doi: 10.22124/cr.2021.18106.1636

تحقیقات غلات

دوره دهم/ شماره سوم/ پاییز ۱۳۹۹ (۲۳۰-۲۲۱)

مکان‌یابی QTLهای برخی صفات مرتبط با اندازه و شکل دانه در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان

علاءالدین کردنائیج[1]* و آرزو یگانه[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۰

چکیده

شکل و اندازه دانه از مهم‌ترین اجزای عملکرد و از مولفه‌های اصلی اهلی شدن در گندم به‌شمار می‌روند. شناخت ماهیت ژنتیکی این صفات مهم و بهره‌مندی از آن در برنامه‌های به‌نژادی این محصول راهبردی از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از این مطالعه، شناسایی QTL های مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه شامل وزن دانه، طول دانه، عرض دانه، نسبت عرض دانه به طول دانه، درجه کروی بودن دانه، محیط عمودی دانه، مساحت دانه در تصویر افقی، مساحت دانه در تصویر عمودی و حجم دانه در یک جمعیت نقشه‌یابی متشکل از ۱۱۸ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان حاصل از تلاقی واریته محلی ایرانی طبسی و واریته اصلاح شده اروپایی تایفون بود. در مجموع، تعداد نوزده QTL روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 2D، 3B، 4A، 4D، 5A، 5B، 5D، 6A، 7A و 7B شناسایی شد. ژنوم‌های A، B و D به‌ترتیب در ۵۳، ۲۶ و ۲۱ درصد از QTL ها مشاهده شدند. از میان صفات تحت بررسی، طول دانه با پنج QTL دارای بیش‌ترین تعداد QTL های شناسایی شده بود. درجه کروی بودن دانه نیز با دو QTL بیش‌ترین ارزش فنوتیپی (به‌طور متوسط ۴۲/۳ درصد در هر QTL) را به‌خود اختصاص داد. از میان نواحی QTL شناسایی شده، یک ناحیه روی کروموزوم 2A کنترل کننده صفات طول و حجم دانه و یک ناحیه روی کروموزوم 5D کنترل کننده صفات درجه کروی بودن دانه و مساحت دانه در تصویر افقی بود و به‌عنوان نواحی پلیوتروپیک معرفی می‌شوند. نتایج حاصل از این پژوهش در توافق با مطالعات دیگر، در گزینش به‌کمک نشانگر برای صفات شکل و اندازه دانه در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اثر پلیوتروپی، ارزش فنوتیپی، نشانگر ریزماهواره، وزن دانه

۱- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- کارشناس ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: kordenaeej@shahed.ac.ir

مقدمه

از مهم‌ترین صفات یا اجزای مرتبط با عملکرد در گندم، شکل و به‌ویژه اندازه دانه آن است، به‌طوری‌که افزایش در اندازه دانه یکی از مؤلفه‌های اصلی اهلی‌شدن در غلاتی مانند گندم بوده است (Fuller, 2007). شواهد باستان‌شناسی در اطراف هلال حاصل‌خیز، حکایت از آن دارند که در خلال اهلی‌شدن گندم، گذار از تراز اجداد وحشی دیپلوئید و تتراپلوئید به‌سمت شکل‌های اهلی و هگزاپلوئید آن‌ها، با تمایل و انتخاب بشر به‌سمت انواع با دانه‌های درشت‌تر همراه بوده است (Feldman, 2007; Fuller, 2007)، به‌گونه‌ای که گندم با دانه‌های کوچک، کشیده و نازک به دانه‌های درشت، یکنواخت، کوتاه و پهن تغییرشکل یافته است (Gegas *et al.*, 2010, Okamoto and Takumi, 2013). به‌نظر می‌رسد این فرایند با سرعت نسبتا بالایی رخ داده و با گزینش همزمان برای انواع گندم با ریزش دانه کم‌تر همراه بوده است. همچنین، به‌دلیل اهمیت بالای این ویژگی در عملکرد گندم، افزایش اندازه دانه به‌عنوان یکی از اهداف اصلی در گزینش و به‌نژادی گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده است. اگرچه در مقایسه با اندازه و شکل دانه در اهلی‌شدن غلاتی مانند گندم و برنج چندان با ارزش نبوده است (Kovach *et al.*, 2007)، اما به‌دلیل اهمیت و ارزش آن از نظر بازارپسندی، در چند دهه اخیر به‌عنوان یکی از اهداف مهم به‌نژادی گندم در نظر گرفته شده است.

