121- Sukkula.1300 قرار داشتند. همچنین بر روی

کروموزوم 2A در حد فاصل دو مارکر مشترک Gwm35-Gwm296، QTLهای مرتبط با صفات سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و شاخص بنیه بذر به صورت خوشه ای قرار داشتند. QTL خوشه ای دیگر بر روی کروموزوم شماره 2D قرار داشت که کنترل کننده صفات طول ریشه چه، طول ساقه چه و شاخص بنیه بذر بود. هر سه QTL در حد فاصل دو مارکر مشترک Gwm349-Wmc445 قرار داشتند. در تحقیق حاضر بین صفات درصد جوانه زنی نهایی، سرعت جوانه زنی، طول و وزن خشک ریشه چه و ساقه چه، وزن خشک گیاه چه و شاخص بنیه بذر همبستگی مثبت و معنی داری مشاهده گردید (جدول ۲). بنابراین قرار گرفتن QTLهای کنترل

کننده این صفات احتمالاً می تواند دلیلی بر وجود همبستگی مثبت و معنی دار بین صفات مذکور باشد که توسط مکان های ژنی مشابهی کنترل می شوند. شناسایی QTLهای کنترل جوانه زنی و رشد گیاهچه بر روی کروموزوم های 2A، 2D و 4B همسو با نتایج مطالعه ایونا و همکاران (Iiona et al., 2014) است.

در شرایط تنش رطوبتی در مجموع ۲۰ عدد QTL شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله

۳۳/۴ درصد واریانس فنوتیپی از تنوع کل این صفت را کنترل می کنند، شناسایی شدند. QTLهای QSG2A-Normal و QSG4B-Normal به ترتیب در موقعیت های ۵ و ۲/۳ سانتی مورگان در مجاورت نشانگرهای Wms121-Sukkula.1300 و Gwm35- Gwm296 قرار داشتند. QTLهای مکان یابی شده برای سرعت جوانه زنی با تحقیق ایونا و همکاران (Iiona et al., 2014) روی کروموزوم 2A، 4B و 4D تقریباً همخوانی داشت.

برای طول ریشه چه سه QTL بر روی کروموزوم های 2A، 3B و 2D مکان یابی شدند که این سه QTL در مجموع ۴۸/۸ درصد از تغییرات فنوتیپی طول ریشه چه را تبیین نمودند که ناحیه ژنومی QRL3B-Normal با تبیین ۱۸/۴ درصد بالاترین مقدار تغییرات را در مقایسه با دو QTL دیگر تبیین نمود. در شرایط نرمال، برای وزن خشک ریشه چه سه QTL بر روی کروموزوم های 4B، 3B و 6D شناسایی شدند، و این QTLها به ترتیب با نشانگرهای LTR6149/ISSR2.260-Psp2999، Wms181 و GWM325-Wmc748 پیوستگی داشته و به ترتیب دارای واریانس فنوتیپی ۱۴/۴، ۱۲/۵ و ۱۱/۵ درصد بودند.

برای صفت طول ساقه چه سه QTL بر روی کروموزوم های 4B، 4B و 2D مکان یابی شد و این QTLها در مجموع ۵۵/۱ درصد از واریانس فنوتیپی صفت طول ساقه چه را تبیین نمودند. دو QTL وزن خشک ساقه چه بر روی کروموزوم های 4B، 5B قرار داشتند که دارای واریانس فنوتیپی ۲۱/۵ و ۱۲/۳ درصد بودند. برای صفت قدرت بنیه بذر سه QTL بر روی کروموزوم های 4B، 2A و 2D شناسایی شدند

بر روی کروموزوم DS 7 مرتبط با Xgwm1002 مکان‌یابی کردند که مسئول کنترل رشد طبیعی گیاهچه است.

