

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات فنولوژیک گندم دوروم در شرایط تنش خشکی و بدون تنش با استفاده
از نشانگرهای ریزماهواره

Mapping of loci controlling phenological traits in durum wheat under drought
stress and non-stress conditions using microsatellite markers

مریم گل‌آبادی^۱، احمد ارزانی^۲ و سیدعلی محمد میرمحمدی میدی^۳

چکیده

گل‌آبادی، م.، ارزانی و س.ع.م. میر محمدی میدی. ۱۳۹۰. مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات فنولوژیک گندم دوروم در شرایط تنش خشکی و بدون تنش با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم زراعی ایران. ۱۳(۴): ۷۲۹-۷۱۲.

به منظور شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ژن (های) کنترل‌کننده صفات تعداد روز تا تشکیل سنبله، روز تا گرده‌افشانی و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک در شرایط تنش خشکی و عدم تنش، جمعیتی شامل ۱۵۱ خانواده F_3 و F_4 حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های Oste-Gata (والد متحمل) و Massara-1 (والد حساس) به خشکی، طی دو سال زراعی (۸۳-۱۳۸۲) و در دو شرایط محیطی تنش خشکی و عدم تنش (مجموعاً چهار شرایط محیطی) ارزیابی شدند. از میان ۲۰۰ نشانگر ریزماهواره برای ارزیابی والدین، ۳۰ نشانگر حالت چند شکلی داشتند که در کروموزوم‌های مختلف گندم دوروم به استثنای 2A، 4A و 6B توزیع شده بودند. بر اساس روش تجزیه تک‌نشانگری، دو نشانگر $Xgwm148-2B$ و $Xwmc405-7A$ بیشترین ارتباط را با صفت روز تا تشکیل سنبله در هر دو شرایط تنش خشکی و عدم تنش نشان دادند، بطوری‌که نشانگر $Xwmc405$ در حدود ۱۹ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را در شرایط تنش توجیه کرد. این نشانگر همچنین بیشترین درصد تغییرات صفت روز تا گرده‌افشانی را در هر دو شرایط محیطی تبیین کرد. در مورد صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، نشانگر $Xcfa2114-6A$ توانست درصد بالایی از واریانس فنوتیپی این صفت را در هر دو شرایط تنش خشکی و عدم تنش توجیه نماید. وجود نشانگرهای پیوسته مشترک برای صفات مختلف مورد مطالعه در این تحقیق با میزان همبستگی بین آنها همخوانی داشت. بر اساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، به ترتیب ۲، ۳ و ۲ QTL کوچک اثر برای صفات روز تا تشکیل سنبله، روز تا گرده‌افشانی و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک شناسایی شدند که QTL‌های صفات روز تا سنبله‌دهی و روز تا گرده‌افشانی به ترتیب روی کروموزوم‌های 2B و 3B، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک روی کروموزوم‌های 3B و 5A قرار داشتند. QTL‌های مذکور در مجموع حدود ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی صفات فنولوژیک را توجیه کردند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، صفات فنولوژیک، گندم دوروم، نشانگرهای SSR، QTL.

تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۲۸

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۵

۱- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه‌کننده)

(پست الکترونیک: m_golabadi@yahoo.com)

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

مقدمه

خشکی متداول ترین تنش محیطی است که رشد و نمو گیاه را از طریق تغییر در متابولیسم گیاهی و نحوه بروز ژن‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهد. فرار از خشکی ساده‌ترین راه سازگاری گیاهان به شرایط تنش خشکی است (Levitte, 1980). تنش انتهای فصل هنگامی رخ می‌دهد که گیاه زراعی در مراحل اولیه رشد از رطوبت کافی برخوردار باشد، اما با نزدیک شدن به مراحل زایشی در انتهای دوره رشد، با محدودیت رطوبتی مواجه شود (Barnes, 1983). فرار از خشکی از طریق گلدهی زودرس و یا از طریق کوتاه شدن طول دوره رشد در مناطقی که دچار تنش خشکی انتهای فصل رشد می‌شوند، به عنوان سازوکار فرار یا اجتناب از خشکی در نظر گرفته می‌شود (Blum, 1988). صفات مربوط به دوره‌های فنولوژیکی گیاه در انطباق گیاه با محیط برای به حداکثر رسیدن تولید، بیشترین تاثیر را دارند. رشد اولیه بیشتر و یا نمو فنولوژیک سریعتر (روز تا گرده‌افشانی یا رسیدگی کوتاه‌تر) منجر به کاهش تلفات رطوبتی به شکل تبخیر از سطح خاک شده و رشد بیشتر گیاه را در زمان تبخیر کمتر، موجب می‌گردد (Richards, 1996). از طرف دیگر بلوم (Blum, 1996) بر این باور است که پتانسیل تولید گیاه با افزایش دوره رشد گیاه تا حد خاصی افزایش می‌یابد و علیرغم آنکه ژنوتیپ‌های زودرس از خشکی فرار می‌کنند، ژنوتیپ‌های دیررس الزاماً حساس به تنش خشکی محسوب نمی‌شوند. در آزمایشی روی ۳۰ جمعیت گندم دوروم و گندم نان توسط بلوم و همکاران (Blum et al., 1989) مشاهده شد که صفات فنولوژیک گیاه اثر مهمی بر عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی دارند و زودرسی برای گندم یک معیار اصلی انتخاب در نواحی خشک است، اما مقایسه ارقام بومی و ارقام اصلاح شده در این آزمایش نشان داد که واریته‌های بومی دیررس‌تر از واریته‌های اصلاح شده بودند.

نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مرتبط با صفات مورد نظر می‌توانند در جهت بهبود کارایی روش‌های اصلاحی به کار روند. تهیه نقشه‌های ژنتیکی از مهم‌ترین کاربردهای این نشانگرهاست که براساس آن می‌توان جایگاه ژنی و کروموزومی ژن‌های تعیین کننده صفات مطلوب را از نظر ترتیب و فاصله ژن‌ها و نشانگرها از یکدیگر تعیین نمود (Rafalski et al., 1996). تحمل به خشکی به‌طور خاص یک مقوله مشکل برای نقشه‌یابی مولکولی محسوب می‌شود. شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته است. یانگ و همکاران (Yang et al., 2002) با استفاده از جمعیت F₃ و نشانگر ریزماهواره، نشانگرهای مرتبط با تحمل به گرما را در گندم هگزاپلوئید معرفی کردند. البتکو و همکاران (Altinku et al., 2003) با استفاده از نتاج F₃ که از تلاقی دو والد حساس و متحمل به خشکی جو بدست آمدند، بین یک نشانگر AFLP و تحمل به خشکی پیوستگی مشاهده کردند.

در آزمایش‌های متعددی QTL‌های (مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی) مرتبط با صفات فنولوژیک در غلات و بویژه گندم مورد بررسی و مطالعه قرار گرفته است که اکثریت این مطالعات در شرایط محیطی بدون تنش انجام شده و در موارد محدودی صفات مذکور در شرایط تنش رطوبتی نیز مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Bernier et al., 2007; MacCaferri et al., 2008). مکافری و همکاران (MacCaferri et al., 2008) در آزمایشی روی جمعیت لاین‌های نوترکیب گندم دوروم و در شرایط محیطی مختلف از جمله تنش رطوبتی انجام دادند توانستند سه QTL بزرگ اثر را برای تعداد روز تا تشکیل سنبله بر روی کروموزوم‌های 2AS، 2BL و 7BS شناسایی کنند که در محیط‌های مختلف و همچنین در میانگین همه محیط‌ها مشاهده گردیدند. برنیر و همکاران

(Bernier *et al.*, 2007) نیز در ارزیابی ۴۳۵ خانواده F₃ برنج در شرایط تنش رطوبتی انتهای فصل رشد توانستند یک QTL بزرگ اثر را بر روی کروموزوم شماره ۳ در هر دو شرایط محیطی تنش و عدم تنش رطوبتی برای صفت ۵۰ درصد گلدهی شناسایی کنند. هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2003, 2004, 2006) در سه آزمایش جداگانه QTL هایی را برای زمان ظهور سنبله در گندم و روز تا رسیدگی گزارش نمودند. هدف از این تحقیق شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با ژن های کنترل کننده صفات فنولوژیک در گندم دوروم تحت شرایط محیطی بدون تنش و تنش رطوبتی و تعیین سهم هریک از این نشانگرها در توجیه تنوع فنوتیپی صفات مذکور بود.