اهمیت اندازه و شکل دانه در گندم و درک ماهیت ژنتیکی این صفات می‌تواند نقش فزاینده‌ای در بهبود ارقام جدید گندم نان داشته باشد (Peng *et al.*, 2003). برای مثال، دانه بزرگ‌تر می‌تواند تأثیر مثبت بر عملکرد گیاهچه داشته باشد و در نتیجه، عملکرد محصول را افزایش دهد. به‌دلیل اهمیت بالای این ویژگی در عملکرد گندم، افزایش اندازه دانه به‌عنوان یکی از اهداف اصلی در گزینش و به‌نژادی گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده است. جگس و همکاران (Gegas *et al.*, 2010) نشان دادند که اندازه دانه تا حدود زیادی هم در جمعیت‌های نقشه‌یابی و هم در جمعیت‌های طبیعی مستقل از شکل دانه است. هم‌چنین گزارش شده است که تنوع فنوتیپی شکل دانه در خزانه‌های ژنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است (Gegas *et al.*, 2010). بنابراین بهبود این صفت، برنامه‌های به‌نژادی گندم را با چالش روبرو کرده است. با وجود این، شناخت ساختار ژنتیکی این صفات در جمعیت‌های حاصل از تلاقی‌های هدف‌مند و یا جمعیت‌ها و توده‌های طبیعی قابل دسترس، خالی از فایده نخواهد بود. هدف اصلی پژوهش حاضر، شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) و ارزیابی آثار QTL های پیوسته با شکل و اندازه دانه در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) گندم نان حاصل از تلاقی بین واریته محلی ایرانی طبسی و واریته اصلاح‌شده اروپایی تایفون بود.

مواد روش‌ها

جمعیت نقشه‌یابی پژوهش حاضر شامل ۱۱۸ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) حاصل از تلاقی واریته گندم محلی ایرانی طبسی (Tabassi: Tab) و واریته اصلاح شده اروپایی تایفون (Taifun: Tai) بود. لاین‌های نوترکیب با استفاده از روش انتخاب تک‌بذری (Single Seed Descent) در سال ۲۰۰۷ خالص و اصلاح شدند (Kordenaeej, 2007.) و در سال ۱۳۹۷ در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند. طبسی واریته محلی قدیمی ایرانی است که از میان توده‌های گندم‌های بهاره در شمال شرقی ایران گزینش شده است. این رقم محلی، متحمل به تنش خشکی، زودرس، دارای ساقه‌های قوی و بلند، دانه‌های کشیده، ریشک‌دار و زرد رنگ می‌باشد. در مقابل، تایفون رقم اصلاح شده آلمانی بهاره دارای عملکرد بالا، پاکوتاه، مقاوم به سفیدک پودری، زنگ زرد، سپتوریا و دارای تحمل متوسط به فوزاریوم است (http://www.lochow-petkus.de). جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب مورد استفاده (F2:F10)، با خلوص بالای مکان‌های ژنی (بیش از ۹۸ درصد) و حاصل تلاقی دو والد متفاوت از نظر صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه، دارای سطح مناسبی از نوترکیبی مرتبط با مکان‌های ژنی احتمالی کنترل‌کننده صفات موردنظر بوده و برای هدف نقشه‌یابی QTL مناسب است.

به‌منظور انجام ارزیابی‌های فنوتیپی، تعداد ۲۰ دانه تصادفی سالم از هر یک از لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب همراه با والدین آن‌ها یعنی ارقام طبسی و تایفون انتخاب و سپس صفات مورد مطالعه به‌شرح زیر اندازه‌گیری شدند (Breseghello and Sorrells, 2007):

وزن بیست دانه برای هر لاین با ترازوی دیجینال با دقت یک‌هزارم گرم اندازه‌گیری و میانگین وزن تک‌دانه (Kernel Weight: KW) بر حسب میلی‌گرم محاسبه شد. سپس تصویر دیجتال با وضوح حداقل ۱۳/۶ pixels/mm از مجموعه بیست دانه برای هر لاین و والدین آنها تهیه شد (شکل ۱).

شکل ۱- تصویر دیجیتال دانه‌های گندم یکی از لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان
Figure 1. A digital image of kernels of a recombinant inbred lines of bread wheat

در مرحله بعد، تصاویر دیجیتال با استفاده از نرم‌افزار ImageJ (National Institutes of Health, USA, rsb.info.nih.gov/ij) آنالیز و بر مبنای آن صفات طول دانه (Kernel length: LEN) بر حسب میلی‌متر، عرض دانه (Kernel width: WID) بر حسب میلی‌متر، نسبت عرض دانه به طول دانه (Horizontal axes proportion: HAP) بر حسب درصد، درجه کروی بودن دانه (Sphericity: SPH) بر حسب درصد، محیط عمودی دانه (Vertical perimeter: VP) بر حسب میلی‌متر، مساحت دانه در تصویر افقی (Projection area: AREA) بر حسب میلی‌متر مربع، مساحت دانه در تصویر عمودی (Section area: SEC) بر حسب میلی‌متر مربع و حجم دانه (Kernel volume: VOL) بر حسب میلی‌متر مکعب محاسبه شدند (Millar *et al*., 1997).