همانند شرایط نرمال تحت شرایط تنش رطوبتی نیز بر روی کروموزوم 4B حد فاصل مارکرهای Wms121-Sukkula.1300، QTLهای کنترل کننده صفات سرعت جوانه زنی، طول ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر به صورت خوشه ای قرار داشتند. QTLهای کنترل کننده صفات طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه نیز به صورت خوشه ای بر روی کروموزوم 2A بین دو مارکر Gwm296-Gwm60 واقع بودند. QTLهای کنترل کننده صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر نیز به صورت خوشه ای بر روی کروموزوم 2D و در حد فاصل دو مارکر Gwm349-Wmc445 قرار داشتند. در تحقیقی مشابه، خلیلی و محمدی (۱۳۹۴)، ۱۱ QTL در شرایط نرمال، کم آبی و مجموع دو شرایط مکانیابی کردند که QTLهای مستقر بر روی کروموزوم‌های 4B و 2A به صورت خوشه ای صفات مرتبط با خصوصیات جوانه زنی و گیاهچه‌ای را کنترل می‌کردند. که همسو با نتایج مطالعه حاضر است.

برای صفات مورد مطالعه در میانگین دو محیط ۱۴ عدد QTL شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها از ۱۱/۴ تا ۲۳/۲ درصد متغیر بود که به ترتیب به صفات وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه اختصاص داشتند. LOD در دامنه تغییرات ۳/۱ تا ۷/۲ بود (جدول ۷).

در مطالعه حاضر در مجموع دو شرایط، سه QTL برای طول ریشه‌چه به ترتیب در موقعیت‌های ۳، ۱/۵

این QTLها از ۱۱/۹ تا ۲۴/۷ درصد متغیر بود که به ترتیب به صفات وزن خشک ریشه‌چه و طول ساقه‌چه اختصاص داشت (جدول ۶). صفت سرعت جوانه زنی به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی در تعیین کمیت و کیفیت جوانه زنی، توسط یک QTL روی کروموزوم 4B و پیوسته به نشانگر Wms121-Sukkula.1300 مکان‌یابی گردید.

در شرایط تنش رطوبتی، برای طول ریشه‌چه چهار QTL بر روی کروموزوم‌های 2A، 5B، 3B و 2A شناسایی شدند که در مجموع ۶۵/۶ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت طول ریشه‌چه را تبیین نمودند. برای وزن خشک ریشه‌چه چهار QTL بر روی کروموزوم‌های 4B، 3B، 6D و 5B شناسایی شدند. چهار QTL در کنترل صفت طول ساقه‌چه نقش داشتند که در مجموع ۵۱/۸ درصد از تغییرات واریانس فنوتیپی صفت طول ساقه‌چه را تبیین نمودند. برای صفت وزن خشک ساقه‌چه، سه QTL و در موقعیت‌های ۳، ۳ و ۴ سانتی مورگان شناسایی گردید. در شرایط تنش کم آبی برای شاخص بنیه بذر چهار QTL شناسایی شدند. خلیلی و محمدی (۱۳۹۴) یازده QTL را برای صفات مرتبط با جوانه زنی در گندم شناسایی کردند که واریانس فنوتیپی کل تبیین شده بوسیله این QTLها از ۱۱/۸۲ تا ۲۱/۴۲ درصد متغیر بود. لاندجیوا و همکاران (Landjeva et al., 2010) ۲۰ عدد QTL را بر روی کروموزوم‌های شماره 1D، 2D، 4D، 5D و 7D در گندم نان مکان‌یابی کردند و اظهار داشتند بیشتر QTLهای مرتبط با جوانه زنی به صورت خوشه ای بر روی کروموزوم شماره 1DS و در محدوده Xgwm1291-Xgwm337 قرار داشتند. هم چنین آنها منطقه ای را

مورگان مکان‌یابی شدند، این سه QTL مذکور در مجموع ۴۷/۷۸ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت شاخص بنیه بذر را توجیه نمودند.