مواد و روش ها

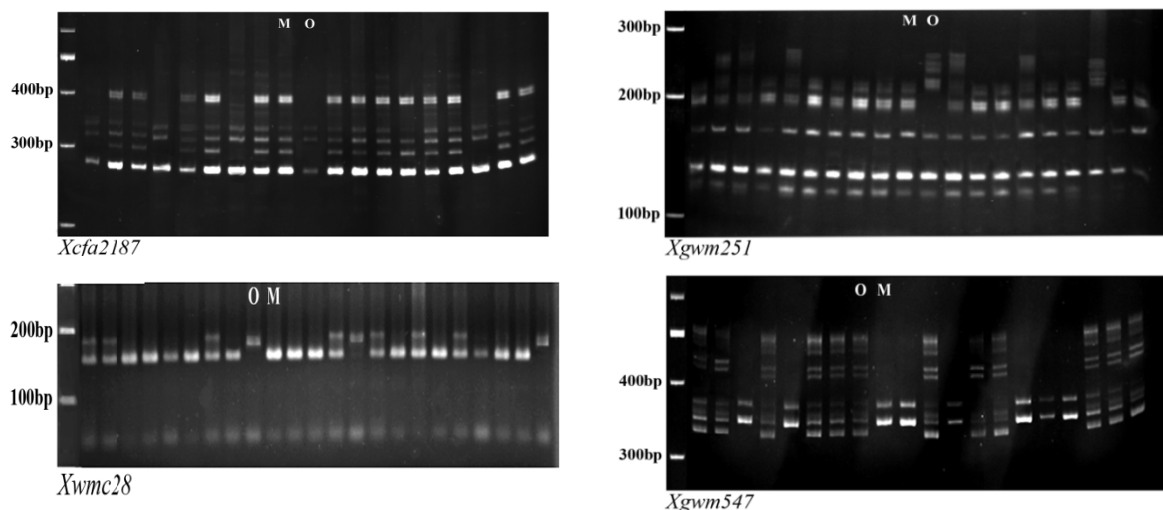
مواد گیاهی، محل و نحوه اجرای آزمایش: در این آزمایش از تلاقی ژنوتیپ متحمل به خشکی Oste-Gata و حساس به خشکی Massara-1 گندم دوروم استفاده شد. این دو رقم در طی آزمایش های مقایسه عملکرد که در سال های ۷۸ و ۱۳۷۷ در ۴ منطقه مختلف مرکزی و غربی ایران اجرا شد، از بین ۴۵۰ ژنوتیپ گندم دوروم با منشأ ایرانی و دریافت شده از سیمیت و ایکاردا گزینش شدند (Arzani, 2002). Oste-Gata از ایکاردا و Massara-1 از سیمیت دریافت شده بودند. رقم متحمل از نظر صفات مرتبط با وضعیت ظاهری گیاه از قبیل ارتفاع بوته و طول سنبله، عملکرد دانه و اجزای عملکرد دانه و از نظر صفات فیزیولوژیک در سطح بالاتری نسبت به رقم حساس قرار داشت که این تفاوت ها در شرایط تنش خشکی چشمگیرتر بودند، اگر چه در بعضی موارد این تفاوت ها معنی دار نبودند. بذره های خانواده های F₃ و F₄ (۱۵۱ خانواده) به همراه والدین در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در منطقه لورک نجف آباد طی دو سال زراعی (۸۳-۱۳۸۲) کشت شدند که در نسل سوم یک ردیف از هر ژنوتیپ

و در نسل چهارم سه ردیف از هر ژنوتیپ کاشته شد. طبق تقسیم بندی کوپن، منطقه آزمایش دارای اقلیم خشک، بسیار گرم با تابستان های گرم و خشک است. از دو طرح آزمایشی مجزا به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی با دو تکرار برای هر کدام از دو تیمار بدون تنش و تنش خشکی طی دو سال زراعی استفاده شد. به منظور اعمال تنش خشکی انتهای فصل، هر دو تیمار تا قبل از سنبله دهی به طور یکسان آبیاری شده و با شروع ظهور سنبله ها، آبیاری در تیمار تنش تا انتهای رشد قطع شد و تنها یک آبیاری بر اساس میزان تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A به میزان ۱۴۰ میلی متر صورت گرفت که به منظور جلوگیری از دست رفتن ژنوتیپ های بسیار حساس اعمال شد. در تیمار بدون تنش (آبیاری کامل) آبیاری هر ۸ روز یکبار تا انتهای فصل رشد ادامه یافت. آبیاری تیمار تحت تنش با استفاده از پارشال فلوام انجام و محاسبه مقدار آب لازم برای آبیاری و زمان ورود آب در هر کرت بر مبنای رساندن رطوبت خاک تا عمق مورد نظر به حد ظرفیت مزرعه در نظر گرفته شد. این عمق معادل عمق توسعه ریشه بود. مقدار پتانسیل آب در شرایط بدون تنش ۰/۵- و در شرایط تنش خشکی ۱/۲- مگا پاسکال برآورد شد که در تعیین زمان آبیاری مد نظر قرار گرفت. صفات فنولوژیک شامل روز تا ۵۰ درصد سنبله دهی (تعداد روز از زمان کاشت تا زمانی که سنبله های ۵۰ درصد بوته ها در هر خانواده بطور کامل از غلاف برگ پرچم خارج شدند)، روز تا گرده افشانی (تعداد روز از زمان کاشت تا زمانی که ۵۰ درصد پرچم ها در بوته های هر خانواده از سنبله خارج شدند)، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (تعداد روز از زمان کاشت تا زمانی که رنگ پدانکل در ۵۰ درصد بوته های هر خانواده به طور کامل زرد شدند) و دوره پرشدن دانه (تفاضل روز تا رسیدگی فیزیولوژیک از روز تا گرده افشانی) بودند که در هریک از

جدول ۱- اسامی نشانگر ریزماهواره، دمای اتصال، مکان کروموزومی و طول قطعه نشانگرهای چندشکل در سطح والدین مورد استفاده در ژنوتیپ‌های گندم دوروم

Table 1. SSR markers, annealing temperature, chromosomal location and fragment length in polymorphism markers on parents in durum wheat genotypes

نشانگر ریزماهواره SSR marker	دمای اتصال Annealing temperature	موتیف (توالی تکراری) motif	مکان کروموزومی Chromosomal location	طول قطعه Fragment length
<i>Xcfa2187</i>	55	(CA)17	5A	151 bp
<i>Xcfa2114</i>	55	(CA)32	6A	209 bp
<i>Xcfa2076</i>	55	(TG)18	3A	172 bp
<i>Xcfa2147</i>	60	(CATC)4	1B	291 bp
<i>Xcfd6</i>	55	(GA)6 (GCTA)4	2A- 3B- 7A	236 bp
<i>Xcfd22</i>	55	(GA)28	1A- 4B- 7B	254 bp
<i>Xwmc405</i>	58	(CA)21,133 to 174, (CT)9, 115 to 132	5B -7A	218 bp
<i>Xwmc166</i>	48.5	GA) 8, 347 to 362, (GT)8, 297 to 312,(GT) 8 ,327 to 342	7B- 2D- 7D	305 bp
<i>Xgwm135</i>	60	(GA)20	1A	210bp
<i>Xwmc28</i>	50	(GT)29 132 to 189	5B	188 bp
<i>Xbarc124</i>	50	(CT)19	2A- 2B	190-197 bp
<i>Xbarc45</i>	50	TAA)10(	3A- 2B	182bp
<i>Xbarc101</i>	55	(TAA)9	2B-3BS-6BS	123bp
<i>Xgwm11</i>	50	(TA)6 CATA(CA)19 (TA)6	1B	202-213 bp
<i>Xgwm120</i>	60	(CT)11(CA)18	2B	136-162-174bp
<i>Xgwm126</i>	51	(CA)15	5A	336 bp
<i>Xgwm547</i>	55	(CA)12	3B- 2B	171 bp
<i>Xgwm389</i>	60	(CT)14 (GT)16	3B	117-128 bp
<i>Xgwm408</i>	60	(CA)22 (TA)(CA)7 (TA)9	5B	148-182 bp
<i>Xgwm299</i>	55	(GA)31 (TAG)4	3B- 2B	206-215 bp
<i>Xgwm181</i>	58	(GA)28	3B	150-168 bp
<i>Xgwm251</i>	58	(CA)28	4B	109-110bp
<i>Xgwm148</i>	58	(CA)22	2B	160-165-167 bp
<i>Xgwm154</i>	60	(GA)37	5A-3B -7A	120bp
<i>Xgwm604</i>	50	(GA)29	5B - 1B	133bp



شکل ۱- تولید نوارهای چندشکل با استفاده از تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره در سطح والدین و نتاج نسل F_2 بر روی ژل آگارز و پلی اکریلامید

Fig. 1. Production of polymorphism bands in some microsatellite markers in parents and F_2 progenies on agarose and polyacrylamide gel. M: massara-1, O:oste-gata

سی نشانگر ریزماهواره چندشکل مورد نظر با استفاده از ترتیب نشانگرهای ریزماهواره موجود در نقشه ژنتیکی طراحی شده توسط سامرز و همکاران (Somers *et al.*, 2004) مقایسه شده و جایگاه آنها بر روی کروموزوم مشخص شد.