در پژوهش حاضر از نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره (SSR) تهیه شده توسط کردنائیج استفاده شد (Kordenaeej, 2007). این نقشه مشتمل بر مکان آللی ۲۰۵ نشانگر SSR با طول کلی ۲۸۹۴ سانتی‌مورگان و متوسط فاصله نشانگری ۱۴/۵، ۱۳/۲ و ۱۶ سانتی‌مورگان به‌ترتیب برای ژنوم‌های A، B و D بود که تراکم نسبتاً مناسبی از نشانگرها را برای ۲۱ جفت کروموزوم همساخت ژنوم گندم نان (۲۶ گروه لینکاژی در این بررسی) فراهم کرده است. بر اساس این نقشه ژنوتیپی و داده‌های حاصل از ارزیابی‌های فنوتیپی (Phenotyping) دانه‌های گندم مربوط به لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب و والدین آن‌ها، QTLهای مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب شناسایی شدند. مکان‌یابی QTLها برای هر صفت با استفاده از نرم‌افزار Windows QTL Cartographer نسخه ۲/۵ انجام شد (https://brcwebportal.cos.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm). برای هر QTL اندازه آثار افزایشی و سهم آن در توجیه واریانس فنوتیپی (ضریب تبیین یا آماره R^2) هر یک از صفات تعیین و سپس نقشه موقعیت نشانگرها و QTLها به‌کمک نرم‌افزار Map Chart (Voorrips, 2002) ترسیم شود

نتایج

تعداد نوزده QTL روی کروموزوم‌های ۱A، ۲A، ۲D، ۳B، ۴A، ۴D، ۵A، ۵B، ۵D، ۶A، ۷A و ۷B برای تمامی صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در این مطالعه شناسایی شدند (جدول ۱). از میان صفات تحت بررسی، طول دانه با پنج QTL بیش‌ترین و وزن و عرض دانه فقط با یک QTL کم‌ترین تعداد را به‌خود اختصاص دادند. سهم ژنوم‌های سه‌گانه گندم (A، B و D) در توزیع QTLها به‌ترتیب برابر با ۵۳، ۲۶ و ۲۱ درصد بوده است. بر اساس آماره R^2، متوسط ارزش فنوتیپی کل QTLهای شناسایی شده در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب گندم برابر با ۱۹/۵ درصد و میانگین کل آماره LOD برابر با ۳،۰ برآورد شد. ارزیابی تعداد، جایگاه و میزان آثار QTLها به تفکیک برای صفات مورد مطالعه به شرح زیر بود:

وزن تک‌دانه

برای وزن تک‌دانه تنها یک QTL روی کروموزوم ۷B شناسایی شد (جدول ۱). این QTL به‌طور متوسط ۲۵/۶ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را در میان لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب تبیین کرد و به‌طور مشترک با نشانگر Xgwm3036 از والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده است.

عرض دانه

برای عرض دانه فقط یک QTL با ارزش فنوتیپی ۱۳/۳ درصد روی کروموزوم 4A شناسایی شد (جدول ۱). این QTL توارث یافته از والد تایفون با نشانگر Xgwm1018 تفرق پیدا کرده است.

طول دانه

برای طول دانه پنج QTL روی کروموزوم‌های 2A، 2D، 5A و 7B به‌ترتیب در تفرق مشترک با نشانگرهای Xgwm372، Xgwm957b، Xgwm294a، Xgwm291 و Xgwm767 شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین اندازه LOD (۳/۷۴) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم 5A بود. این QTL به‌طور متوسط ۱۱/۱٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. به‌غیر از QTL واقع روی کروموزوم 2D و 7B، سه QTL دیگر از والد طبسی به جمعیت نقشه‌یابی انتقال یافته‌اند.

نسبت عرض دانه به طول دانه

برای نسبت عرض دانه به طول دانه، دو QTL با متوسط ارزش فنوتیپی ۱۰/۹٪ و با فاصله نسبی ۹۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 5B شناسایی شدند. QTL مرتبط با نشانگر Xgwm1108 از والد طبسی و QTL مرتبط با نشانگر Xgwm604 از والد تایفون وارد جمعیت نقشه‌یابی شده‌اند.

درجه کروی بودن دانه

برای درجه کروی بودن دانه نیز دو QTL واقع بر کروموزوم‌های 5D و 6A به‌ترتیب تفرق یافته با نشانگرهای Xgwm639a و Xgwm1009a شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدارLOD (۵/۱۰) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم 5D بوده است. این QTL به‌طور متوسط ۴۴/۹٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین می‌کند. هر دو مکان آللی مربوط به QTLها از والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

محیط عمودی دانه

دو QTL شناسایی‌شده برای محیط عمودی دانه، واقع بر کروموزوم‌های 3B و 4D (جدول ۱)، به‌ترتیب با نشانگرهای Xgwm896 و Xgwm4726 به‌طور مشترک تفرق پیدا کردند. بیش‌ترین اندازه آماره LOD (۳/۱۳) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم 3B بود که به‌طور متوسط ۹٪/۸ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. هر دو مکان‌آللی مربوط به QTLهای این صفت، از والد طبسی در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

مساحت دانه در تصویر افقی

یک QTL روی کروموزوم 5D در مجاورت نشانگر Xgwm639 و دیگری روی کروموزوم 7A در نزدیکی نشانگر Xgwm890 برای مساحت دانه در تصویر افقی شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۴/۱۴) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم 7A با متوسط ارزش فنوتیپی ۱۳/۷٪ برآورد شد. هر دو مکان‌آللی مربوط به این QTLها از ژنوم والد تایفون در جمعیت نقشه‌یابی به توارث رسیده‌اند.