در میانگین دو شرایط QTL‌های کنترل‌کننده صفات میانگین سرعت جوانه زنی، وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر به صورت خوشه‌ای و بر روی کرموزم شماره 4B قرار گرفتند به غیر از وزن خشک ریشه‌چه دیگر صفات مذکور توسط یک QTL مشترک که در بین مارکرهای Wms121-Sukkula.130 قرار داشت کنترل می‌شدند. همچنین در شرایط مذکور بر روی کرموزم 2D و در فاصله بین مارکرهای Gwm349-Wmc445 QTL‌های مشترکی برای صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر مکان‌یابی شد.

نتیجه‌گیری نهایی

برای مقاصد اصلاحی، اولین و مهم‌ترین مسئله پایداری در ظهور QTL‌های نقشه‌یابی شده است که ممکن است کاندیدای گزینش به کمک نشانگر باشند. QTL‌های پایدار، موجب پایداری نسبی کنترل ژنتیکی می‌شوند و بر اثر متقابل $QTL \times E$ غلبه می‌کنند. پایداری QTL‌ها در محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت، ناشی از کنترل صفات با تعداد اندکی مکان ژنی با اثر زیاد می‌باشد. این مسئله، مهم‌ترین بخش گزینش به کمک نشانگر است. برای ارزیابی پایداری آثار QTL‌ها جامعه نقشه‌کشی باید در وضعیت‌های محیطی و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت بررسی شود. در تحقیق حاضر در دو شرایط محیطی مختلف و میانگین آنها، QTL قرار گرفته بر روی کرموزم شماره 4B و حد فاصل دو مارکر

و ۳ سانتی مورگان بر روی کرموزم‌های 2A، 3B و 2D مکان‌یابی شدند QRL3B- Combined دارای اثرات اللی افزایشی منفی و دو QTL، QRL2A- Combined 1 و QRL2D- Combined دارای اثرات اللی افزایشی مثبت بودند. این سه QTL در مجموع ۴۸/۲ درصد از تغییرات فنوتیپی طول ریشه‌چه را تبیین نمودند که QTL، QRL3B- Combined با تبیین ۱۷/۵ درصد بالاترین و QRL2A- Combined با تبیین ۱۲/۸ درصد کمترین مقدار تغییرات را به خود اختصاص دادند. برای وزن خشک ریشه‌چه در میانگین دو مکان، سه QTL شناسایی شدند که بر روی کرموزم‌های 4B، 3B و 6D و در جایگاه‌های ۲، ۴ و ۲/۵ سانتی مورگان قرار داشتند. سه QTL مذکور در مجموع ۳۷/۱ درصد از کل واریانس صفت وزن خشک ریشه‌چه را تبیین نمودند. برای صفت طول ساقه‌چه نیز سه QTL بر روی کرموزم‌های 4B، 4B و 2D در جایگاه‌های ۵، ۲ و ۲/۵ سانتی مورگان و در مجاورت نشانگرهای Psp2999-Wmc336، Wms121-Sukkula.1300 و Gwm349-Wmc445 مکان‌یابی شدند و در مجموع ۵۵/۱ درصد از واریانس فنوتیپی صفت طول ساقه‌چه را تبیین نمودند. در مجموع دو شرایط برای وزن خشک ساقه‌چه یک QTL شناسایی شدند که بر روی کرموزم 4B و در جایگاه‌های ۱/۴ سانتی مورگان قرار داشت این QTL‌ها (QSHDW3B- Combined در مجاورت نشانگر Wms121-Sukkula.1300 قرار داشته و دارای واریانس فنوتیپی ۲۳/۲ درصد و اثر افزایشی ۰/۷۸ بود. در نهایت برای صفت قدرت بنیه بذر سه QTL بر روی کرموزم‌های 2A، 4B و 2D و در موقعیت‌های ۵، ۲ و ۳ سانتی

جدول ۵- جایگاه کروموزومی نشانگرهای احاطه کننده، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مورد ارزیابی در شرایط نرمال رطوبتی