تجزیه و تحلیل داده ها: تجزیه واریانس برای هریک از صفات و به منظور شناسایی تنوع موجود در جمعیت در هریک از دو سال زراعی و برای هر دو شرایط محیطی به طور جداگانه انجام شد.

ابتدا مکان یابی تک نشانگری (SMA) بر اساس رگرسیون گام به گام اجرا شده و نشانگرهای اطلاع رسانی شناسایی شدند (Bernier *et al.*, 2007; Blanco *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2006; Narasimhamoorthy *et al.*, 2006). سپس به منظور ایجاد گروه های لینکاژی از برنامه Mapmanager با در نظر گرفتن حداقل $LOD=2/5$ و تابع کوزامبی جهت تبدیل فراوانی نوترکیبی به فاصله ژنتیکی سانتی مورگان استفاده شد. در مرحله بعد روش مکان یابی فاصله ای مرکب با استفاده از نرم افزار QTL

شرایط محیطی و در دو سال زراعی در خانواده های F_4 ، F_3 اندازه گیری شدند.

ارزیابی ژنوتیپی: جهت استخراج دی. ان. ای، نمونه های برگگی ۲۰ بوته تصادفی از هر خانواده F_3 در مرحله چند برگگی به میزان مساوی برداشت و پس از مخلوط کردن جهت استخراج دی. ان. ای، با روش دلاپورتا (Dellaporta *et al.*, 1983) استفاده شد. تعیین کمیت و کیفیت دی. ان. ای ژنومی با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز ۰/۷ درصد و اسپکتروفتومتری انجام شد. برای مطالعه چندشکلی والدین، ۲۰۰ نشانگر ریزماهواره بر اساس نقشه های ژنتیکی موجود با توزیع یکنواخت در سطح ژنوم و از منابع مختلف شامل سری آغازگرهای *Xcfa* ، *Xcfd* ، *Xbarc* ، *Xwmc* ، *Xgdm* ، *Xgwm* استفاده قرار گرفتند. واکنش زنجیره ای پلی مرارز طبق روش رادر و همکاران (Roder *et al.*, 1998) اجرا شد. تجزیه و تحلیل مولکولی داده ها با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره چند شکل که در جمعیت حاوی ۱۵۱ نتاج $F_{2:3}$ آزمون شدند، اجرا گردید (جدول ۱) (شکل ۱).

2. cartographer/ver. اجرا شد. آستانه LOD برای شناسایی QTLها برابر ۲/۵ و حداقل فاصله پویش ۲ سانتی مورگان در نظر گرفته شد. تجزیه QTL برای هریک از صفات در هریک از محیطها بطور جداگانه و نیز میانگین دو محیط انجام شد. با وجود ۱۴ کروموزوم در ژنوم گندم دوروم و عدم پوشش همه ژنوم توسط نشانگرها و عدم توزیع یکنواخت آنها در سطح ژنوم، امکان محاسبه فراوانی نوترکیبی بین نشانگرهای مجاور وجود نداشت و به همین علت استفاده از روش تجزیه مکانیابی فاصله‌ای مرکب (CIM) به تنهایی باعث از دست رفتن بخش قابل توجهی از اطلاعات می‌گردید. بنابراین از روش تجزیه تک نشانگری (SMA) استفاده گردید.

نتایج

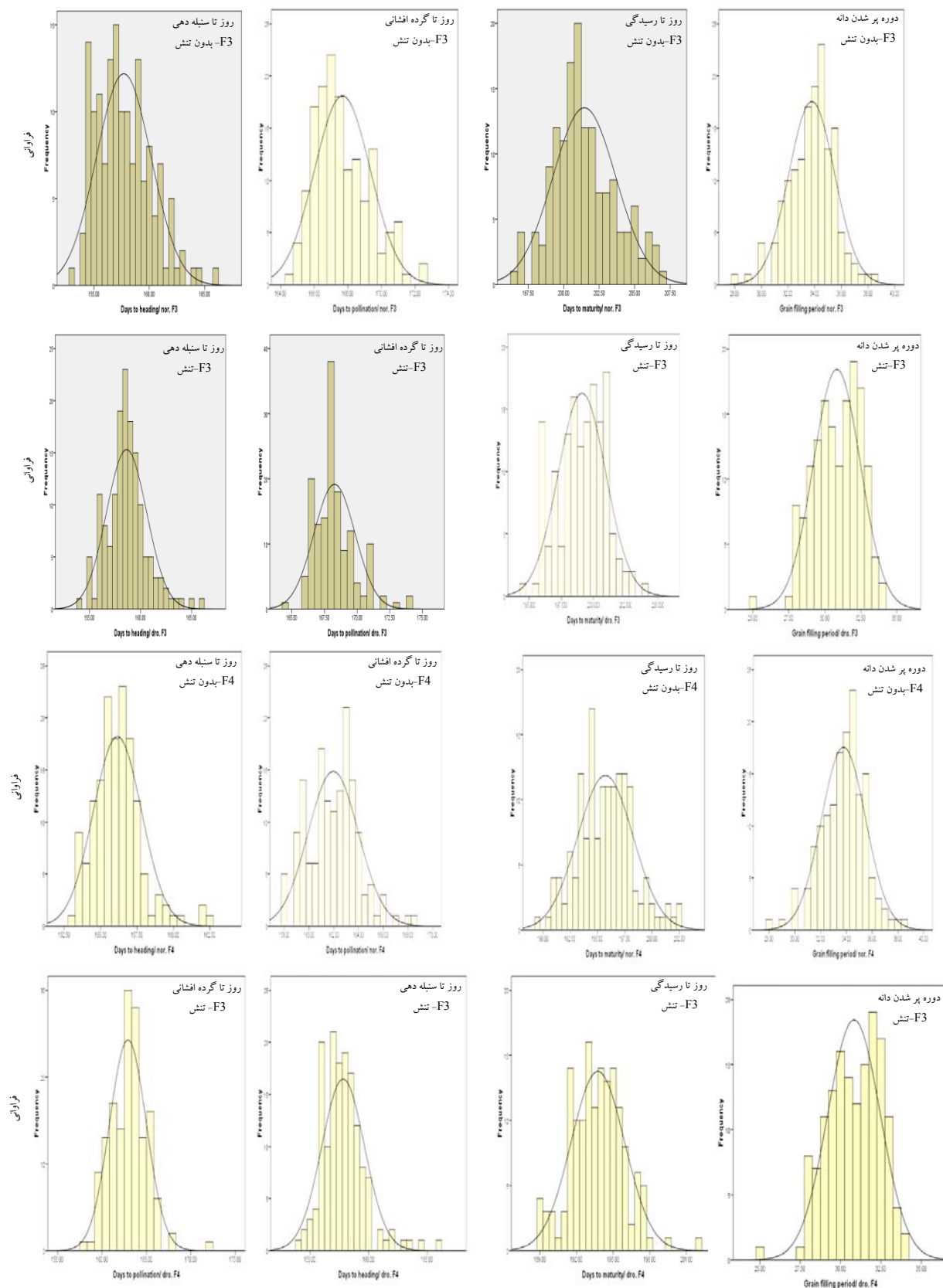
ارزیابی‌های فنوتیپی: نتایج تجزیه واریانس مشخص کرد که از نظر هر چهار صفت فنولوژیک مورد مطالعه، با استثنای دوره پرشدن دانه در شرایط بدون تنش از جمعیت‌های F_3 و F_4 ، تعداد روز تا گرده‌افشانی در شرایط تنش خشکی در جمعیت F_3 و تعداد روز تا رسیدگی در شرایط تنش خشکی در جمعیت F_4 ، تفاوت معنی‌داری بین خانواده‌های مورد بررسی وجود داشت که نشانگر وجود تنوع در بین نسل‌های در حال تفرق بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس مرکب در دو سال و برای دو محیط نشان داد که اثر مکان (محیط تنش خشکی و بدون تنش) برای کلیه صفات و اثر سال برای کلیه صفات بجز دوره پرشدن دانه بسیار معنی‌دار بود (جدول ۳). بنابراین، شرایط محیطی متفاوت در مکان و سال، منجر به تاثیر متفاوت بر صفات مختلف شده است. دویتا و همکاران (De Vita et al., 2006) در مطالعه ۲۰ ژنوتیپ گندم تراپلوتید امر در سه سال زراعی و در شرایط بدون آبیاری گزارش کردند که اثر ژنوتیپ، سال و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط برای صفت روز تا سنبله‌دهی، معنی‌دار