مساحت دانه در تصویر عمودی

دو QTL روی کروموزوم‌های 1A و 4A به‌ترتیب در نزدیکی نشانگرهای Xgwm497a و Xgwm1093 برای مساحت دانه در تصویر عمودی شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۲/۵۸) برای QTL واقع بر کروموزوم 1A با ارزش فنوتیپی ۱۴/۳٪ برآورد شد. هر دو مکان‌آللی مربوط به QTLهای این صفت از والد تایفون به جمعیت نقشه‌یابی منتقل شده‌اند.

حجم دانه

برای حجم دانه دو QTL روی کروموزوم‌های 2A و 6A شناسایی شدند (جدول ۱). بیش‌ترین مقدار LOD (۴/۰۸) مربوط به QTL واقع بر کروموزوم 6A بود. این QTL به‌طور متوسط ۳۴/۱٪ از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین کرد. QTL مرتبط با نشانگر Xgwm957b از والد طبسی و QTL مرتبط با نشانگر Xgwm1103b از والد تایفون به توارث رسیده است.

بحث

سهم نابرابر والدین در توزیع QTLها در جمعیت نقشه‌یابی

سهم والدین جمعیت نقشه‌یابی در توارث QTLهای مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه در این پژوهش نابرابر بود، به‌طوری‌که والد طبسی ۳۷٪ و والد تایفون۶۳٪ از نوزده QTL را در ساختار ژنتیکی جمعیت نقشه‌یابی به‌خود اختصاص دادند. تفاوت سهم دو والد از نظر مکان‌های آللی کنترل‌کننده صفات تحت بررسی با توجه به تنوع و ماهیت

تصادفی رویدادهای نوترکیبی که پس از آمیختن ژنوم‌های والدینی در نسل F_2 رخ می‌دهد و متعاقب آن در جریان خودگشنی‌های متوالی، جمعیت‌های RILs به خلوص و ثبات می‌رسند، توجیه‌پذیر است. اساساً جمعیت‌های RILs که از نتاج تک‌بذر نسل F_2 حاصل می‌شوند، پیش از رسیدن به خلوص، چندین بار تقسیم میوزی را از سر می‌گذرانند و در مقایسه با جمعیت F_2، از سطح نوترکیبی بالاتر و توان تفکیک بیش‌تری برای هدف نقشه‌یابی برخوردار هستند (Burr and Burr 1991)، به‌گونه‌ای که حتی جایگاه‌های آللی نشانگرهای بسیار نزدیک به‌هم را نیز می‌توان در آن‌ها نقشه‌یابی کرد (Wang *et al*., 1994; O'Donoughue *et al*., 1995).

سهم غالب ژنوم A از QTLهای شناسایی‌شده

ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A، B و D) از نظر تعداد QTLهای شناسایی شده، سهم نابرابری را نشان دادند. ژنوم گندم بنابر ماهیت آلوهگزاپلوئیدی خود از نظر برخورداری از نواحی ژنی، شامل نواحی غنی از ژن و نواحی فقیر از ژن می‌باشد. در واقع، توزیع ژن‌ها و میزان وقوع نوترکیبی‌های ژنی در ژنوم گندم نابرابر هستند. به‌طوری‌که بیش از ۸۵٪ ژن‌های گندم نان تنها در ۴۸ ناحیه غنی از ژن (Gene-rich regions: GRRs) در اندازه و تراکم‌های مختلفی قرار دارند و این نواحی حدود ۲۹٪ از کل ژنوم گندم را در برمی‌گیرند. هفتاد و یک درصد باقیمانده، نواحی فقیر ژنی مشتمل بر بلوک‌هایی از توالی‌های تکراری DNA می‌باشند که تعداد اندکی ژن در میان این بلوک‌ها پراکنده شده‌اند (Dilbirligi *et al*., 2004).