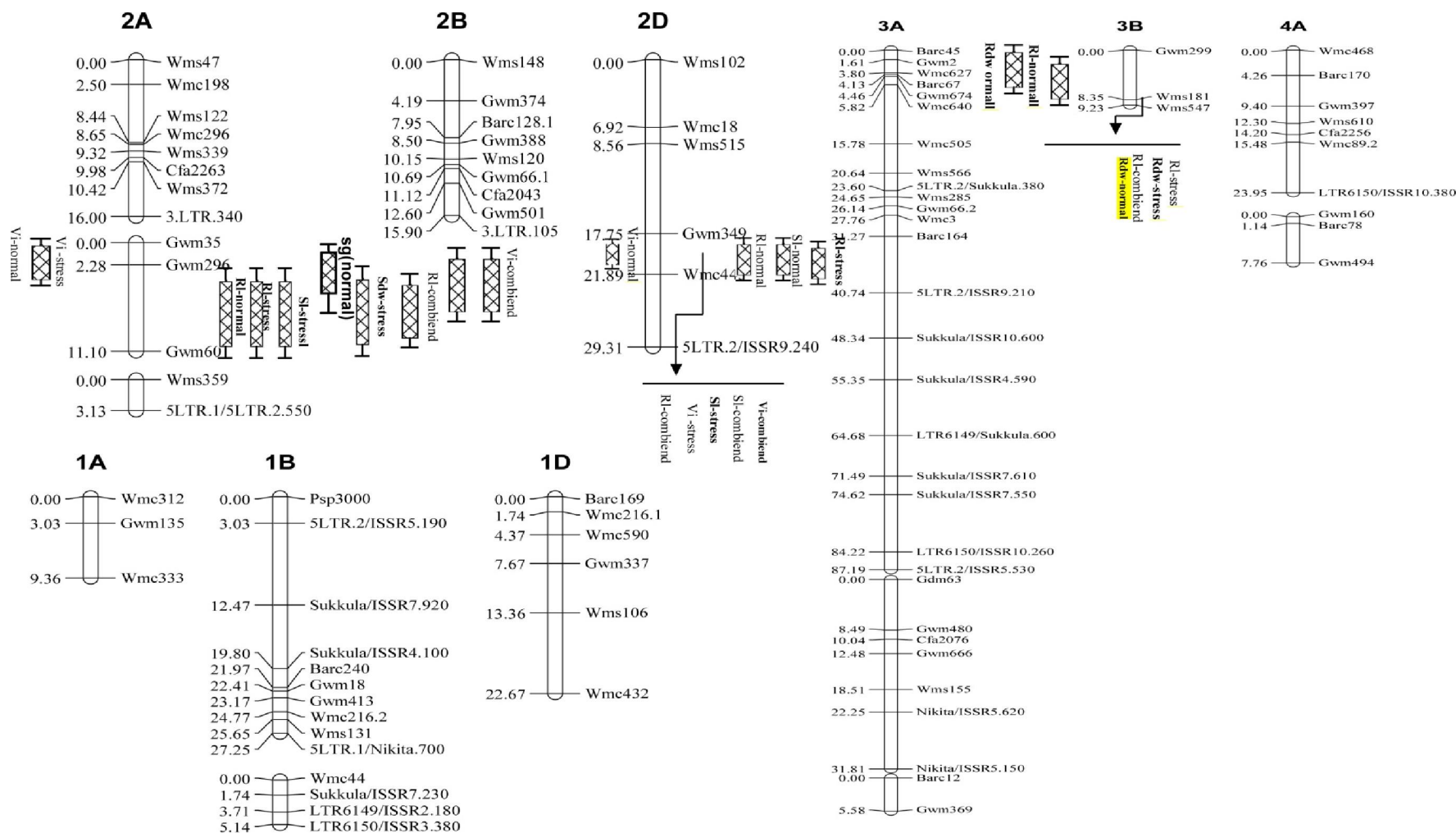
صفت (نرمال)	نام QTL	نشانگر	نشانگر سمت چپ (cM)	کروموزوم	اثر افزایشی	LOD	درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت	R ² کل
سرعت جوانه زنی	QSG4B- Normal	Wms121-Sukkula.1300	۵	4B	-۰/۰۳۱۹	۶/۶	۲۱/۴۲	۳۳/۳۸
	QSG2A- Normal	Gwm35-Gwm296	۲/۳	2A	-۰/۰۲۹۷	۳/۴	۱۱/۹۶	
طول ریشه‌چه	QRL3B- Normal	GWM299-WmS181	۲/۲	3B	-۵/۱۳۵۹	۵/۵	۱۸/۳۷	۴۸/۸۲
	QRL2A- Normal	Gwm296-Gwm60	۲	2A	۳/۲۲۸۱	۳/۷	۱۳/۶۹	
	QRL2D- Normal	Gwm349-Wmc445	۲/۵	2D	۴/۱۷۳۹	۴/۹	۱۶/۷۶	
وزن خشک ریشه‌چه	QRDW4B- Normal	LTR6149/ISSR2.260- Psp2999	۲/۱	4B	۰/۴۳۸۵	۴/۸	۱۴/۳۹	۳۸/۴۱
	QRDW3B- Normal	GWM299-WmS181	۵	3B	۰/۳۷۲۵	۳/۵	۱۲/۵۳	