بود و ژنوتیپ‌ها در شرایط محیطی مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان دادند.

نتایج مقایسه میانگین صفات بین دو والد و در شرایط محیطی بدون تنش و تنش خشکی (جدول ۲) نشان داد که اگرچه مقادیر صفات فنولوژیک تعداد روز تا سنبله‌دهی، گرده‌افشانی و رسیدگی در والد متحمل بیش از والد حساس بود (به عنوان نمونه تعداد تعداد روز تا رسیدگی در شرایط تنش برای والد متحمل ۱۹۸/۵ و برای والد حساس ۱۹۴/۷ روز بودند)، اما از آنجا که دوره پرشدن دانه در والد متحمل کوتاه‌تر بود، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه از سازوکار فرار از خشکی از طریق کاهش طول دوره پرشدن دانه جهت تحمل بهتر تنش استفاده کرده است. در این شرایط، رشد اولیه بیشتر و یا نمو فنولوژیک سریع‌تر (تعداد روز تا گرده‌افشانی یا رسیدگی کمتر) منجر به کاهش تلفات رطوبتی به شکل تبخیر از سطح خاک شده و باعث رشد بیشتر گیاه در زمان تبخیر کمتر، می‌گردد. این وضعیت باعث می‌شود تا ژنوتیپ‌های زودرس در شرایط خشکی در دوره زایشی کمتر خسارت ببینند. تفاوت طول دوره پرشدن دانه در شرایط بدون تنش معنی‌دار نبود، اما در شرایط تنش معنی‌دار بود که این موضوع به ماهیت پاسخ متفاوت دو والد حساس و متحمل به تنش مرتبط می‌باشد. ون جینکل و همکاران (Van-Ginkel et al., 1998) اظهار داشته‌اند که در شرایط تنش رطوبتی انتهای فصل، ژنوتیپ‌هایی که بتوانند دوره رشد خود را سریع‌تر تکمیل نمایند، از درجه تحمل بالاتر به تنش و عملکرد دانه بیشتری برخوردار می‌باشند.

ارزیابی درصد تغییرات ناشی از تنش در خانواده‌های مورد مطالعه (جدول ۲) نشان داد که از بین صفات فنولوژیک، روز تا رسیدگی و دوره پرشدن دانه در شرایط تنش کاهش یافتند که این کاهش برای صفت دوم بیشتر بود. این کاهش حاکی از تکمیل

"مکان یابی ژن های کنترل کننده صفات....."



شکل ۲- توزیع فراوانی صفات فنولوژیک در شرایط محیطی مختلف و نسل های F₃ و F₄ (nor: شرایط بدون تنش؛ dro: شرایط تنش رطوبتی)

Fig. 2. Distribution frequency of penological traits under different environmental conditions in F₃ and F₄ families (nor: normal conditions; dro: drought stress conditions)

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات تعداد روز تا سنبله‌دهی، گرده افشانی، رسیدگی و دوره پرشدن دانه بین والدین و درصد تغییرات صفات در خانواده‌های گندم دوروم در تیمارهای تنش خشکی و بدون تنش

Table 2. Mean comparison of days to heading, anthesis and maturity and grain filling period traits in parents of durum wheat and percentage of stress alteration under drought stress and non-stress treatments

Plant characteristics	صفات گیاهی	بدون تنش Non-stress		تنش خشکی Drought stress		تغییر ناشی از تنش Change due to stress(%)	
		Oste-Gata		Massara-1		Oste-Gata	
		Massara-1		Oste-Gata		Massara-1	
Days to heading	تعداد روز تا سنبله دهی	164.2a	154.8b	165.5a	156.5b	0.79	1.1
Days to anthesis	تعداد روز تا گرده افشانی	170.1a	164.1b	172.3a	164.7b	1.29	0.36
Days to maturity	تعداد روز تا رسیدگی	204.2a	198.9b	198.5a	194.7b	-2.8	-2.1
Grain filling period	دوره پرشدن دانه	33.5a	33.8a	28.2b	31.9a	-15.8	-2.6
		F ₃	F ₄	F ₃	F ₄	F ₃	F ₄
Days to heading	تعداد روز تا سنبله دهی	157.7 ± 2.5	156.1 ± 1.6	158.6 ± 1.9	157.8 ± 1.8	0.59	1.1
Days to anthesis	تعداد روز تا گرده افشانی	167.7 ± 1.7	161.9 ± 2.1	168.3 ± 1.6	162.9 ± 2.07	0.35	0.59
Days to maturity	تعداد روز تا رسیدگی	201.5 ± 2.2	197.7 ± 2.5	199.1 ± 1.8	192.7 ± 2.2	-1.2	-2.5
Grain filling period	دوره پرشدن دانه	33.8 ± 2.5	35.8 ± 1.7	30.8 ± 2.1	29.8 ± 1.6	-8.9	-8.7

Oste-gata: Tolerant parent and Massara-1: Susceptible parent

Oste-gata: والد متحمل و Massara-1: والد حساس

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب صفات فنولوژیک در شرایط تنش رطوبتی و بدون تنش و در خانواده‌های F₃ و F₄ گندم دوروم در تیمارهای تنش خشکی و بدون تنش

Table 3. Combined analysis of variance for phonological traits in F3 and F4 families under normal and drought stress conditions

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	روز تا سنبله‌دهی Days to heading	روز تا گرده‌افشانی Days to anthesis	روز تا رسیدگی Days to maturity	دوره پرشدن دانه Grain filling period
Location	مکان	1	513.8**	182.3**	1405.5**	2600.5**
Year	سال	1	419.7**	9266.8**	9240.02**	01.0
Year × Location	سال × مکان	1	40.6**	9.8**	10.7	0.01
Block (Year × Location)	بلوک (سال × مکان)	4	54.7**	48.1**	316.4**	174.1**
Line	لاین	150	22.7**	18.4**	21.2**	11.4**
Line × Location	لاین × مکان	150	1.7	2.3	11.3**	10.8**
Line × Year	لاین × سال	150	5.7**	4.3**	4.4	0.001**
Line × Year × Location	لاین × سال × مکان	150	1.8	2.1	2.1**	0.001**
Error	خطا	599	2.7	2.9	6.8	4.1
C.V(%)	ضریب تغییرات		1.04	1.04	1.32	6.31

سریع تر دوره رشد پس از وقوع تنش می باشد. اگرچه زودرسی یکی از سازوکارهای موثر در جلوگیری از کاهش عملکرد دانه در شرایط تنش رطوبتی است، اما در آزمایش بلوم و همکاران (Blum et al., 1989) نژادهای بومی گندمی که دیر کشت شدند، رابطه ذکر شده تایید نشد و ژنوتیپ های دیررس تر عملکرد بالاتری داشتند. در آزمایش حاضر اگرچه تعداد روز تا تشکیل سنبله دهی و روز تا گرده افشانی در شرایط تنش کاهش نیافت، اما کوتاه تر شدن دوره پر شدن دانه در شرایط تنش می تواند دلیل بروز سازوکار فرار از خشکی و تکمیل سریع تر دوره رشدی باشد.