اندازه و شکل دانه در گندم از جمله صفات مهم و متنوعی هستند که ناشی از تنوع ژنتیکی حاصل از پدیده پلی‌پلوئیدی و اهلی‌سازی گندم می‌باشد. طی این پدیده‌ها، شکل دانه‌های گندم از کشیده و قلمی تا کوتاه و قطور تغییر (تکامل) یافته‌است (Gegas *et al*., 2010). از جنبه‌های قابل توجه دیگر در تکامل گندم هگزاپلوئید، عدم تقارن ژنومی (Genomic asymmetry) می‌باشد. موضوعی که پیش‌تر در رابطه با توزیع نامتقارن نواحی غنی از ژن در گندم مورد اشاره قرار گرفت. یکی از نشانه‌های بارز این عدم تقارن، نقش غالب ژنوم A در ساختار ژنتیکی صفات شکل و اندازه دانه می‌باشد (Feldman *et al*., 2012). یافته‌های پژوهش حاضر نیز این موضوع را تأئید می‌کند، به طوری‌که از میان ژنوم سه‌گانه، ژنوم A با برخورداری از ۵۳٪ از QTLهای شناسایی شده، سهم غالب خود را در ساختار ژنتیکی صفات شکل و اندازه دانه نشان داده است. در این بررسی، با وجود سهم غالب ژنوم A در برخورداری از نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات شکل و اندازه دانه در گندم هگزاپلوئید، هم‌چنین مشخص شد که ژنوم D نیز در بروز تنوع شکل و اندازه دانه در گندم هگزاپلوئید سهم دارد، به‌طوری که یک QTL کوچک اثر با ارزش فنوتیپی ۹/۴ ٪ روی کروموزوم 2D برای طول دانه و یک ناحیه QTL پلیوتروپیک قابل‌توجه واقع واقع بر کروموزوم 5D که به‌طور همزمان کنترل‌کننده درجه کروی بودن دانه و مساحت دانه در تصویر افقی می‌باشد نیز شناسایی شدند. چنین نقشی در پژوهش‌های پیشین هم گزارش شده است. برای نمونه، یان و همکاران (Yan *et al*., 2017) دریافتند که ساختار ژنتیکی الحاق شده از ژنوم D در جریان تکامل گندم هگزاپلوئید، در ایجاد تنوع برای صفات اندازه و شکل دانه در گندم نان دارای نقش مهمی بوده و تأثیر آن بر عملکرد نهائی دانه قابل توجه می‌باشد.

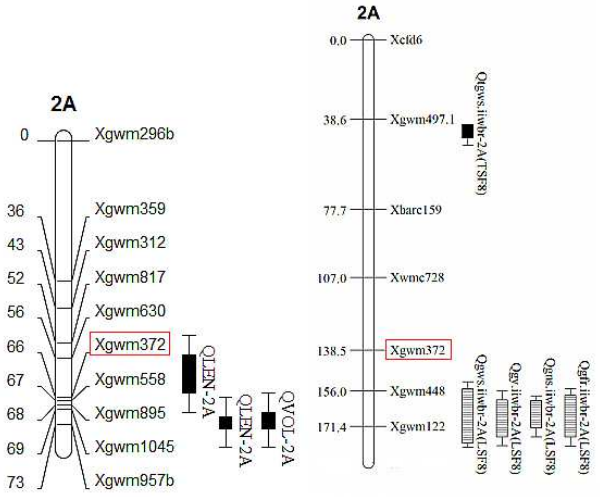
بررسی نتایج حاصل از تجزیه همبستگی بین شکل و اندازه دانه با وزن دانه نشان داد که به‌جز درجه کروی بودن دانه، رابطه سایر صفات با وزن دانه مثبت و معنی‌دار بود، که بیانگر تأثیر صفات شکل و اندازه دانه روی وزن و عملکرد نهائی آن می‌باشد. . چنین رابطه‌ای در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Qiu-Hong *et al*., 2015; Bhusal, *et al.*, 2017; Kumari *et al*., 2018).

نواحی QTL پلیوتروپیک

مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی که تنوع فنوتیپی دو یا چند صفت را به‌طور مشترک کنترل‌می‌کنند، مکان‌های ژنی پلیوتروپیک (Pleiotropic QTLs) نامیده می‌شوند. در پژوهش حاضر دو ناحیه پلیوتروپیک شناسایی شدند. ناحیه اول در مجاورت نشانگر Xgwm597b واقع در کروموزوم 2A است که همزمان کنترل کننده دو صفت طول و حجم دانه می‌باشد (شکل۲- چپ). کنترل این دو صفت با ساختار ژنتیکی مشترک، وجود همبستگی بالای میان آنها ($r = 0/677, \alpha = 0/01$) را توجیه می‌کند. زمانی که دو صفت دارای همبستگی ژنتیکی مثبت و بزرگ هستند، به این معناست که QTL مشترک، تغییرات در ارزش‌های فنوتیپی آن دو صفت را به‌صورت هم‌جهت تحت