	QRDW6D- Normal	GWM325-Wmc748	۳	6D	۰/۳۵۱۲	۳/۱	۱۱/۴۹	
طول ساقه‌چه	QSHL4B- Normal	Wms121-Sukkula.1300	۳/۵	4B	۵/۲۵۸۲	۶/۴	۱۹/۱۶	۵۵/۱۳
	QSHL4B- Normal	Psp2999-Wmc336	۲/۵	4B	۹/۱۶۷۸	۶/۳	۲۱/۱۱	
	QSHL2D- Normal	Gwm349-Wmc445	۳	2D	۴/۱۷۳۹	۳/۸	۱۴/۸۶	
وزن خشک ساقه‌چه	QSHDW4B- Normal	Wms121-Sukkula.1300	۵	4B	۰/۶۸۲۶	۶/۷	۲۱/۵۷	۳۳/۸۹
	QSHDW5B- Normal	Gwm213- Sukkula/Nikita. 130	۱	5B	-۰/۳۸۲۶	۳/۲	۱۲/۳۲	
شاخص بنیه بذر	QSVIW4B- Normal	Wms121-Sukkula.1300	۴/۲	4B	-۱/۱۳۱۹	۶/۱	۱۹/۴۵	۵۲/۴۸
	QSVIW2A- Normal	Gwm35-Gwm296	۲/۳	2A	-۱/۳۲۹۷	۳/۶	۱۲/۱۶	
	QSVW2D- Normal	Gwm349-Wmc445	۲	2D	۱/۱۷۳۹	۶/۱	۲۰/۸۷	