توزیع فراوانی صفات مختلف در شرایط بدون تنش و تنش خشکی و در نتاج نسل های F_3 و F_4 نشان داد که تغییرات صفات دارای توزیع پیوسته بوده و برای این صفات تفکیک متجاوز مشاهده گردید. این موضوع مبین ماهیت کمی صفات است (شکل ۲).

مکان یابی QTL های کنترل کننده تعداد روز تا سنبله دهی: نتایج حاصل از رگرسیون چند گانه حاکی از وجود ۲۴ نشانگر مرتبط با صفت روز تا سنبله دهی و بصورت مشترک در بین نسل ها و شرایط محیطی مختلف بود (در جدول ۴ تعدادی از موثرترین نشانگرها ارائه شده اند). این نشانگرها در حدود ۳۴ درصد از نشانگرهای چندشکل را شامل می شد که بر روی کروموزوم های ۲B، ۷A، ۴B، ۳B، ۵B، ۶A، ۵A و ۳A قرار داشتند. نشانگر $Xgwm148-2B$ در هر شش شرایط محیطی شامل تنش و عدم تنش برای نسل های F_3 و F_4 و میانگین آنها به صورت مشترک وجود داشت. پس از آن نشانگر $Xwmc405-7A$ در تمام جمعیت ها و در دو شرایط محیطی به جز نسل F_3 بدون تنش تکرار شده و به ترتیب در حدود ۱۹ و ۱۶ درصد واریانس فنوتیپی در شرایط میانگین نسل های تنش و نسل F_4 تنش را توجیه نمود (جدول ۴). در مجموع مکان های کروموزومی برای حضور QTL مرتبط با روز تا سنبله دهی بر روی کروموزوم های ۲B، ۷A، ۴B و ۳B برآورد شد.

بر اساس مکان یابی فاصله ای مرکب (CIM)، یک QTL باثبات در دو شرایط بدون تنش و تنش نسل F_3 و نسل F_4 بدون تنش با توجیه حدود ۹ درصد از واریانس فنوتیپی در هریک از شرایط روی کروموزوم ۲B و در نزدیکی نشانگر $Xbarc124$ وجود داشت که فاصله های آن به ترتیب ۳۳، ۳۷ و ۱۳۷ سانتی مورگان برآورد گردید (جدول ۵). مقدار LOD برای این نشانگر بین ۲ تا ۳ بوده و تنها به عنوان یک QTL فرعی می تواند مورد توجه باشد. آلل های والد متحمل در این مکان ژنی برای صفت روز تا سنبله دهی افزایشی بودند. بر مبنای داده های نسل F_3 بدون تنش، یک QTL در فاصله ۱۱۸ سانتی مورگان از نشانگر ۳B- $Xbarc101$ توانست حدود ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی روز تا سنبله دهی را توجیه نماید. گزارشات زیادی درباره نقشه یابی روز تا سنبله دهی در گندم وجود دارند. کلر و همکاران (Keller et al., 1999) ۱۰ QTL مختلف را بر روی کروموزوم های ۳B، ۴B، ۵B، ۷B، ۲B، ۳A، ۴A، ۵A و ۷A شناسایی کردند. تعداد زیادی QTL روی کروموزوم های مختلف توسط محققان مختلف شناسایی شده اند، مارزا و همکاران (Marza et al., 2006) روی کروموزوم های ۳B، ۶B، ۵B، بورنر و همکاران (Borner et al., 2002) روی کروموزوم های ۲B، ۳A، ۵D، هوانگ و همکاران (Huang et al., 2003) روی کروموزوم های ۲A، ۳B، ۵A، ۵B، ۶A و ۲D و سالم فاراگ (Salem Farag et al., 2004) روی کروموزوم های ۱A، ۲A، ۳B و ۷A QTL هایی را شناسایی کردند. احتمالاً QTL های موجود بر روی کروموزوم ۲B در نزدیکی ژن $Ppd-2$ قرار دارند که مرتبط با حساسیت به نور است.

مکان یابی QTL های کنترل کننده تعداد روز تا گرده افشانی: در مجموع ۱۳ نشانگر مرتبط با صفت روز تا گرده افشانی در شرایط مختلف این آزمایش بدست آمد که تعدادی از آنها به صورت مشترک در بین محیط ها و نسل های مختلف تکرار شدند

جدول ۴- تجزیه رگرسیون تک نشانگری در نسل‌های سوم و چهارم گندم دوروم در شرایط تنش خشکی و بدون تنش

Table 4 – Results of single marker regression analysis in F_{2:3} and F_{2:4} populations of durum wheat under terminal drought stress and normal field conditions

صفات گیاهی Plant characteristics	خانواده- شرایط محیطی Family-Environment	نشانگر Marker	ضریب تبیین R ²	P>F
روز تا سنبله دهی Days to heading	F ₃ – NC	<i>Xgwm148-2B</i>	13.1	0.00001
	F ₃ – NC	<i>Xgwm547-3B</i>	5.1	0.008
	F ₃ – SC	<i>Xgwm148-2B</i>	16.1	0.00001
	F ₃ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	3.84	0.02
	F ₄ – NC	<i>Xgwm148-2B</i>	9.47	0.00001
	F ₄ – NC	<i>Xwmc405-7A</i>	3.5	0.03
	F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	15.4	0.00001
	F ₄ – SC	<i>Xgwm148-2B</i>	3.11	0.03
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xgwm148-2B</i>	14.4	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xwmc405-7A</i>	4	0.02
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	18.8	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xgwm148-2B</i>	5.87	0.004
روز تا گرده افشانی Days to anthesis	F ₃ – NC	<i>Xwmc405-7A</i>	16.1	0.00001
	F ₃ – SC	<i>Xgwm181-3B</i>	13.1	0.00001
	F ₃ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	3.25	0.04
	F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	16.08	0.00001
	F ₄ – SC	<i>Xgwm251-4B</i>	4.98	0.008
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xwmc405-7A</i>	9.05	0.001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	17.76	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xgwm251-4B</i>	7.06	0.001
روز تا رسیدگی Days to maturity	F ₃ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	17.85	0.00001
	F ₃ – SC	<i>Xcfa2114-6A</i>	6.69	0.005
	F ₄ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	11.35	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	16.3	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xcfa2114-6A</i>	4.79	0.01
دوره پرشدن دانه Grain filling period	F ₃ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	11.24	0.00001
	F ₃ – NC	<i>Xcfa2187-5A</i>	5.13	0.01
	F ₃ – SC	<i>Xcfa2114-6A</i>	23.8	0.00001
	F ₃ – SC	<i>Xgwm181-3B</i>	7.95	0.0001
	F ₄ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	10.14	0.00001
	F ₄ – NC	<i>Xcfa2187-5A</i>	6.3	0.01
	F ₄ – SC	<i>Xcfa2114-6A</i>	20.8	0.00001
	F ₄ – SC	<i>Xgwm181-3B</i>	8.25	0.00001
	F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	5.42	0.006
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xcfa2114-6A</i>	12.44	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – NC	<i>Xcfa2187-5A</i>	6.23	0.01
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xcfa2114-6A</i>	21.9	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xgwm181-3B</i>	8.15	0.00001
	Mean F ₃ , F ₄ – SC	<i>Xwmc405-7A</i>	6.11	0.005

† NC and SC: Non-stress and drought stress environments, respectively به ترتیب شرایط محیطی بدون تنش و تنش خشکی

منطقه و دو سال زراعی با وجود بررسی صفت روز تا گرده افشانی، هیچ QTL ی را برای این صفت شناسایی نکردند.