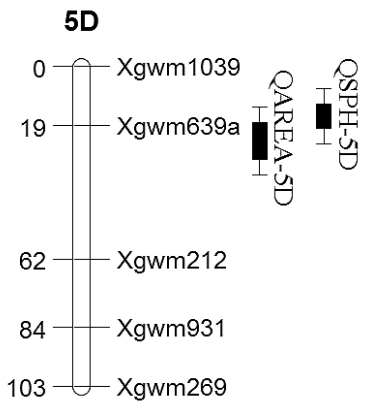
تأثیر قرار می‌دهد (Bolormaa *et al.*, 2014). اندازه آثار افزایشی QTL مشترک برای طول دانه برابر با ۰/۳۶ و برای حجم دانه برابر با ۰/۶۹ بوده است. همچنین ارزش فنوتیپی آن برای دو صفت به‌ترتیب برابر با ۲/۹٪ و ۹/۴٪ بوده‌است (جدول 1). مکان آللی این QTL مشترک با اثرات افزایشی مثبت، از والد طبسی به لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب منتقل شده‌است. با توجه به برتری واریته محلی طبسی نسبت به واریته اصلاح‌شده تایفون از نظر طول و حجم دانه، این QTL می‌تواند از نظر صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه یک QTL با ارزش تلقی شود. سامرز و همکاران (Somers *et al.*, 2004)، کروسا و همکاران (Crossa *et al.*, 2007) و بوسال و همکاران (Bhusal *et al.*, 2017) نظیر این ناحیه پلیوتروپیک را روی کروموزوم 2A گزارش کردند. موقعیت نسبی QTL پلیوتروپیک شناسایی شده در پژوهش حاضر و مطالعه بوسال و همکاران (Bhusal *et al.*, 2017) در شکل ۲ نشان داده شده است. در این دو نقشه، موقعیت نسبتا همسان نشانگر Xgwm372 در نزدیکی QTL مورد اشاره قابل‌توجه است. از طرف دیگر، از میان کروموزوم‌های ژنوم گندم در این پژوهش، کروموزوم 2A با سه QTL، بیش‌ترین تعداد را به خود اختصاص داده است. در مطالعه بوسال و همکاران نیز تعداد هفده QTL از بیست و چهار QTL، روی کروموزوم 2A شناسایی شدند. این موضوع به درستی نشان دهنده اهمیت این کروموزوم در رابطه با ساختار ژنتیکی صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در گندم نان می‌باشد.

ناحیه پلیوتروپیک دوم روی کروموزوم 5D و در مجاورت نشانگر Xgwm639a شناسایی شد (شکل ۳) که به‌طور همزمان تنوع ارزش‌های فنوتیپی صفات درجه کروی بودن و مساحت دانه در تصویر افقی را کنترل می‌کند. همبستگی معنی‌دار و منفی بین این‌دو صفت ($r = 0/607$, $\alpha = 0/01$) احتمالاً نشان‌دهنده آن است که این QTL بر تغییرات در ارزش‌های فنوتیپی این دو صفت در دو جهت مخالف اثر می‌گذارد. به عبارت دیگر افزایش ارزش یک صفت، باعث کاهش ارزش صفت دیگر می‌شود. منفی بودن اندازه اثر افزایشی این QTL برای صفت مساحت دانه در تصویر افقی (۰/۳۵-) و مثبت بودن آن برای صفت درجه کروی بودن دانه (۱۲/۵۸+) نیز این موضوع را تایید می‌کند. دو مکان آللی این ناحیه پلیوتروپیک بر خلاف ناحیه پلیوتروپیک واقع در کروموزوم 2A، هر دو از والد تایفون به توارث رسیده‌اند. اگرچه ناحیه همخوان با این ناحیه پلیوتروپیک در مطالعات دیگر همانند آنچه در مورد ناحیه پلیوتروپیک واقع در کروموزوم 2A یافت نشد، با وجود این، بالا بودن میزان ضریب تبیین این QTL (R^2= 43/3%) آن را به عنوان یک QTL بزرگ اثر مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه معرفی می‌کند اگرچه برای تأئید این ناحیه پلیوتروپیک مطالعات بیشتری لازم است.



شکل ۲- مقایسه موقعیت یک ناحیه QTL پلیوتروپیک روی کروموزوم 2A: چپ مربوط به پژوهش حاضر و راست مربوط به Bhusal و همکاران (Bhusal, *et al.*, 2017) است.

Figure 2. A comparison between a plieotropic QTL region on chromosome 2A: Left, in the present study and right in Bhusal *et al*., 2017.



شکل ۳- موقعیت یک ناحیه QTL پلیوتروپیک روی کروموزوم 5D
Figure 3. Position of a plieotropic QTL region on chromosome 5D

جدول ۱- مشخصات QTL های شناسایی شده صفات مرتبط با شکل و اندازه دانه در جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب گندم نان
Table 1. QTLs identified for grain size and shape in a RIL population of bread wheat