جدول ۶- جایگاه کروموزومی نشانگرهای احاطه کننده، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مورد ارزیابی در شرایط تنش رطوبتی

R2 کل	درصد تبیین واریانس فنوتیپی	LOD	اثر افزایشی	کروموزوم	فاصله QTL از نشانگر سمت چپ (cM)	نشانگر	نام QTL	صفت (تنش)
۱۳/۸۷	۱۳/۸۷	۳/۹	-۰/۰۲۸۸	4B	۵	Wms121-Sukkula.1300	QSG4B- Stress	سرعت جوانه زنی
	۱۹/۵۷	۶/۵	-۵/۵۳۵۹	3B	۴	GWM299-WmS181	QRLI3B- Stress	طول ریشه چه
	۱۲/۶۵	۳/۱	-۳/۲۵۸۶	5B	۱/۱	Gwm213- Sukkula/Nikita. 130	QRLI5B- Stress	
	۱۵/۶۹	۴/۷	۳/۲۲۸۱	2A	۴	Gwm296-Gwm60	QRLI2A- Stress	
۶۵/۶۶	۱۷/۷۵	۵/۳	۴/۱۷۳۹	2D	۳	Gwm349-Wmc445	QRLI2D- Stress	
	۱۴/۱۲	۴/۳	۰/۴۱۲۵	4B	۲/۸	LTR6149/ISSR2.260-Psp2999	QRDW2B- Stress	وزن خشک ریشه چه
	۱۱/۸۹	۳/۱	۰/۲۷۲۵	3B	۳	GWM299-WmS181	QRDW3B- Stress	
	۱۴/۱۷	۴/۱	۰/۳۸۳۲	6D	۲	GWM325-Wmc748	QRDW6D- Stress	
۵۳/۰۴	۱۲/۸۹	۳/۵	۰/۴۵۸۶	5B	۲/۵	Gwm213- Sukkula/Nikita. 130	QRDW5B- Stress	
	۱۲/۶۹	۳/۲	-۲/۲۶۸۱	2A	۲	Gwm296-Gwm60	QSHL2A- Stress	طول ساقه چه
	۱۷/۷۶	۴/۸	۵/۱۷۳۹	2D	۲/۱	Gwm349-Wmc445	QSHL2D- Stress	
	۲۱/۱۳	۷/۷	-۷/۱۵۸۰	4B	۴	Wms121-Sukkula.1300	QSHL4B- Stress	
۵۱/۸۴	۲۴/۶۵	۹/۶	-۱۲/۵۶۷۸	4B	۱/۲	Psp2999-Wmc336	QSHL4B- Stress	
	۲۱/۴	۶/۸	۰/۶۸۷۸	4B	۳	Wms121-Sukkula.1300	QSHDW4B- Stress	وزن خشک ساقه چه
	۱۱/۸۹	۳/۳	۰/۴۱۵	6B	۳	Sukkula/ISSR4.200- Wms88	QSHDW6B- Stress	
۴۷/۰۵	۱۳/۷۶	۳/۹	۰/۴۷۶	2A	۴	Gwm296-Gwm60	QSHDW2A- Stress	
	۱۳/۸۲	۳/۹	-۱/۰۲۸۸	4B	5.4	Wms121-Sukkula.1300	QSVI4B- Stress	شاخص بینه بذر
	۱۵/۷۶	۴/۱	۱/۱۷۳۹	2D	2.0	Gwm349-Wmc445	QSVI2D- Stress	
	۱۱/۴۶	۳/۲	۰/۸۳۴۵	6B	4.0	Sukkula/ISSR4.200- Wms88	QSVI6B- Stress	
۵۴/۲	۱۳/۱۶	۴/۳	-۱/۵۲۹۱	2A	2.7	Gwm35-Gwm296	QSVI2A- Stress	

جدول ۷- جایگاه کروموزومی نشانگرهای احاطه کننده، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مورد ارزیابی در میانگین دو شرایط

درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت	LOD	اثر افزایشی	کروموزوم	فاصله QTL از نشانگر سمت چپ (cM)	نشانگر	نام QTL	صفت (متوسط دو مکان)
۱۶/۸۶	۴/۸	-۰/۰۵۰۴	4B	۵	Wms121-Sukkula.1300	QSG4B- Combined	میانگین سرعت جوانه زنی
	۵/۱	-۳/۴۳۵۱	3B	۳	GWM299-Wms181	QRL3B- Combined	
	۳/۷	۲/۱۲۸۴	2A	۱/۵	Gwm296-Gwm60	QRL2A- Combined	طول ریشه چه
۴۸/۲۴	۴/۱	۲/۶۷۳۹	2D	۳	Gwm349-Wmc445	QRL2D- Combined	
	۴/۱	۰/۴۰۱۵	4B	۲	LTR6149/ISSR2.260-Psp2999	QRDW4B- Combined	
	۳/۱	۰/۲۶۲۱	3B	۴	GWM299-WmS181	QRDW3B- Combined	وزن خشک ریشه چه
۳۷/۱۳	۳/۱	۰/۳۳۱۲	6D	۲/۵	GWM325-Wmc748	QRDW6D- Combined	
	۵/۶	-۴/۲۵۸۰	4B	۵	Wms121-Sukkula.1300	QSHL4B- Combined	طول ساقه چه
	۶/۱	۹/۱۶۷۸	4B	۲	Psp2999-Wmc336	QSHL4B- Combined	
۵۵/۱۹	۵/۱۷	۴/۱۷۳۹	2D	۲/۵	Gwm349-Wmc445	QSHL2D- Combined	
۲۳/۲	۷/۲	۰/۷۸	4B	۱/۴	Wms121-Sukkula.1300	QSHDW4B- Combined	وزن خشک ساقه چه
	۴/۸	-۳/۸۵۰۴	4B	۵	Wms121-Sukkula.1300	QSV4B- Combined	
	۳/۸	-۱/۳۲۵۴	2A	۲	Gwm35-Gwm296	QSV2A- Combined	شاخص بنیه بذر
۴۷/۷۸	۵/۵	۱/۱۷۳۹	2D	۳	Gwm349-Wmc445	QSV2A- Combined	