مکان یابی QTL های کنترل کننده تعداد روز تا رسیدگی: تعداد نه نشانگر واقع بر کروموزوم های 4B, 5B و 6A مرتبط با تعداد روز تا رسیدگی شناسایی شد (جدول ۴) که در حدود ۱۳/۵ درصد از نشانگرهای چندشکل را تشکیل می داد. بارزترین نشانگر موثر بر این صفت، نشانگر *Xcfa2114-6A* بود که در دو شرایط محیطی و نسل های مختلف و همچنین میانگین آنها به صورت مشترک وجود داشت و حدود ۱۸ درصد از تغییرات این صفت را توجیه نمود. بنابراین مکان های کروموزومی برای حضور QTL های مرتبط با صفت روز تا رسیدگی کروموزوم 6A پیش بینی شد. مکان یابی فاصله ای مرکب تنها دو QTL کوچک اثر را در نزدیکی نشانگرهای *Xcfa2187* و *Xgwm389* واقع بر کروموزوم های 5A و 3B شناسایی نمود (جدول ۵). تظاهر این دو QTL براساس داده های نسل F_3 -تنش و نسل F_4 -بدون تنش قادر به توجیه حدود ۷ و ۱۶ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت گردید. آلل های والد متحمل در مکان ژنی نزدیک *Xcfa2187* بصورت افزایشی و در نزدیکی نشانگر *Xgwm389* کاهش یافته بودند. QTL های شناسایی شده به علت عدم ثبات و مقدار LOD پایین، قابل توجه نمی باشند. مارزا و همکاران (Marza et al., 2006) در گندم QTL هایی را برای روز تا رسیدگی در کروموزوم های 1B, 3AS و 6B گزارش کردند. هوانگ و همکاران (Huang et al., 2006) و ناراسیم هامورتی و همکاران (Narasimhamoorthy et al., 2006) در گندم نان تنها QTL های واقع بر کروموزوم های ژنوم D را شناسایی کردند. در حالیکه مک کارتنی و همکاران (McCartney et al., 2005) در گندم نان QTL های روز تا رسیدگی را بر روی کروموزوم های 3B, 4A, 4D و 7D مکان یابی کردند.

(در جدول ۴ تعدادی از موثرترین نشانگرها ارائه شده اند). این نشانگرها ۲۰ درصد نشانگرهای چند شکل (۳۰ نشانگر) بوده و روی کروموزوم های 3B, 4B, 3A و 7A قرار داشتند. مهم ترین نشانگر، *Xwmc405* واقع بر کروموزوم 7A بود که در نسل F_3 -بدون تنش، نسل F_4 -تنش، میانگین نسل های بدون تنش و تنش با توجیه ۱۶، ۱۰ و ۱۹ درصد از واریانس فنوتیپی، بیشترین مقدار توجیه صفت مورد نظر را شامل شد (جدول ۲). بنابراین، این نشانگر در هر دو شرایط محیطی تنش و بدون تنش با صفت روز تا گرده افشانی وابسته بوده است. پس از آن، نشانگر *Xgwm181-3B* بیشترین مقدار R^2 را در شرایط نسل F_3 -تنش نشان داد. سه نشانگر *Xgwm547-3B*, *Xgwm251-4B* و *Xgwm154-7B* نیز مختص شرایط تنش بودند (جدول ۴). به طور کلی مکان های کروموزومی برای حضور QTL های مرتبط با روز تا گرده افشانی بر روی کروموزوم 7A در هر دو شرایط محیطی تنش و بدون تنش و بر روی کروموزوم های 3B و 4B در شرایط تنش پیش بینی شدند.

QTL های مکان یابی شده بر مبنای روش CIM در داده های نسل F_3 -بدون تنش و در نزدیکی نشانگرهای *Xbarc45* و *Xgwm389* واقع بر کروموزوم های 2B و 3B بودند که حدود ۷ و ۱۱ درصد از واریانس فنوتیپی روز تا گرده افشانی را توجیه کردند (جدول ۴). به لحاظ پایین بودن مقادیر LOD برای این دو QTL آنها را تنها می توان به عنوان QTL های فرعی در نظر گرفت. نقش آلل های والد متحمل برای QTL واقع بر کروموزوم 2B، افزایشی و برای QTL واقع بر کروموزوم 3B، اثر کاهش بر روی تعداد روز تا گرده افشانی بودند. شاه و همکاران (Shah et al., 1999) در گندم نان، QTL مرتبط با روز تا گرده افشانی را در کروموزوم 3AS به صورت تک ژن گزارش کردند. در حالیکه کمبل و همکاران (Campbell et al., 2003) در مطالعه لاین های خویش آمیخته گندم مرتبط با کروموزوم 3A در هفت

جدول ۵- QTL های فرضی شناسایی شده برای صفات فنولوژیک در جمعیت های نسل های سوم و چهارم در شرایط تنش خشکی انتهای فصل و بدون تنش در گندم دوروم

Table 5. Putative QTL affecting phenological traits in F_{2:3} and F_{2:4} populations of durum wheat under terminal drought stress and normal conditions

صفات فنولوژیک Phenological traits	خانواده - شرایط محیطی Family-Environment ^{††}	کروموزوم Chromosome	نزدیک ترین نشانگر Closest marker	مکان Position (cM)	LOD [†]	اثر افزایشی Additive effect	R ^{2††}
روز تا سنبله دهی Days to heading	F ₃ - NC	3B	<i>Xbarc101</i>	118.1	2.5	1.22	10.35
	F ₃ - NC	2B	<i>Xbarc124</i>	33.1	2.05	1.2	9.59
	F ₃ - SC	2B	<i>Xbarc124</i>	37.1	2.71	0.81	9.11
	F ₃ - SC	3B	<i>Xgwm299</i>	137.1	2.12	0.81	9.21
	F ₄ - NC	2B	<i>Xbarc124</i>	41.1	2.11	0.45	6.95
روز تا گرده افشانی Days to anthesis	F ₃ - NC	2B	<i>Xbarc45</i>	0.1	2.25	0.44	6.95
	F ₃ - NC	3B	<i>Xgwm389</i>	18.1	2.01	-0.81	11.1
روز تا رسیدگی Days to maturity	F ₃ - SC	5A	<i>Xcfa2187</i>	2.1	2.14	0.54	7.2
	F ₄ - NC	3B	<i>Xgwm389</i>	12.1	2.13	-1.47	15.7

[†] LOD: مقدار معنی دار منحنی LOD در فاصله نشانگری محاسبه شده از طریق QTL cartographer

^{††} R²: نسبت واریانس فنوتیپی توجیه شده

^{‡‡} NC: normal environment, SC: stress environment

S و NC: به ترتیب نشان دهنده شرایط محیطی بدون تنش و تنش خشکی

مکان یابی QTL های کنترل کننده دوره پر شدن

دانه: تعداد ۱۸ نشانگر در شرایط محیطی، نسل های مختلف و میانگین آنها تشخیص داده شد (در جدول ۴ شامل تعدادی از موثرترین نشانگرها ارائه شده اند). کلیه نشانگرها به صورت مشترک در شرایط مختلف شامل نسل و محیط تکرار شدند. اصلی ترین نشانگر، نشانگر *Xcfa2114-6A* بود که در هر شش شرایط مختلف شامل محیط، نسل و میانگین آنها به صورت مشترک شناسایی شد. نشانگر *Xcfa2187-5A* تنها مختص شرایط بدون تنش بود. در نقطه مقابل، دو نشانگر *Xgwm181-3B* و *Xgwm251-4B* مختص شرایط تنش بوده و در مجموع حدود ۲۳ و ۱۲ درصد از واریانس فنوتیپی دوره پر شدن دانه را توجیه می کردند (جدول ۴). در مجموع مکان های کروموزومی برای حضور QTL های مرتبط با دوره پر شدن دانه بر روی کروموزوم های 5A، 6A، 7A، و 3B تشخیص داده شدند که نتایج تحقیقات بورنر و همکاران (Borner et al., 2002) نیز به وجود دو QTL بر روی کروموزوم های 5A و 5B اشاره داشتند. مکان یابی فاصله ای مرکب نتوانست QTLی را برای این صفت شناسایی کند.