Trait	Locus	Linked marker	LOD	Phenotypic value (%)	Additive effect	Parental allele	Average phenotypic value (%)	Average LOD
Kernel weight	7B	*Xgwm3036*	2.50	25.6	0.06	Tai	–	–
Kernel width	4A	*Xgwm1081*	2.62	13.3	-0.18	Tai	–	–
Kernel length	2A	*Xgwm372*	2.62	8.9	0.35	Tab	9.2	2.89
	2A	*Xgwm957b*	2.55	2.9	0.36	Tab		
	2D	*Xgwm294a*	2.85	9.4	-0.78	Tai		
	5A	*Xgwm291*	3.74	11.1	0.41	Tab		
	7B	*Xgwm767*	2.07	7.4	-0.32	Tai		
Horizontal axes proportion	5B	*Xgwm1108*	3.30	10.1	1.10	Tab	10.9	3.02
	5B	*Xgwm604*	2.74	11.6	-1.16	Tai		
Sphericity	5D	*Xgwm639a*	5.10	44.9	12.58	Tai	42.3	4.11
	6A	*Xgwm1009a*	3.12	39.6	12.08	Tai		
Vertical perimeter	3B	*Xgwm896*	3.13	9.8	-0.60	Tab	12.5	3.07
	4D	*Xgwm4726*	3.00	15.1	-0.76	Tab		
Projection area	5D	*Xgwm639a*	2.11	41.8	-0.35	Tai	27.8	3.13
	7A	*Xgwm890*	4.14	13.7	-0.18	Tai		
Section area	1A	*Xgwm497a*	2.58	14.3	0.11	Tai	12.2	2.54
	4A	*Xgwm1093*	2.50	10.0	0.09	Tai		
Kernel volume	2A	*Xgwm957b*	2.18	9.4	0.69	Tab	21.8	3.13
	6A	*Xgwm1103b*	4.08	34.1	-1.63	Tai		
Total mean			3.00	19.5				

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برای تمامی صفات مورد بررسی، حداقل یک QTL شناسایی شد. همچنین مشخص شد که توزیع QTLها در ژنوم سه‌گانه گندم متفاوت و در این میان سهم ژنوم A از دو ژنوم دیگر بیش‌تر بود. علاوه بر این، سهم والدین جمعیت نقشه‌یابی در توزیع و توارث جایگاه‌های آللی QTLها در میان لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب نیز نابرابر بود. حضور دو ناحیه پلیوتروپیک واقع بر کروموزوم‌های 2A و 5D نشان‌دهنده اهمیت و سهم قابل‌توجه این نواحی در ساختار ژنتیکی مرتبط با صفات شکل و اندازه دانه در گندم می‌باشد، به‌ویژه ناحیه پلیوتروپیک واقع بر کروموزوم 2A که با نتایج مطالعات مشابه کاملاً همخوانی داشت. در صورتی که نقشه پیوستگی مورد استفاده در این پژوهش با به‌کار بردن تعداد و انواع بیش‌تر نشانگرها بهینه شده و برای نقشه‌یابی دوباره مورد بهره‌برداری قرار گیرد، در این صورت پس از تأیید اعتبار QTLهای شناسایی‌شده در یک نقشه پیوستگی بهینه، می‌توان آن نواحی و به‌ویژه نواحی پلیوتروپیک را از نظر توالی‌های ژنی، مطالعه و سپس از نشانگرهای مرتبط با نواحی QTL بزرگ‌اثر تأیید شده، به‌منظور بهبود و اصلاح شکل و اندازه دانه از طریق گزینش به‌کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی گندم استفاده کرد.

References

Bhusal, N., Sarial, A. K., Sharma, P. and Sareen, S. 2017. Mapping QTLs for grain yield components in wheat under heat stress. **PLoS ONE** 12 (12): e0189594. doi.org/10.1371/journal.pone.0189594.

Bolormaa, S., Pryce, J. E., Reverter, A., Zhang, Y., Barendse, W., Kemper, K., Tier, B., Savin, K., Hayes, B. J. and Goddard, M. E. 2014. A multi-trait, meta-analysis for detecting pleiotropic polymorphisms for stature, fatness and reproduction. **PLoS Genetics** 10 (3): e1009148. doi.org/10.1371/journal.pgen.1004198.

Breseghello, F. and Sorrells, M. E. 2007. QTL analysis of kernel size and shape in two hexaploid wheat mapping populations. **Field Crops Research** 101: 172-179.

Burr, B. and Burr, F. A. 1991. Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: Theoretical and practical considerations. **Trends in Genetics** 7: 55-60.

Dilbirligi, M. M., Erayman, M., Sandhu, D., Sidhu, D. and Gill, K. S. 2004. Identification of wheat chromosomal regions containing expressed resistance genes. **Genetics** 166: 461-481.

Feldman, M. and Kislevb, M. E. 2007. Domestication of emmer wheat and evolution of free-threshing tetraploid wheat. **Israel Journal of Plant Sciences** 55: 207-221.

Feldman, M. and Levy, A. A. 2012. Genome evolution due to allopolyploidization in wheat. **Genetics** 192 (3): 763-774.

Fuller, D. Q. 2007. Contrasting patterns in domestication crop and domestication rates: Recent archaeobotanical insights from the old world. **Annals of Botany** 100 (5): 903-924.

Gegas, V. C., Nazari, A., Griffiths, S., Simmonds, J., Fish, L., Orford, S., Sayers, L., Doonan, J. H. and Snape, J. W. 2010. A genetic framework for grain size and shape variation in wheat. **The Plant Cell** 22: 1046-1056.

Kordenaeej, A. 2007. Mapping QTLs for yield and yield components under drought stress in bread wheat. Ph. D. Dissertation, University of Natural Resources and Applied Life Sciences (BOKU), Vienna, Austria. 97 p.

Kovach, M. J., Sweeney, M. T. and McCouch, S. R. 2007. New insights into the history of rice domestication. **Trends in Genetics** 23: 578-587.

Kumari, S., Jaiswal, V., Kumar, V., Paliwal, R., Singh, H. and Gupta, P. K. 2018. QTL mapping for some grain traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Physiology and Molecular Biology of Plants** 24 (5): 909-920.

Yan, L., Liang, F., Xu, H., Zhang, X., Zhai, H., Sun, Q. and Ni, Z. 2017. Identification of QTL for grain size and shape on the D genome of natural and synthetic allohexaploid wheats with near-identical AABB genomes. **Frontiers in Plant Science** 8: 1705. doi.org/10.3389/fpls.2017.01705.

Millar, S. J., Whitworth, M. B. and Evers, A. D. 1997. Image analysis: The prediction and assessment of wheat quality and milling properties. Proceedings of the International Wheat Quality Conference. May 18-22, 1997, Manhattan, Kansas, USA. pp: 141-151.

O'Donoughue, L. S., Kianian, S. F., Rayapati, P. J., Penner, G. A. and Sorrells, **M. E. 1995.** Molecular linkage map of cultivated oat (*Avena byzantina* X A. *sativa* cv. Ogle). **Genome** 38: 368-380.

Okamoto, Y. and Takumi, S. 2013. Pleiotropic effects of the elongated glume gene P1 on grain and spikelet shape-related traits in tetraploid wheat. **Euphytica** 194: 207-218.

Peng, J., Ronin, Y., Fahima, T., Röder, M. S., Li, Y., Nevo, N. and Korol, A. 2003. Domestication quantitative trait loci in *Triticum dicoccoides*, the progenitor of wheat. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America: PNAS** 100 (5): 2489-2494.

Qiu-Hong, W., Yong-Xing, C., Sheng-Hui, Z., Lin, F., Jiao-Jiao, C. and Zhi-Yong L. 2015. High-density genetic linkage map construction and QTL mapping of grain shape and size in the wheat population Yanda1817 × Beinong6. **PLoS ONE** 10 (2): 118-134.

Somers, D. J., Isaac, P. and Edwards, K. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical Applied Genetics** 109: 1105-1114.

Voorrips, R. E. 2002. Map Chart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. **The Journal of Heredity** 93 (1): 77-78.

Wang, G. L., Mackill, D. J., Bonman, J. M., McCouch, S. R., Champoux, M. C. and Nelson, R. J. 1994. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. **Genetics** 136: 1421-1434.

doi: 10.22124/cr.2021.18106.1636

University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 10, No. 3, Autumn 2020 (221-230)

Mapping QTLs for some seed shape and size related traits in a population of recombinant inbred lines of bread wheat

Alaeddin Kordenaeej[1*] and Arezoo Yeganeh[2]

Received: August 27, 2020 Accepted: November 30, 2020

Abstract

Kernel shape and size are the most important characters related to the yield and domestication in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Understanding of genetic parameters of such important traits and its utilization is very important in breeding programs for this strategic crop. The aim of the present study was to identify quantitative trait loci (QTLs) corresponding to the kernel shape and size characteristics i.e. kernel weight, kernel length, kernel width, horizontal area proportion, sphericity, vertical perimeter, projection area, section area, and kernel volume within a mapping population of 118 recombinant inbred lines (RILs) of bread wheat resulting from a cross between an Iranian landrace, Tabassi, and a European wheat variety, Taifun. In total, nineteen QTLs were identified on chromosomes 1A, 2A, 2D, 3B, 4A, 4D, 5A, 5B, 5D, 6A, 7A and 7B. The genomes A, B and D covered 53%, 26%, and 21% of the QTLs, respectively. The highest number of QTL (5) and phenotypic value (42.3%), were respectively obtained for kernel length and kernel sphericity. Among the QTL regions identified, one region on chromosome 2A corresponding kernel length and volume and one region on chromosome 5D controlling sphericity and projection area are referred to as pleiotropic regions. The results of this study, in agreement with other studies, are recommended in marker-assisted selection (MAS) for grain shape and size traits in bread wheat breeding programs.

Keywords: Kernel weight, Microsatellite marker, Phenotypic value, Plieotropic effect

1. Assist. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
2. M. Sc. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
* Corresponding author: kordenaeej@shahed.ac.ir