شکل ۱- نقشه پیوستگی صفات مختلف و QTL های شناسایی شده در ۱۴۸ لاین RIL و والدین آنها (No.49 × Yecora) در دو شرایط نرمال و تنش رطوبتی

یکسان است بنابراین ممکن است از آن برای گزینش به کمک نشانگر استفاده شود. علاوه بر این از QTL های پایدار و خوشه‌ای شناسایی شده برای صفات مهم کمی و کیفی مربوط به جوانه‌زنی در بذر گندم در برنامه گزینش به کمک نشانگر (MAS) استفاده نمود. همچنین می‌توان از برخی از نشانگرهای شناسایی شده به عنوان نشانگر مثبت در امر گزینش برای افزایش جوانه‌زنی نهایی کمک گرفت.

Wms121-Sukkula.1300 و کنترل کننده صفات وزن خشک ساقه چه و شاخص بنیه بذر پایداری کامل داشتند. همچنین QTL قرار گرفته بر روی کروموزوم D۲ و حد فاصل دو مارکر -Gwm349 Wmc445 که صفت شاخص بنیه بذر را کنترل می‌کرد. در کلیه شرایط پایداری کامل داشت. به عبارت دیگر موقعیت و اثر QTL های نامبرده در وضعیت‌های مختلف و میانگین آنها پایدار بود. در نتیجه واکنش گونه‌ها در محیط‌های گوناگون

منابع

- فاخری، براتعلی، بایکی ابوالفضل. ۱۳۹۳. بررسی نقشه یابی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک مرتبط با جوانه‌زنی گندم نان. نشریه علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۵ (۱): ۱۳۳-۱۱۹.
- خلیلی، معروف، و محمدی سید ابولقاسم. ۱۳۹۴. شناسایی QTL های مرتبط با جوانه‌زنی گندم در شرایط معمولی و تنش خشکی. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری گیاهان زراعی. ۴ (۹): ۱-۱۴.
- عبدالشاهی روح‌الله، امید منصور، طالعی علی‌رضا و یزدی صمدی بهمن. ۱۳۸۸. نقشه یابی QTL های کنترل کننده تحمل به خشکی در گندم نان (*Triticum aestivum*). مجله پژوهش‌های زراعی ایران. ۷ (۲): ۵۲۷-۵۳۹.
- طاهری فاطمه، ناجی امیر محمد، کرد نایج علاء‌الدین. ۱۳۹۰. شناسایی و مکان‌یابی ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی در مرحله جوانه‌زنی در گندم (*Triticum aestivum*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شاهد. ۱۲۳ ص.
- Bayoumi TY, Eid MH, Metwali EM. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *Afric. J. Biotech.* 7: 2341-2352.
- 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 AM. 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 marker, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker – assisted selection for crop improvement: The basic concept. *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.

- Ehdaie B, Wains JG. 1997. Genetic analysis of carbon isotope discrimination and agronomic characters in a bread wheat cross. *Theor Appl Genet*, 88(8): 1023-1028.
- Ellis RH, Roberts EH. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 377-409.
- FAO. 2015. FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/site/>
- Houshmand S. 2003. The genetical analysis of quantitative traits. ShahreKord Univ. Pub. 462Pp.
- Iiona Czyczyło-Mysza I, Izabela Marcińska I, Edyta Skrzypek S, Cyganek K, Juzoń 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.
- Landjeva S, Neumann K, Lohwasser U, Borner A. 2008. Molecular mapping of genomic region associated with wheat seedling growth under osmotic stress. *Biol. Plantarum*, 52, 259-266.
- Liang YL, Richards RA. 1994. Coleoptile tiller development in associated with fast early vigour in wheat. *Euphytica*. 80: 119-124
- Panse VG. 1957. Genetics of quantitative characters in relation to plant breeding. *Indian J. Genet*, 17,
- 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.
- Scott SJ, Jones RA, Willams WA. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*. 24: 1192-1199.
- Spielmeyer W, Joaquim JP, Azanza F, Bonnet D, Ellis ME, Moore C, Richards RA. 2007. A QTL on chromosome 6A in bread wheat is associated with longer cloptiles, greater seedling vigor and final plant height. *Theor. Appl. Genet*, 115, 59-66.
- Trethowan RM, Reynolds M. 2007. Drought resistance: Genetic approaches for improving productivity under stress. In: Buck HR. *et al.* (eds): *Wheat production in stressed environments*, 289-299, Springer Pub., the Netherlands.
- 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.
- 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.

Evaluation of genetic diversity and identification of QTL controlling seed germination and seedling establishment traits in wheat

M. Khalili^{*1}, F. Javaheri Kashani², M.A. Ebrahimi¹

1- Department of Agriculture, Payamme Noor University, Karaj, Iran

2- Graduate of agricultural biotechnology, Payamme Noor University, Karaj, Iran

Abstract

In order to study genetic diversity and identification of QTL controlling seed germination and seedling establishment traits in wheat 148 bread wheat RILs and their parents (RojoYecora and No.49) were studied based on an alpha lattice design with two replications under normal and drought stress conditions in 2016. In this research final germination percentage, germination speed, root and shoot length, root and shoot dry weight and seedling dry weight and vigor index were measured. Analysis of variance showed that between genotypes for all traits, there were significant differences. Under normal moisture condition the highest heritability was observed for stem length, stem weight and final germination percentage. Also the highest heritability under drought condition was estimated for root length. QTL analysis using composite interval mapping (CIM) for each trait in each environment and mean of two environments were performed. Under normal condition 16 QTLs were detected. Phenotypic variance explained by the identified QTLs varied from 11.49 to 21.57 percent. The highest and lowest phenotypic variation belonged to shoot dry weight and root dry weight respectively, also LOD was in range of 3.15 to 6.76. Under drought stress condition 20 QTLs were detected. Phenotypic variance explained by these QTLs varied from 11.89 to 24.7 percent. The highest and lowest phenotypic variation was observed for root dry weight and shoot length respectively. Furthermore LOD was in range of 3.11 to 9.67. In average of two conditions, 14 QTLs were detected. Phenotypic variance explained by the identified QTLs varied from 11.41 to 23.20 percent, and belonged to root dry weight and shoot dry weight respectively. The estimated LOD was in range of 3.12 to 7.25. In two different environmental conditions and their average QTLs located on chromosome 4B interval markers of Wms121-Sukkula.1300 which control shoot dry weight and seed vigor and QTL located on chromosome 2D between markers of Gwm349-Wmc445 which controlled vigor index were quite stable in all environmental conditions that can be used for marker assisted selection.

Keywords: recombinant inbred lines, QTL, seed traits, wheat

* Corresponding author: makhality@yahoo.com Received: 2017/03/15 Accepted: 2017/06/30