بحث

در گندم هگزاپلوئید ژن های موجود در گروه همیولوگ ۵ به نام *Vrn-1* روی 5A، *Vrn-2* روی 5B و *Vrn-3* روی 5D به همراه *Vrn-5* روی 7B حساسیت به فرایند بهاره شدن را کنترل می نمایند. ژن های گروه همیولوگ ۲ مرتبط با طول روز به نام های (*Ppd-D1*) *Ppd-1* روی 2D، (*Ppd-B1*) *Ppd-2* روی 2B و (*Ppd-A1*) *Ppd-3* روی 2A حساسیت به نور را کنترل می کنند. ژن های کنترل کننده زودرسی که در طول ژنوم گسترده اند، در ارتباط با روز تا تشکیل سنبله و صفات فنولوژیک گیاهی هستند. کاجل و همکاران (Kuchel et al., 2006) یک QTL مرتبط با صفت روز

تا سنبله دهی را در نزدیکی نشانگر *Xgwm148* واقع بر کروموزوم 2B پیدا کرده و آن را به ژن *Ppd-2* نسبت دادند. نتایج آزمایش حاضر در هماهنگی کامل با این گزارش می باشد، بطوریکه نشانگر *Xgwm148-2B* بعنوان یکی از اصلی ترین و با ثبات ترین نشانگرهای مرتبط با مقدار روز تا سنبله دهی تشخیص داده شد. سوردیل و همکاران (Sourdille et al., 2000) با استفاده از تجزیه رگرسیون چند گانه مکان مشابهی را در 2BS برای روز تا سنبله دهی گزارش کردند. مولر و همکاران (Mohler et al., 2004) و هانوک و همکاران (Hanocq et al., 2004) در گندم نان ارتباط قوی نشانگر *Xgwm148* با صفت روز تا سنبله دهی را گزارش کردند که در هماهنگی با نتایج آزمایش حاضر می باشد. در پژوهش حاضر نشانگر *Xgwm148* علاوه بر اینکه در شرایط تنش و بدون تنش و در هر دو نسل تغییرات روز تا سنبله دهی را توجیه نمود، با صفات دیگری از قبیل طول سنبله، طول و عرض برگ پرچم، شاخص برداشت و شاخص برداشت سنبله هم به صورت مشترک شناسایی (Golabadi et al., 2011) گردید.

برای صفت روز تا گرده افشانی نشانگر *Xwmc405-7A* اصلی ترین مکان برای QTL مرتبط با این صفت شناسایی شد و در همه شرایط به صورت مشترک ملاحظه گردید. صفات روز تا سنبله دهی، شاخص برداشت سنبله و عرض برگ پرچم نیز ارتباط بسیار معنی داری را با این نشانگر داشتند (Golabadi et al., 2011). نشانگر *Xgwm181-3B* مختص شرایط تنش بود. در روش مکان یابی فاصله ای مرکب تنها یک QTL کوچک اثر در نزدیکی نشانگر *Xbarc45-2B* شناسایی گردید. این مکان برای صفات تعداد سنبله در متر مربع، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک و تعداد دانه در سنبله مشترک بود (Golabadi et al., 2011) که نشانه وجود یک QTL مشترک با آثار پلیوتروپیک و یا چندین QTL پیوسته به یکدیگر است. صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک و دوره پر شدن دانه در کلیه

شرایط محیطی و نسل‌های مورد بررسی و همچنین میانگین آنها تنها با یک نشانگر واحد *Xcfa2114-6A* واقع بر کروموزوم 6A ارتباط بسیار معنی‌داری ($P < 0.0001$) را نشان دادند.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که برای QTL‌هایی که در شرایط محیطی مختلف در نقاط یکسانی ظاهر شدند (از قبیل *Xgwm148-2B* و *Xcfa2114-6A*)، اثر متقابل QTL $\times$ محیط چندان قابل توجه نبود. در مقابل، در صفاتی که QTL‌های مربوط به آنها در شرایط مختلف محیطی متغیر بودند (از قبیل *Xgwm181-3B*)، اثر متقابل زیادی بین QTL‌ها و محیط وجود داشت. عدم شناسایی QTL‌های مشترک بین آزمایش حاضر و تحقیقات سایر محققان به دلایل مختلفی از قبیل وجود اثر متقابل ژنوتیپ $\times$ محیط، خطاهای آزمایشی، عدم پوشش کامل ژنومی، نوع جمعیت نقشه‌یابی و عدم چندشکلی در مکان‌های کروموزومی مورد نظر در جمعیت حاضر ارتباط داشته است. در مقابل وجود موقعیت‌های مشابه برای QTL‌های مختلف در آزمایش‌های مختلف، نشانه کنترل ژنتیکی مشابه صفات در زمینه‌های ژنتیکی متفاوت بود (Blanco et al., 2006).

ارزیابی نقش آلل‌های والد متحمل نشان داد که برای بعضی از صفات از قبیل روز تا گرده افشانی و رسیدگی در شرایط بدون تنش، آلل‌های والد متحمل نقش کاهنده‌ای داشته و آلل‌های افزایشی در آن مکان ژنی از طریق والد حساس به نتاج منتقل می‌شوند. این وضعیت برای آلل‌ها حاکی از وجود اثر

اپیستازی بین مکان ژنی مورد نظر و سایر مکان‌های ژنی است. در آزمایش‌های بیدینگر و همکاران (Bidinger et al., 2007)، برنیر و همکاران (Bernier et al., 2007) و سالم فاراگ (Salem Farag et al., 2004) نیز مشاهده شد که آلل‌های والد متحمل باعث کاهش و آلل‌های والد حساس منجر به افزایش این صفات شدند.

در مجموع QTL‌های اصلی مرتبط با صفات فنولوژیک که از طریق روش تجزیه رگرسیون چندگانه بدست آمدند، برای هر دو شرایط محیطی مشترک بودند که در نزدیکی نشانگرهای *Xgwm148-2B* و *Xcfa2114-6A* و *Xwmc405-7A* قرار داشتند، اما مقداری QTL‌های فرعی شناسایی شدند که خاص شرایط محیطی تنش یا عدم تنش رطوبتی بودند. اگرچه این QTL‌ها بسیار معنی‌دار بودند، اما به دلیل عدم تکرارپذیری قابل توجه نبودند. QTL روز تا سنبه دهی در مجاورت نشانگر *Xbarc101* با $R^2 = 10/5$ و $LOD = 2/5$ خاص شرایط تنش رطوبتی تشخیص داده شد. QTL فرعی روز تا رسیدگی در مجاورت *Xgwm389* با $LOD = 2/1$ و $R^2 = 15/7$ خاص شرایط بدون تنش رطوبتی بود. از آنجائیکه QTL‌های شناسایی شده برای این صفات کوچک اثر تشخیص داده شد، لذا تا این مرحله هنوز قابلیت کاربرد درانتخاب به کمک نشانگر را نداشته و نیاز به مطالعات بیشتر در شرایط محیطی مختلف و سایر نشانگرها می‌باشد.

References

- Altinku, A., K. Kazan and N. Gozukirmize. 2003. AFLP marker linked to water stress tolerant bulks in barley. Gen. Mol. Bio. 26: 77-82.
- Arzani, A. 2002. Grain yield performance of durum wheat germplasm under Iranian dryland and irrigated field conditions. Sabrao J. Breed. Genet. 34: 9-18.
- Barnes, D. K. 1983. Managing root systems for efficient water use: Breeding plant for efficient water use, PP.

- 127-136. In H.M. Taylor et al. (Ed.), Limitations to Efficient Water Use in Crop Production, ASA, CSSA, Madison, WI., USA.
- Bernier, J., A. Kumar, V. Ramaiah, D. Spaner and G. Atlin. 2007.** A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. *Crop Sci.* 47: 507-518.
- Bidinger, F. R., T. Nepolean, C. T. Hash, R. S. Yadav and C. J. Howarth. 2007.** Quantitative trait loci for grain yield in pearl millet under variable post flowering moisture conditions. *Crop Sci.* 47: 969-980.
- Biswas, B. K., M. Hasanuzzaman, F. El Taj, M. S. Alam and M. R. Amin. 2001.** Simultaneous selection for fodder and grain yield in sorghum. *J. Biol. Sci.* 1: 321-323.
- Blanco A., R. Simeone, and A. Gadaleta. 2006.** Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 112: 1195-1204.
- Blum, A. 1988.** Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press, Boca Raton. USA.
- Blum, A., G. J. Golan, B. Mayer, L. Sinmena, Shpiler and J. Burra. 1989.** The drought response of landraces of wheat from the northern Negev desert in Israel. *Euphytica*, 43: 87- 96.
- Blum, A. 1996.** Yield potential and drought resistance: Are they mutually exclusive? PP. 90-101. In M. Reynolds et al. (Ed.), Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the Barriers, CIMMYT Press, Mexico.
- Borner, A., E. Schumann, A. Fürste, H. Coster, B. Leithold, M. S. Roder and W. E. Weber. 2002.** Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) *Theor. Appl. Genet.* 105: 921-936.
- Campbell, B. T., P. S. Baenziger, K. S. Gill, K. M. Eskridge, H. Budak, M. Erayman, I. Dweikat and Y. Yen. 2003.** Identification of QTLs and environmental interactions associated with agronomic traits on chromosome 3A of wheat. *Crop Sci.* 43: 1493-1505.
- Dellaporta, S. L., J. Wood and J. B. Hinks. 1983.** A plant DNA miniprep: Ver. II, *Mol. Biol. Plant Mol. Rep.* 1: 19-21.
- De Vita, P., C. Reifolo, P. Codianni, L. Cattivelli and C. Fares. 2006.** Agronomic and quantitative traits of *T. turgidum* spp. *dicoccum* genotypes cultivated in Italy. *Euphytica*, 150: 195-205.
- Golabadi, M., Arzani A., S. A. M. Mirmohammadi Maibody, B. E. Sayed Tabatabaei and S. A. Mohammadi. 2011.** Identification of microsatellite markers associated with yield components under drought stress at terminal growth stages and normal field conditions in durum wheat. *Euphytica*, 177: 207-221.
- Hanocq, E., M. Niarquin, E. Heumez, M. Rousset and G. Le. 2004.** Detection and mapping of QTL for earliness component in a bread wheat recombinant inbred lines population. *Theor. Appl. Genet.* 110: 106-115.
- Huang, X. Q., H. Coster, M. W. Genal and M. S. Roder. 2003.** Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 1379-1389.

- Huang, X. Q., H. Kempf, M. W. Ganai and M. S. Roder. 2004.** Advanced backcross QTL analysis in progenies derived from a cross between a German elite winter wheat variety and a synthetic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 933-943.
- Huang, X. Q., S. Cloutier, L. Lycar, N. Radovanovic, D. G. Humphreys, J. S. Noll, D. J. Somers and P. D. Brown. 2006.** Molecular detection of QTLs for agronomic and quality traits in a doubled haploid population derived from two Canadian wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 113: 753-766.
- Keller, M., C. Karutz, J. E. Schmid, P. Stamp, M. Winzeler, B. Keller and M. M. Messmer. 1999.** Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat $\times$ spelt population. *Theor. Appl. Genet.* 98: 1171-1182.
- Kuchel, H., L. G. Hollamby, P. Langridge, K. Williams and S. P. Jefferies. 2006.** Identification of genetic loci associated with ear-emergence in bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1103-1112.
- Kumar, N., P. L. Kulwal, Anupama Gaur, A. K. Tyagi, J. P. Khurana, P. Khurana, H. S. Balyan and P. K. Gupta. 2006.** QTL analysis for grain weight in common wheat. *Euphytica*, 151: 135-144.
- Levitte, J. 1980.** Responses of Plant to Environmental Stresses. (Vol. 2) Academic Press, New York.
- Maccaferri M, M. C. Sanguineti, S. Corneti, J. L. A. Ortega, M. Ben Salem, J. Bort, E. DeAmbrogio, L. F. G. del Moral, A. Demontis, A. El-Ahmed, F. Maalouf, H. Machlab, V. Martos, M. Moragues, J. Motawaj, M. Nachit, N. Nserallah, H. Ouabbou, C. Royo, A. Slama and R. Tuberosa. 2008.** Quantitative trait loci for grain yield and adaptation of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) across a wide range of water availability. *Genetics*, 178: 489-511.
- Marza F., G. H. Bai, B. F. Carver, and W. C. Zhou. 2006.** Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 $\times$ Clark. *Theor. Appl. Genet.* 112: 688-698.
- McCartney C. A., D. J. Somers, D. G. Humphreys, O. Lukow, N. Ames, J. Noll, S. Cloutier, and B. D. McCallum. 2005.** Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL4452 $\times$:AC Domain. *Genome*, 48: 870-883.
- Mohler, V., R. Lukman, S. Ortiz-Islas, M. William, A. J. Worland, J. van Beem and G. Wenzel. 2004.** Genetic and physical mapping of photoperiod insensitive gene Ppd-B1 in common wheat. *Euphytica*, 138: 33-40.
- Narasimhamoorthy, B., B. S. Gill, A. K. Fritz, J. C. Nelson and G. L. Brown-Guedira. 2006.** Advanced backcross QTL analysis of a hard winter wheat $\times$ synthetic wheat population. *Theor. Appl. Genet.* 112: 787-796.
- Rafalski, J. A., J. M. Vogel, M. Morgante, W. Powell, C. Andre and S. V. Tingey. 1996.** Generating and using DNA markers in plants. PP. 75-134. In: B. Birren, E. Lai. (Eds.), *Nonmammalian Genome Analysis. A Practical Guide*. Academic Press, San Diego.
- Richards, R. A. 1996.** Defining selection criteria to improve yield under drought. *J. Plant Growth Regul.* 20: 157-166.

- Roder, M. S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M. H. Tixer, P. Leroy and M. W. Ganal. 1998.** A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.
- Salem Farag, K. F. M. 2004.** The inheritance and molecular mapping of genes for post-anthesis drought tolerance (PADT) in Wheat. Ph.D. Thesis. Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg. Germany.
- Shah, M. M., K. S. Gill, P. S. Baenzger, Y. Yen, S. M. Kaeppler and H. M. Ariyarathe. 1999.** Molecular mapping of loci for agronomic traits on chromosome 3A of bread wheat. *Crop Sci.* 39: 1728-1732.
- Somers, D. J., P. Isaac and K. Edwards. 2004.** A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 1105-1114.
- Sourdille, P., J. W. Snape, T. Cadalen, G. Charmet, N. Nakata, S. Bernard and M. Bernard. 2000.** Detection of QTLs for heading time and photoperiod response in wheat using a doubled-haploid population. *Genome* 43: 487-494.
- Van-Ginkel, M., R. M. Trethowan and B. Cukadar. 1998.** A Guide to the CIMMYT Bread Wheat Program. WPSR. NO. 5, CIMMYT, Mexico.
- Yang, J., F. G. Sears, B. G. Gill and R. M. Paulsen. 2002.** Quantitative and molecular characterization of heat tolerance in hexaploid wheat. *Euphytica*, 126: 275-282.

Mapping of loci controlling phenological traits in durum wheat under drought stress and non-stress conditions using SSR markers

Golabadi, M.¹, A. Arzani², S. A. M. Mirmohammadi Maibody³

ABSTRACT

Golabadi, M., A. Arzani, S. A. M. Mirmohammadi Maibody. 2012. Mapping of loci controlling phenological traits in durum wheat under drought stress and non-stress conditions using SSR markers. **Iranian Journal of Crop Sciences. 13(4): 712-729. (In Persian).**

In this experiment, markers linked to the gene(s) controlling days to heading, days to anthesis and days to maturity were identified in a segregating population of 151 F₃ and F₄ families derived from the cross between Oste-Gata as drought tolerance and Massara-1 as susceptible durum wheat genotypes. The traits were assessed in field trials in two environmental conditions in 2003 and 2004 cropping cycles. From 200 markers screened in this study, 30 markers which were polymorphic distributed on different wheat chromosomes, except 2A, 4A and 6B. . Based on single marker analysis, *Xgwm148-2B* and *Xwmc45-7A* showed association with days to heading under two environmental conditions and explained 19% of the total phenotypic variation. For days to maturity, *Xcfa2114-6A* closely associated with other traits under stress and non-stress conditions. The presence of markers that were exactly located at the same regions of chromosomes reflected high correlation between traits. Composite interval mapping identified 3, 2 and 2 QTLs for days to heading, days to anthesis and days to maturity, respectively. These QTLs were located on chromosome 2B and 3B for days to heading and days to anthesis and 3B and 5A for days to maturity, respectively. These QTLs could explain about 10% of phenotypic variation of phenological traits.

Keywords: Durum wheat, Moisture stress, Phenological traits, QTL and SSR Marker.

Received: October, 2010 Accepted: May, 2011

1- Assistant Prof., College of Agriculture, Khorasgan Branch Islamic Azad University, Isfahan, Iran. (Corresponding author)
(Email: m_golabadi@yahoo.com)

2- Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3- Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran