کاربرد نشانگرهای مولکولی DNA در به‌نژادی گیاهان (مقاله مروری)

سیدعلی‌محمد میرمحمدی میبدی[1،*] و پوراندخت گلکار[2]

١- استاد، گروه زراعت و اصلاح‌نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان
٢- استادیار، پژوهشکده زیست‌فناوری و مهندسی زیستی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

(تاریخ دریافت: ١٣٩٧/١٢/٠٨ – تاریخ پذیرش: ١٣٩٨/٠٣/٠٥)

چکیده

به‌نژادی با هدف بهبود کمی و کیفی گیاهان، طیف گسترده‌ای از روش‌ها و فنون را به کار گرفته است. نشانگرهای مولکولی از ابزارهایی هستند که چشم‌انداز جدیدی را برای پیشرفت‌های اصلاح گیاهان فراهم کرده‌اند. این مقاله مزایا و کاربردهای متنوع نشانگرهای مولکولی و بهره‌گیری از توان بالای پلی‌مورفیسم طبیعی موجود در داخل جوامع در تلفیق با توانمندی‌های روش‌های اصلاح‌نباتات مرسوم را مرور می‌کند. برخی نشانگرها از عوامل محیطی تأثیرپذیری ندارند و فراوانی بالای آن‌ها از نظر تعداد و تنوع بالای ساختاری آن‌ها به‌عنوان بخشی از مزایای نشانگرها در تشخیص هویت، تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌ها و بررسی روابط خویشاوندی گیاهان به‌شمار می‌رود. نشانگرها در کشف اطلاعات بیشتر در مورد حفظ کلکسیون‌های ذخایر ژنتیکی گیاهی، تشخیص واریته‌ها، مکان‌یابی و تعیین تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمک می‌کنند. توالی‌یابی ژنوم، تهیه نقشه‌های فیزیکی و ژنتیکی، انگشت‌نگاری‌های ژنومی و به‌نژادی گیاهان به‌عنوان برخی از دیگر کاربردهای این ابزار در اصلاح‌نباتات می‌باشد. کارایی بالای انتخاب به کمک نشانگر در انتخاب ژنوتیپ‌ها به‌عنوان والد تلاقی و انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی و انتخاب ژنومی تأکید شده است. فناوری‌های جدید فرصت‌های خوبی را برای یافتن الگوهای تنوع ژنتیکی برای پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی ایجاد کرده‌اند. امروزه با توسعه سریع فناوری توالی‌یابی‌های نسل جدید، توالی‌یابی ژنومی و روش‌های با کارایی بالا برای نشانگرها، ایجاد نشانگرهای جدید مانند EST-SSR از(Simple Sequence Repeats (SSR و Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) را آسان کرده است. این نشانگرها می‌توانند با موفقیت در شتاب‌بخشی به تحقیقات و برنامه‌های اصلاح گیاهان زراعی به‌کار گرفته شوند.

واژگان کلیدی: انتخاب، به‌نژادی، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **maibody@cc.iut.ac.ir**

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

مقدمه

انتخاب صحیح مواد ژنتیکی به‌وسیله به‌نژادگران گیاه مستلزم به‌کارگیری درست تنوع است (Rao and Hodgkin, 2002). تولید ژنوتیپ‌های مطلوب و برتر تنها از طریق انتخاب صحیح مواد ژنتیکی در یک گونه گیاهی بسیار متنوع و ارزیابی مداوم برتری ژنوتیپ‌های تولیدی در محیط‌های مختلف امکان‌پذیر است (Garrido-Cardenas *et al.*, 2018). این مسئله به‌ویژه به‌دلیل رقابتی بودن فعالیت‌های به‌نژادگران گیاه و ضرورت پاسخگویی درست به نیازهای دائماً در حال تغییر بازار از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. امروزه استفاده از این ابزار به‌دلیل فراوانی فوق‌العاده نشانگرهای مولکولی به‌عنوان مکان‌هایی روی کروموزوم‌ها با قابلیت کمک به محققین در تجزیه و مطالعه ژنوم موجودات و دارا بودن مزایای مطلوب زیاد مانند داشتن وراثت مندلی، برخورداری از میزان پلی‌مورفیسم بالا، هم‌بارز بودن، داشتن قدرت تمایز بین افراد هتروزیگوت و هموزیگوت، تکرارپذیری بالا، بیان مستقل از محیط، نماینده‌ای از کل ژنوم فرد بودن (Avise, 2012)، کم‌هزینه بودن و قابلیت استفاده سریع و راحت آن‌ها، موجب موفقیت بسیاری از برنامه‌های به‌نژادی گیاهان شده است (Collard and Mackill, 2008; Amom and Nongdam, 2017).

نشانگرهای ژنتیکی شامل نشانگرهای سیتوژنتیکی، بیوشیمیایی و مولکولی می‌باشند که از این میان نشانگرهای مولکولی و بالاخص نشانگرهایی که پلی‌مورفیسم را در سطح DNA نشان می‌دهند (نشانگرهای DNA مانند RAPD، SSR، AFLP و ISSR و ...) دارای کاربرد زیادی در شناسایی و دست‌کاری مکان‌های ژنتیکی مسئول صفات تک‌ژنی[1] و چندژنی[2] هستند (Xu, 2010). امروزه با توجه به گسترش روزافزون علم زیست‌فناوری و ترکیب آن با سایر علوم زیستی از جمله بیوانفورماتیک و نقش نشانگرها در انعکاس اختلافات ارثی در توالی‌های DNA همولوگ بین افراد، روند صعودی استفاده از نشانگرهای مولکولی در موضوعات تحقیقاتی گیاهی مانند اصلاح سریع‌تر ارقام، بخصوص در گونه‌هایی که عمدتاً به‌وسیله بخش خصوصی نادیده گرفته شده‌اند، به‌خوبی دیده می‌شود (شکل ۱).

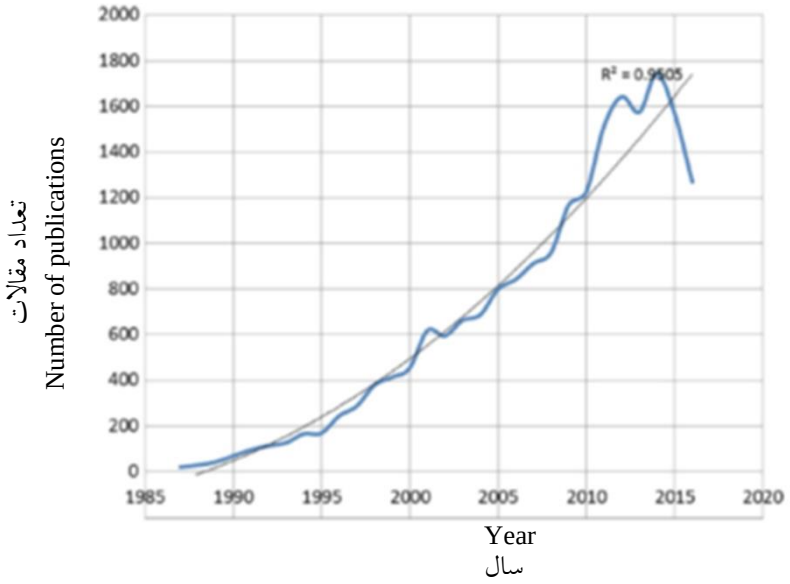
عمده‌ترین مزایای مطلوب نشانگرهای مولکولی در به‌نژادی گیاهان شامل موارد زیر است (Jena and Mackill, 2008):

الف) صرفه‌جویی در زمان[3]: DNA ژنومی را می‌توان در هر مرحله از مراحل نموی گیاه و از هر قسمتی از بافت گیاهی جدا کرد و با استفاده از نشانگرهای DNA پیوسته به یک صفت خاص، اطلاعات لازم را برای انتخاب والدین و انجام آگاهانه‌تر تلاقی‌ها حتی قبل از گرده‌افشانی به‌دست آورد. با این اطلاعات به‌نژادگران می‌توانند طی یک سال تعداد زیادی انتخاب انجام دهند و در وقت صرفه‌جویی کنند (Mohan *et al.*, 1997). استفاده از ابزارهای مولکولی به‌دلیل سرعت بخشیدن به برنامه‌های به‌نژادی، بالا بردن دقت آن‌ها و کاهش هزینه‌ها از طریق صرفه‌جویی در نیروی کار، انقلابی بزرگ در انتخاب صفات، تجزیه و تحلیل ژنتیکی گیاهان زراعی و تولید ارقام جدید پدید آورده است (Mohan *et al.*, 1997).

ب) ثبات[4]، پایداری و قابلیت اطمینان[5]: نشانگرهای مولکولی به‌دلیل برخورداری از ویژگی چندشکلی در سطح DNA و قابلیت آن‌ها برای بیان در همه بافت‌ها و مراحل مختلف رشد، از پایداری بالایی برخوردارند (Poczai *et al.*, 2013). با توجه به این‌که شرایط محیطی برای نشانگرهای مورفولوژیکی و یا بیوشیمیایی می‌تواند مطلوب یا نامطلوب به‌حساب آید، نشانگرهای DNA اغلب نسبت به تغییرات محیطی خنثی هستند و به‌نژادگر می‌تواند مواد ژنتیکی خود را مستقل از شرایط محیطی ارزیابی کند (Falque and Santoni, 2007).

1- Monogene
2- Polygene
3- Time saving
4- Consistency
5- Stability and reliability

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]



شکل ١- روند انتشار مقالات در مورد نشانگرهای مولکولی در گیاهان از سال ١٩٨٥ تا ٢٠١٦

Figure 1. Publication trends from 1985 to 2016 on molecular markers in plants (Garrido-Cardenas *et al*., 2018)

ج) کارایی[1]: با ارزیابی لاین‌های اصلاحی در نسل‌های اولیه و یا مراحل نخست رشد و نمو گیاه و با حذف زودهنگام برخی از نتاج می‌توان راحت‌تر کیفیت ژنتیکی مواد اصلاحی را بهبود بخشید (Brar and Kush, 1997). سهولت امتیازدهی به نشانگرها و دقت و قابلیت مطلوب تجزیه و تفسیر نتایج حاصل از به‌کارگیری آن‌ها و امکان استفاده از برخی نرم‌افزارها برای تجزیه و تحلیل سریع داده‌های حاصل از آن‌ها باعث شده تا از این ابزار در برنامه‌های به‌نژادی استفاده شود (Jonah *et al*., 2011).

د) انتخاب دقیق‌تر صفات پیچیده[2]: تقریباً تمام مراحل اصلاح گیاه شامل انتخاب والدین، پیش‌بینی عملکرد نتاج، انتخاب نتاج و شناسایی گونه‌ها مستلزم دسترسی به‌نژادگر به ابزارهای زیست‌شناسی مولکولی و جهش‌زایی می‌باشد و مطالعات وی به‌شدت تحت تأثیر این ابزارهاست. با توجه به سختی انتخاب صفات چندژنی با روش‌های معمول اصلاحی و قابلیت بالای نشانگرها در آشکارسازی تفاوت‌های موجود در اطلاعات ژنتیکی دو یا تعداد بیشتری ژنوتیپ، امروزه از نشانگرهای مولکولی برای انتخاب صفات مهم زراعی بسیاری از گیاهان مانند عملکرد دانه که دارای توارث کمی هستند، کیفیت (خواص نشاسته، کیفیت روغن، کیفیت پروتئین)، مقاومت به بیماری و حشرات و ایجاد هتروزیس (از طریق مهندسی نرعقیمی) استفاده می‌شود (Bernardo and Charcosset, 2006).

کاربردهای عملی نشانگر

توسعه نشانگرها موجب شده است تا این فناوری به‌طور مؤثری در اصلاح ارقام برتر و جدید در گیاهان مختلف استفاده شود (Garrido-Cardenas *et al*., 2018). با توجه به تعداد بسیار زیاد و تنوع نشانگرها و تفاوت‌های آن‌ها از نظر میزان چندشکلی و مبانی تولید و استفاده از آن‌ها، انتخاب یک نشانگر به متغیرهای متعددی از قبیل زیست‌شناسی گیاه، ویژگی‌های انتخاب و نوع ارقام مورد مطالعه، هدف از کاربرد نشانگر، میزان دسترسی محقق به آن و سهولت کاربرد و تفسیر نتایج و تکرارپذیری نشانگر بستگی دارد (Poczai *et al*., 2013). هیچ‌یک از نشانگرها به‌تنهایی همه ویژگی‌های یاد شده را ندارند. با این وجود محقق می‌تواند بر اساس این ویژگی‌ها و با در نظر گرفتن امکانات و هدف مطالعه نشانگر مورد نظر خود را انتخاب

1- Efficiency
2- More accurate selection of complex traits

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

کند. در زیر به برخی از کاربردهای اختصاصی نشانگرها در به‌نژادی گیاهان اشاره شده است:

۱- توالی‌یابی ژنوم[1] و انگشت‌نگاری DNA[2]

در گذشته توالی‌یابی ژنوم بزرگ یوکاریوت‌ها (مانند گیاهان) به سختی قابل انجام بود و لازمه توالی‌یابی آن آماده‌سازی اولیه نمونه ژنوم مورد مطالعه، تقسیم آن به قطعات خیلی کوچک و سپس اجرای یک‌سری روش‌های عملیات توالی‌یابی، تصویربرداری و مرئی‌سازی به‌منظور توالی‌یابی هریک از قطعات به‌طور جداگانه و در نهایت سرهم‌کردن قطعات توالی‌یابی شده و تجزیه داده‌ها بود (Metzker, 2010). برای این منظور شناسایی نقاط معیاری به‌عنوان نشانگر روی DNA برای انجام توالی‌یابی ضروری است تا بتوان بر اساس آن‌ها نتایج حاصل از توالی‌یابی قطعات را کنار هم قرار داد. امروزه تکنیک‌های مبتنی بر PCR برای آشکارسازی چندشکلی DNA در کنار روش سانگر[3] و توسعه روش‌های مختلف توالی‌یابی نسل جدید[4] (NGS) (فناوری توالی‌یابی‌های جدید با توان عملکردی بالا) موجب شده است تا به‌نژادگران به‌راحتی هزاران و یا میلیون‌ها توالی را به‌صورت هم‌زمان توالی‌یابی کنند و یا به توالی‌یابی کامل ژن‌های مورد مطالعه اقدام نمایند و نقشه‌های ژنتیکی استاندارد گیاهان عالی را تهیه کنند (Bisht and Panda, 2014; Schuster, 2007). تحلیل داده‌های حاصل از این فناوری شامل طیف گسترده‌ای از ارزیابی‌های بیوانفورماتیکی مانند تشخیص انواع موتاسیون‌های نقطه‌ای در سطح ژنوم، تشخیص SNP، تشخیص ژن‌های جدید و یا عناصر تنظیمی، ارزیابی سطح بیان ژن، شناسایی جهش در سلول‌های سوماتیک و جنسی می‌باشد. ژنوتیپ‌یابی با استفاده از توالی‌یابی (GBS)[5] روشی جدید در استفاده از روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی برای تعیین ژنوتیپ‌های جدید و اصلاح ژنوم‌های گیاهان می‌باشد.

مطالعه کامل ژنوم یا انگشت‌نگاری[6]

پروژه رمزگشایی کامل ژنوم گیاهان مستلزم تهیه یک نقشه ژنتیکی دقیق، تعیین محل تجمع منظم ده‌هاهزار قطعه DNA دربرگیرنده ژنوم و تعیین ترادف دقیق نوکلئوتیدهای سازنده آن می‌باشد. اطلاعات ژنوم شامل تغییر ساختار ژنوم نظیر تعداد کپی و درج، حذف، وارونگی و انتقال بخش بزرگی از توالی DNA را می‌توان از طریق مطالعه کامل ژنوم گیاهان به‌دست آورد و از این اطلاعات به‌عنوان راهنمایی برای کاربرد مواد صحیح در برنامه اصلاحی، تعیین خصوصیات ژنوتیپ‌ها، تشخیص و انتخاب نمونه‌های مناسب برای انجام تلاقی با نمونه‌های دیگر استفاده کرد و بر این اساس لاین‌های والدینی مناسب را انتخاب و تلاقی‌های لازم برای تولید گیاهان هیبرید را برنامه‌ریزی کرد (Ma *et al*., 2003). از اطلاعات ژنوم گیاهی هم‌چنین می‌توان برای برآورد روابط ژنتیکی بین منابع اصلاحی یا جمعیت‌ها یا لاین‌ها (برآورد هتروزیس، تعیین فراوانی آلل‌ها در یک جمعیت) استفاده کرد (Paterson, 1996). به کمک نشانگرها می‌توان نمونه‌ها را از نظر یکنواختی و یا عدم یکنواختی ژنتیکی غربال کرد و در مورد استفاده از آن در برنامه‌های به‌نژادی تصمیم‌گیری کرد. انگشت‌نگاری DNA نقش مهمی در مدیریت، حفاظت و توسعه خزانه ژنی[7]، ایجاد مجموعه‌های اصلی نمونه‌ها و غربالگری آن‌ها، ارزیابی تنوع ژنتیکی و بهره‌برداری از ژرم‌پلاسم دارد. تعیین خلوص بذر[8] (Hashemi-Petroudi *et al*., 2011a) و ارزیابی لاین‌ها (Yashitola *et al*., 2002)، شناسایی هیبریدها (Hashemi-Petroudi *et al*., 2011b)، اینبردها[9]، حفظ مالکیت‌معنوی[10]، ایجاد هویت[11] و تعیین سهم ژرم‌پلاسم خام کشورهای

1- Genome sequencing
2- Diagnostics and DNA fingerprinting
3- Sanger
4- Next generation sequencing
5- Genotyping by sequencing
6- Fingerprinting
7- Gene-pool
8- Assess purity
9- Inbreeds
10- Intellectual property
11- Establish identity

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

درحال‌توسعه در برنامه اصلاحی کشورهای توسعه‌یافته، شناسایی و ردیابی ژرم‌پلاسم پس از آزادسازی از اهداف دیگر انگشت‌نگاری ژنتیکی است (Collard and Mackill, 2008). از کاربردهای دیگر نشانگرهای مولکولی می‌توان به تائید تلاقی‌ها و والدین منتسب به آن‌ها[1] اشاره کرد. در بسیاری از برنامه‌های به‌نژادی که با یک تلاقی بین دو والد ناهمسان[2] آغاز می‌شود، انگشت‌نگاری ژنتیکی می‌تواند اثر عملی عمیقی روی نتایج حاصل از تلاقی آن‌ها داشته باشد. هنگامی که نشانگرهای ظاهری در دسترس نیستند اغلب از نشانگرهای DNA به‌عنوان روشی ساده و راحت برای اطمینان از این‌که نتاج حاصل در نسل مشخصی (F مفروض) حاصل تلاقی دو والد خاص است و نه حاصل خودگشنی و یا آمیزش غیرعمدی (ناخواسته)، استفاده می‌شود.

٢- تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفات

اطلاع از تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفات، راهنمایی برای تعیین تعداد افراد مورد نیاز (حجم جامعه) برای اداره یک جمعیت می‌باشد تا به‌نژادگر بتواند یک ترکیب خاص ژنوتیپی از یک گیاه زراعی (به‌صورت احتمال مشخص، یافتن فرد مورد نظر خویش) را به‌دست آورد (Collard *et al.*, 2005). برای مثال، اگر یک صفت زراعی با بیش از ١٠ عدد ژن کنترل شود، در این صورت به‌نژادگر باید در نسل F_2 جامعه‌ای با حداقل ٤[10] فرد (ژنوتیپ) را اداره کند تا بتواند یک ترکیب خاص از این ١٠ عدد ژن را به‌دست آورد (Holland, 2007). با شمارش افراد حامل یک نشانگر پیوسته با صفت مورد نظر در یک جامعه F_2 یا یک جامعه حاصل از تلاقی برگشتی می‌توان تعداد ژن را تخمین زد. برای مثال، در مطالعه ارقام مقاوم و حساس عدس به بیماری فوزاریوم آوندی با استفاده از نشانگر RAPD تفکیک ٣ به ١ برای تعداد زیادی آغازگرهای این نشانگر گزارش شده است. با توجه به اینکه اکثر این آغازگرها با صفت فوق پیوستگی بالایی نشان دادند، لذا این صفت با احتمال زیاد به‌وسیله یک ژن دو آللی کنترل می‌شود (Sharma *et al.*, 2004).

٣- تعیین کروموزوم حاوی ژن مورد نظر

شناسایی ژنوتیپ‌های سازگار به محیط‌های مورد نظر که در آن‌ها تعدادی از ژن‌ها با هم به‌خوبی عمل می‌کنند لازمه انتقال خصوصیات یک ژنوتیپ به یک زمینه ژنتیکی خاص در یک برنامه اصلاحی می‌باشد. به کمک بیشتر نشانگرها می‌توان محل نشانگر پیوسته با ژن مورد نظر روی کروموزوم را تعیین و ژن فوق را به کروموزوم خاص انتساب داد. علاوه‌بر این در مطالعه جداگانه‌ای با استفاده از سری مونوزومی‌ها (برای کلیه کروموزوم‌ها) می‌توان مشخص کرد که نشانگر فوق تنها به آن کروموزوم خاص تعلق دارد. محققان هم‌چنین قادرند به کمک نشانگرها برای درک صفات پیچیده، آن‌ها را به عوامل مندلی جداگانه[3] تقسیم کنند و مکان‌های کروموزومی آن‌ها را با استفاده از نقشه‌های پیوستگی و یا ذخایر سیتوژنتیک تعیین کنند (Rajib *et al.*, 2013).

٤- تهیه نقشه‌های ژنتیکی[4] (تعیین مکان یک ژن روی کروموزوم)

شناسایی محل استقرار یک ژن، میزان فاصله ژن‌ها و نشانگرها از یکدیگر، ترتیب آن‌ها و تعیین پیوستگی نشانگرها با ژن‌های مرتبط با صفات مهم زراعی روی کروموزوم‌ها و عوامل تنظیم‌کننده یک صفت خاص، مجموعه‌ای از اطلاعات مفید و مناسب هستند که می‌تواند در جنبه‌های اصلی و کاربردی اصلاح‌نباتات استفاده شود. از این اطلاعات می‌توان برای تائید وجود صفت در نسل‌های تحت انتخاب استفاده کرد و مکان ژن روی یک کروموزوم خاص را تعیین کرد.

تفکیک ژن‌ها و نشانگرها در طول تقسیم میوز ناشی از وقوع نوترکیبی کروموزومی (کراس‌اور کروموزومی) صورت می‌گیرد و این پدیده مبنای نظری تهیه نقشه

1- Parentage
2- Dissimilar parents
3- Single mendelian
4- Gene mapping

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

پیوستگی (لینکاژ) برای نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیکی می‌باشد که نقشه‌های پیوستگی بر اساس فراوانی نوترکیبی انجام‌شده در خلال میوز و در بین دو نشانگر خاص تهیه می‌شوند. نشانگرهایی که به‌هم‌پیوسته هستند، با هم تفرق می‌یابند؛ با این حال در برخی از موارد، به‌دلیل وقوع نوترکیبی، ممکن است پیوستگی بین نشانگرها از دست برود و یا کم‌رنگ‌تر شود. استفاده از نشانگرها در همسانه‌سازی مبتنی بر نقشه می‌تواند اطلاعات با ارزشی از ژن‌های غیرقابل دسترس قبلی را در اختیار به‌نژادگران قرار دهد و زمینه را برای استفاده از این قبیل ژن‌ها در پروژه‌های مهندسی ژنتیک فراهم کند. با مطالعه و شناسایی نشانگرهای نزدیک به ژن مورد نظر (چندین نشانگر در طول یک کروموزوم) که از والد به نتاج انتقال می‌یابند و تجزیه داده‌های حاصل از این تفکیک در نتاج و تهیه نقشه‌های پیوستگی، می‌توان ژن‌ها یا نشانگرهایی که بسیار نزدیک به یکدیگر هستند و یا به‌شدت پیوسته هستند را شناسایی کرد (Xu, 2010) و با محاسبه فراوانی نوترکیبی بین دو نشانگر پیوسته به‌عنوان واحد فاصله ژنتیکی (cM) یا واحد نقشه، محل استقرار آن‌ها روی کروموزوم را مشخص کرد. بر اساس فاصله نشانگرهای ژنتیکی روی کروموزوم‌ها، می‌توان نقشه‌های پیوستگی ژنتیکی گیاهان را تهیه کرد و جایگاه ژن‌های تعیین‌کننده صفات مورد نظر را روی کروموزوم شناسایی کرد (Collard *et al*., 2005). دقت یا وضوح نقشه‌ها بستگی به تعداد افرادی دارد که تجزیه و تحلیل می‌شوند. اگرچه از جوامع تلاقی‌برگشتی می‌توان برای اهداف تهیه نقشه استفاده کرد، ولی این‌ها اساساً در طبیعت محدود هستند. لاین‌های اینبرد نوترکیب، جوامع پایای F_2 و یا لاین‌های دابل‌هاپلوئید[1] (DHL) جوامع دائمی در تهیه نقشه‌ها هستند، به‌طوری که می‌توان نشانگرها و صفات جدید را به‌طور مداوم با آن‌ها آنالیز کرد. اگرچه نشانگرهای غالب کاربرد بیشتری برای تهیه نقشه دارند، با این حال، نشانگرهای هم‌بارز نیز قادرند اطلاعات زیادی را در مورد ژنوتیپ‌های نوترکیب در اختیار به‌نژادگر قرار دهند.

۵- نقشه‌برداری QTL و تجزیه و تحلیل آن‌ها

دو روش متفاوت شامل نقشه‌برداری فیزیکی و نقشه‌برداری ژنتیکی برای ترسیم نقشه‌های ژنی کروموزوم‌ها وجود دارد. نقشه‌برداری با تجزیه و تحلیل پیوستگی ژنتیکی با نقشه‌برداری به کمک شیوه‌های فیزیکی تفاوت دارد. در نقشه‌برداری فیزیکی، تعیین محل ژن‌ها به‌وسیله سنجش‌هایی و با توجه به فاصله فیزیکی بین ژن‌های مستقر روی جایگاه‌های خاص در طول کروموزوم انجام می‌شود. برای انجام این کار لازم است به‌نژادگر به برخی روش‌های آزمایشگاهی مانند تکنیک هیبریداسیون در محل[2] (FISH) و با سیگنال نهائی تولید فلورسانس (برای مشاهده با میکروسکوپ فلورسانس و به کمک فیلترهای مخصوص و دوربین عکس‌برداری) یا امکان انجام هیبریدسازی سلول‌های سوماتیکی در داخل سلول‌های نمونه[3] (CISH) با سیگنال نهائی تولید رنگ (برای مشاهده با میکروسکوپ عادی[4]) دسترسی داشته باشد. در نقشه‌برداری فیزیکی، می‌توان با به‌کارگیری روش‌های نقشه‌برداری با قدرت تفکیک بالا، محل ژن‌ها را در جایگاه‌هایی با اندازه یک کروموزوم کامل تا یک قطعه کروموزومی به طول حدود ۳۵۰ هزار جفت‌باز (تقریباً ۰/۷ – ۰/۱ درصد طول خطی یک کروموزوم) تعیین کرد و نواحی DNA را تا حد نوکلئوتیدی (با قدرت تفکیکی کمتر از محدوده روش‌های ژنتیک سلولی پیوستگی) مکان‌یابی و محل ژن‌های مسئول یک صفت خاص را دقیقاً تعیین کرد و آن‌ها را شناسایی و جداسازی کرد.

برای ترسیم نقشه‌برداری ژنتیکی باید از ژن‌های صرفاً قابل‌شناسایی به‌صورت صفات فنوتیپی و با استفاده از روش تجزیه و تحلیل پیوستگی ژن‌ها برای تعیین فواصل بین ژن‌ها استفاده کرد. توسعه روش‌های مبتنی بر PCR و نشانگرهای DNA انجام تجزیه و تحلیل‌های پیوستگی را

1- Double haploid lines
2- Fluorescence *In Situ* hybridization
3- Chromogenic *In Situ* hybridization
4- Bright-field

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

راحت‌تر کرده است و امکان تهیه و کاربرد نقشه‌های پیوستگی و نقشه‌برداری QTL در انواع مختلف گیاهان را موجب شده است. کسب حجم زیادی از اطلاعات ژنتیکی مورد نیاز نظیر تعداد ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفات، نوع اثرات این ژن‌ها و توزیع پراکنش آن‌ها در ژنوم بر اساس موقعیت نسبی آن‌ها روی کروموزوم بر اساس کاربرد این روش‌ها میسر شده است (White and Lalouel, 1988).

به فرآیند تعیین ترتیب و مشخص‌کردن فاصله‌نسبی بین نشانگرهای ژنتیکی (توالی‌های خاص یا عناصر وراثتی ایجادکننده فنوتیپ) مستقر روی یک کروموزوم بر اساس الگوی وراثتی آن‌ها نقشه‌برداری ژنتیکی گفته می‌شود. مکان‌یابی ژن‌ها بر اساس پیوستگی بین آن‌ها و نشانگرهای مولکولی انجام می‌شود. یک گروه پیوستگی، آرایش خطی ژن‌ها یا نشانگرها به‌همراه تعیین ترتیب و فاصله ژن‌ها یا نشانگرها از هم می‌باشد که با توجه به محاسبات فراوانی نوترکیبی بین آن‌ها در مراحل میوزی تعیین می‌شود. نقشه‌برداری QTL به روند تهیه نقشه‌های پیوستگی و شناسایی مناطق ژنتیکی پیوسته با صفات مطلوب شناخته‌شده اطلاق می‌شود (Xu and Crouch, 2008). با استفاده از نقشه‌یابی QTL می‌توان جایگاه ژنی را تعیین و نقشه‌های ژنتیکی (تعیین محل یک ژن روی کروموزوم) را ترسیم کرد (Golabadi *et al*., 2012).

نقشه‌های ژنتیکی به‌عنوان یک نقشه از کروموزوم‌های دو والد مختلف بوده که در شناسایی مناطق کروموزومی دارای صفات تک ژن (کنترل‌شده به‌وسیله یک ژن)، شناسایی نواحی کروموزومی حاوی صفات کمی (QTL) و ژن‌های مرتبط با صفات مورد نظر استفاده می‌شوند. تجزیه QTL شامل مکان‌یابی و تعیین اثر و سهم QTL در بروز فنوتیپی صفت است که می‌تواند به یکی از دو روش تجزیه QTLها شامل مکان‌یابی معمولی QTL و مکان‌یابی ارتباطی[1] انجام شود. از تجزیهQTL می‌توان به رابطه بین تنوع پیوسته فنوتیپی و مکانیسم‌های توارثی حاصل از تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی منفرد پی برد و به کمک آن می‌توان QTL را شناسایی و انتخاب به کمک نشانگر[2] (MAS) را اجرا کرد (Emebiri *et al*., 2009). تجزیه QTL معمولی بر اساس داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی به‌دست آمده از یکی از جمعیت‌های در حال تفرق و مصنوعی مانند F_2، دابل‌هاپلوئید، لاین‌های خالص نوترکیب، لاین‌های تقریباً ایزوژنیک و یا جمعیت‌های حاصل از تلاقی‌برگشتی انجام می‌شود. نقشه‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی بر اساس تجزیه پیوستگی و تجزیه QTL مستلزم دسترسی به جمعیت ژنتیکی در حال تفرق برای مکان‌های نشانگری و صفت کمی مورد نظر می‌باشد و نیازمند ابزارهای خاص برای ارزیابی ژنوتیپی افراد جمعیت بر اساس نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی، ارزیابی فنوتیپی صفت کمی برای تک تک افراد جمعیت شامل روش‌های آماری و نرم‌افزارهای ویژه به‌منظور تجزیه داده‌های ژنوتیپی و فنوتیپی و پیوستگی بین نشانگر و QTL می‌باشد (Wu and Li, 1996).

از طریق شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) و تعیین سهم هر یک از این نواحی در ایجاد تنوع مشاهده شده صفت در جمعیت، می‌توان کارایی برنامه‌های به‌نژادی را به میزان زیادی افزایش داد و با اطمینان بیشتری جمعیت را اصلاح کرد.

علاوه‌بر نقشه‌برداری QTL با استفاده از جمعیت دو والدی[3] (نقشه‌برداری مرسوم)، روش‌های جدیدی مانند نقشه‌یابی ارتباطی (Ersoz *et al*., 2007)، آنالیز پیشرفته QTL تلاقی‌برگشتی[4] (Tanksley and Nelson, 1996)، ژنومیک عملکردی[5] (Schena, 1998)، ژنومیک ژنتیکی[6] (Jansen and Nap, 2001)، تیلینگ[7] و اکوتیلینگ[8] (Till *et al*.,

1- Assosiation mapping
2- Marker assisted selection
3- Biparental populations
4- Advanced back-cross QTL analysis
5- Functional genomics
6- Genetical genomics
7- TILLING
8- EcoTILLING

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

2007) به‌منظور تشخیص تنوع ژنتیکی موجود در مجموعه ژرم‌پلاسم و یا لاین‌های اصلاحی استفاده شده است (Varshney and Dubey, 2009).

از مکان‌یابی معمولی QTL تا حد زیادی می‌توان به هدف اساسی ژنتیک که یافتن رابطه ژنوتیپ با فنوتیپ است دست یافت، با این وجود مطالعات مبتنی‌بر تجزیه پیوستگی، به‌دلیل الف) استفاده از تعداد کمی ژنوتیپ به‌عنوان والدین جمعیت در حال تفرق برای شناسایی و غربال چندشکلی‌های مرتبط با صفات مورد مطالعه، ب) تعداد نوترکیبی‌های کم و ج) مفید نبودن نشانگرهای شناسایی‌شده در والدین انتخابی برای گزینش به کمک نشانگر در زمینه‌های ژنتیکی والدین و ارقام دیگر، با محدودیت‌هایی مواجه است. بنابراین در سال‌های اخیر برای غلبه بر محدودیت‌ها و رفع برخی از معایب این روش، روش مکان‌یابی ارتباطی یا تجزیه ارتباطی[1] معرفی شده است. این روش مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی می‌باشد و در آن به جای استفاده از یک جمعیت خاص و در حال تفرق برای شناسایی QTL، از جمعیت‌های طبیعی و عمومی برای بررسی ارتباط بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود. در این روش نه‌تنها می‌توان ژن‌ها را به‌طور دقیق مکان‌یابی کرد، بلکه می‌توان نواحی کروموزومی دیگری را که امکان شناسایی آن‌ها در مطالعات مبتنی بر پیوستگی وجود ندارد را شناسایی کرد. به کمک مکان‌یابی ارتباطی می‌توان متغیرهای کاربردی خاص (مکان‌های ژنی، آلل‌ها) مرتبط با اختلافات فنوتیپی در یک صفت را شناسایی و به چندشکلی‌های توالی DNA صفت مورد نظر پی برد و به‌راحتی به کمک این اطلاعات صفت مورد نظر را انتخاب و گیاه را اصلاح کرد. در جمعیت‌های مورد استفاده تجزیه ارتباطی به‌دلیل ساختار جمعیت مورد استفاده (Q)، اندازه نمونه، بررسی تعداد آلل بیشتر، دقت بالای نقشه‌یابی (تعداد بیشتر وقوع میوز و نوترکیبی در طول شجره اجداد و تثبیت نوترکیبی) و فراوانی آلل‌های خاص که در بروز ارتباط دروغین مثبت بین نشانگر و صفت مؤثر هستند، نقشه ژنتیکی از وضوح بیشتری برخوردار است. با توجه به قابل‌اطمینان بودن فاصله به‌دست‌آمده و دقیق‌تر بودن آن، این روش نسبت به روش نقشه‌یابی معمولی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) برتری دارد و می‌توان از آن در انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد. تجزیه ارتباطی در ذرت (Thornsberry *et al*., 2001)، جو (Kraakman *et al*., 2006)، گندم هگزاپلوئید (Davar *et al*., 2012) و بسیاری از گیاهان زراعی دیگر استفاده شده است.

امروزه در برنامه‌های کوتاه و بلندمدت به‌نژادی گیاهان از مزایای خوب نقشه‌های ژنتیکی پیوستگی بالاخص نقشه‌های تطبیقی[2] (یا مقایسه‌ای، مانند نقشه‌های QTL که با تعیین میزان پیوستگی بین ژن‌ها به‌دست می‌آید) و تلفیقی[3] (Jain *et al*., 2010) و نقشه‌های کروموزومی ژن‌های تعیین‌کننده صفات مطلوب استفاده می‌شود. در زیر برخی از کاربردهای نقشه‌های تطبیقی و تلفیقی فهرست شده است:

الف) تعیین محل QTLها روی کروموزوم، موجب افزایش کارایی ناشی از انتخاب می‌شود و به‌نژادگر را در همسانه‌سازی مبتنی بر نقشه[4] صفات زراعی کمک خواهد کرد. برای مثال از این نقشه‌ها برای تسهیل همسانه‌سازی مبتنی بر نقشه ژن‌های مهم زراعی از ژنوم‌های بزرگ و پیچیده غلات استفاده شده است (Kilian *et al*., 1995). این نقشه‌ها هم‌چنین در انتخاب به کمک نشانگرها (MAS) و تسهیل در انتخاب غیرمستقیم کاربرد دارند (Sehgal *et al*., 2016).

ب) ایجاد یک مفهوم مشترک بین شاخه‌های مختلف زیست‌شناسی برای درک اساس بیولوژیکی صفات پیچیده.

ج) ردیابی و مکان‌یابی تعداد زیادی ژن مرتبط با یک صفت پیچیده و شناسایی دقیق ژن‌های خاص در خزانه ژنی گیاهان زراعی به‌صورت گسترده. طی سال‌های قبل، نقشه‌های پیوستگی ژنتیکی برای چندین گونه گیاهی تهیه

1- Association analysis
2- Comparative mapping
3- Integrated linkage map
4- Map based cloning

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

شده‌اند، اما نقشه‌های ژنتیکی با وضوح بالا فقط برای تعداد محدودی از گونه‌های مهم گیاهی تهیه شده است. نقشه‌های با تراکم بالا حاوی بیش از ١٠٠٠٠ نشانگر برای سیب‌زمینی تهیه شده است (Van Os *et al*., 2006). همین‌طور بیش از ١٠٠٠ مکان ژنی گندم هگزاپلوئید به کمک نشانگر مولکولی شناسایی و بدین طریق بزرگ‌ترین نقشه ژنتیکی این گیاه تهیه شده است (Qi *et al*., 2004). هم‌چنین در شبدر ایرانی از نشانگرهای مولکولی RAPD برای تهیه نقشه کروموزومی دو گونه استفاده شده است (Samiei *et al*., 2008). در برنج نیز با استفاده از نشانگر RFLP نقشه پیوستگی ژنتیکی این گیاه تعیین (McCouch *et al*., 1988) و مشخص شد که ١٦٣ ژن در محل‌های خاصی از کروموزوم‌ها مستقرند و ١٤٢ ژن دیگر به‌طور نامنظم روی کروموزوم‌ها پراکنده هستند و بیش از ٢٠٠ ژن به‌طور گروهی و مشترک روی کروموزوم‌ها مستقر هستند. این ژن‌ها کنترل صفات شکل و ارتفاع گیاه، تاریخ رشد و بلوغ، شکل‌پذیری و رنگ گل، خواص جنین و آندوسپرم، خواب بذر، حساسیت به فتوپریود، توزیع رنگ‌دانه‌ها و پارتنوژنز را به‌عهده دارند (Wijerathna, 2015). گفته می‌شود نقشه‌هایی که به‌طور کامل بر اساس تجزیه و تحلیل چندشکلی نشانگر RFLP تهیه شده‌اند، از وضوح لازم برای ارزیابی تشابهات[1] ژنومی برخوردار هستند (Kilian *et al*., 1995).

د) تعیین محل ژن‌های مهم و استفاده از اطلاعات آن در پروژه‌های گیاهان تراریخت از طریق روش‌های مکمل و تکمیل اطلاعات گونه‌های مدل و تبادل این اطلاعات

ه) دست‌یابی به اطلاعات ژنتیکی گونه‌های دور (عدم امکان تلاقی طبیعی با هم) به‌منظور استفاده از این اطلاعات برای جداسازی سریع‌تر ژن‌های هدف. به کمک نقشه‌های مقایسه‌ای می‌توان همولوژی بین مکان‌های ژنی مؤثر بر تنوع مورفولوژیکی در دو گونه مختلف را آزمون کرد. اخیراً بیش از ٥٠٠ ژن جهشی در ذرت شناخته شده است که بسیاری از آن‌ها مکان‌یابی شده و نقشه ژنتیکی آن‌ها ترسیم شده است (Coe *et al*., 1987). نقشه‌های مقایسه‌ای فرصتی را برای شناسایی جایگاه صفات کمی همولوگ بسیاری از صفات مهم مانند مقاومت به بیماری و آفت و عملکرد فراهم کرده است (Fatokun *et al*., 1992). انجام تلاقی جنسی در داخل واریته‌های یک گونه و یا در بهترین حالت تلاقی با یک گونه وحشی بسیار نزدیک به گونه زراعی امکان‌پذیر می‌باشد. انجام موفق تلاقی جنسی در روش هیبریداسیون جنسی بین‌گونه‌ای با مشکل همراه است و همواره کارایی این تلاقی‌ها پایین بوده است. علاوه‌بر این، تلاقی گونه‌های وحشی با گونه‌های زراعی موجب انتقال برخی صفات نامطلوب مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و ژنتیکی به گونه زراعی می‌شود. عدم موفقیت تلاقی‌ها در روش هیبریداسیون جنسی بین‌گونه‌ای موجب بروز مشکلات فراوانی در برنامه‌های به‌نژادی می‌شود؛ بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی برای غلبه بر موانع بین‌گونه‌ای در تلاقی‌های جنسی باید گیاهانی که از نظر فاصله ژنتیکی دور از یکدیگر قرار دارند و امکان تلاقی جنسی آن‌ها وجود ندارد را شناسایی کرد. راه‌های مختلفی برای غلبه بر این موانع پیشنهاد شده است (Mirmohammady Maibody, 2008). علاوه‌بر روش‌های پیشنهادی در اصلاح‌نباتات مرسوم می‌توان با بهره‌گیری از روش‌های پیشرفته و مناسب اصلاحی بر این موانع غلبه کرد و در مسیر انتقال ژن از گونه‌های وحشی به گونه‌های زراعی بر موانع زیادی که قبل و بعد از لقاح وجود دارد غلبه کرد (Barclay, 2004; Van Os *et al*., 2006).

انتقال ژن‌های بیگانه از گونه‌ها و منابع ژنتیکی خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی شامل اجداد محصولات زراعی و سایر گونه‌هایی که خویشاوندی کمتری با گونه‌های زراعی دارند، به‌عنوان منابع مقاومت به بیماری‌ها و برای صفاتی نظیر کیفیت، مقاومت به شوری، سرما، خشکی، ورس، زودرسی و حتی عملکرد به گونه‌های زراعی مستلزم شناسایی گونه‌ها و ژنوتیپ‌های حامل این ژن‌ها، ارزیابی دقیق و همه‌جانبه نمونه‌ها، تلاقی آن‌ها با گونه‌های زراعی

1- Synteny

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

و انتخاب نتاج برتر با استفاده از معیارهای گزینشی مناسب می‌باشد (Tanksley and McCouch, 1997). انتخاب روش استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های وحشی و انتقال ژن از این گونه‌ها و منابع ژنتیکی به گونه‌های زراعی به عوامل مختلفی بستگی دارد که شامل سهولت تلاقی آن‌ها با گونه‌های زراعی، میزان قرابت ژنتیکی و ژنومی آن‌ها، درجه شباهت، نوترکیبی بین کروموزوم‌های دو گونه، نزدیکی ژنوم‌های این گونه‌ها و امکان تبادل مواد ژنتیکی بین آن‌ها و نحوه‌ی توارث ژن‌های مورد نظر (پیچیده و ساده) و زنده ماندن نتاج اشاره کرد.

امروزه روش‌های مولکولی زیادی در به‌نژادی به‌منظور انتقال ژن و استفاده از گونه‌های وحشی با قرابت ژنتیکی بسیار دورتر بر اساس اطلاعات موجود معرفی شده است. در این رابطه باید به ظرفیت تجزیه و تحلیل نقشه‌های مقایسه‌ای در گروه‌های گیاهی خویشاوند برای بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی خویشاوندان وحشی توجه نمود (Tanksley and McCouch, 1997). نقشه‌های تطبیقی و تلفیقی ابزاری مناسب برای آزمون فرضیه تشابهات ژنومی در مطالعات بررسی امکان امتزاج ژنومی دو گونه مختلف و به‌دست آوردن گیاهان هیبرید بارور در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان می‌باشد. با مقایسه ژنوم‌های مختلف گونه‌ها می‌توان وجود یا عدم وجود تشابه بین آن‌ها را تشخیص داد. بدین منظور ضرورت تهیه این نقشه‌ها بیش‌ازپیش احساس می‌شود.

بررسی بیشتر خزانه ژنی گونه‌های وحشی می‌تواند به شناسایی ژن‌های جدید و تشریح برخی از فرآیندهای بیولوژیکی که تاکنون شناخته نشده‌اند منجر شود (Aghaee-Sarbarzeh *et al.*, 2001). برای رسیدن به این هدف، باید مطالعات گسترده‌ای در مورد مکانیسم‌های بیولوژیکی مرتبط انجام شود. بررسی ژنوم غلات نشان می‌دهد علی‌رغم تمایز سه گونه گندم، برنج و جو از یکدیگر در حدود ۵۰ میلیون سال پیش، در ژنوم این گیاهان توالی‌های حفاظت‌شده و مشابه زیادی دیده می‌شود. وجود آرایش نشانگری محافظت‌شده در نواحی بزرگ کروموزومی برخی از گونه‌های گیاهان زراعی به‌وسیله ژنومیکس مقایسه‌ای تأیید شده است (Gale and Devos, 1998; Freeling, 2001).

هنوز مطالب زیادی است که باید در مورد تعداد زیادی از توالی‌های شناخته‌شده موجود (گزارش‌شده) آموخته شود تا به‌راحتی بتوان از اطلاعات حاصل از نقشه‌برداری تطبیقی و تلفیقی استفاده و آن‌ها را تفسیر کرد (Pereira *et al.*, 1994). استفاده از اطلاعات مربوط به نقشه‌های تطبیقی و تلفیقی معمولاً با برخی محدودیت‌ها همراه است. مشاهده ۱۰-۲۰ درصد از کلون‌های DNA با تکرار کپی کم در یک گونه یکی از این محدودیت‌ها می‌باشد که به‌نظر می‌رسد این یک ویژگی خاص برای یک گونه مشخص و یا در مشابهت خیلی زیاد با گونه‌های مورد مقایسه (مرجع) باشد. این خصوصیت را می‌توان در تعداد قابل‌توجهی از ژن‌ها نیز مشاهده کرد (Fatokun *et al.*, 1992). به کمک نشانگرهای حاصل از مکان‌های چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) می‌توان بر مشکل نوترکیبی و پیوستگی که در مورد نشانگرهای حاصل از QTL وجود دارد، فائق آمد. اهمیت نقشه‌های ژنتیکی در بهبود روند برنامه‌های اصلاحی برای صفات خاص به‌صورت خلاصه در زیر بحث شده است.

الف) انتخاب بدون تلاقی آزمون و یا آزمون نتاج: در به‌نژادی گیاهان بسیاری از برنامه‌ها نیازمند تلاقی آزمون و آزمون نتاج است. نیاز به ارزیابی فنوتیپی تک‌بوته و ذخیره‌سازی آن‌ها به‌صورت جداگانه برای چند نسل، زمان‌بر و پرهزینه است. در روش تلاقی‌برگشتی نیز انتخاب صفت مغلوب نیاز به یک نسل خودگشنی دارد. با استفاده از MAS، کاربرد روش‌های تلاقی آزمون و آزمون نتاج محدود شده و صفت هدف در گیاه کاندید بر اساس نشانگر مبتنی بر DNA انتخاب می‌شود.

ب) انتخاب مستقل از محیط: برای بروز کامل بسیاری از صفات مهم گیاهی، لازم است گیاهان را در محیط‌های خاص یا کنترل شده کشت کرد تا امکان انتخاب صفت مورد نظر فراهم گردد. برای مثال، ارزیابی مقاومت به آفات و بیماری‌ها مستلزم آلوده‌سازی گیاهان به‌طور مصنوعی یا

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

طبیعی می‌باشد تا بتوان گیاهان مقاوم را انتخاب کرد. همین‌طور در برنامه‌های رایج اصلاحی تنش‌های غیرزنده باید شرایط خاص تنش اعمال شود. این در حالی است که MAS امکان انتخاب غیرمستقیم صفات را بر اساس نشانگرهای مولکولی پیوسته به صفات فراهم می‌کند.

ج) انتخاب بدون فعالیت‌های مزرعه‌ای مشکل یا آزمایشگاهی پرهزینه: بسیاری از صفات مهم به‌صورت فنوتیپی قابل‌رؤیت یا امتیازدهی نیستند و باید با امکانات پیچیده آزمایشگاهی ارزیابی شوند و از طرف دیگر ممکن است تعداد نمونه‌ها و تعداد نسل‌های ارزیابی نیز بسیار زیاد باشد. با کمک MAS تنها بخش کوچکی از برگ گیاه در هر مرحله رشدی گیاه کافی خواهد بود تا با استفاده از نشانگرهای مرتبط با صفات، انتخاب آن‌ها به‌سادگی انجام شود.

د) انتخاب در مراحل اولیه اصلاحی: با دانستن جایگاه یک ژن روی کروموزوم، می‌توان از نشانگرهای مجاور آن برای تأیید وجود صفت در نسل‌های تحت انتخاب استفاده کرد. این موضوع، امکان انتخاب سریع و دقیق ژنوتیپ‌های مطلوب را در مراحل اولیه رشد فراهم کرده و طول دوره به‌نژادی را کوتاه می‌کند (Babiker *et al.*, 2009). صفاتی که تنها در مرحله رشد زایشی یا پس از آن قابل اندازه‌گیری هستند مانند کیفیت دانه یا پتانسیل عملکرد، کاندیداهای مناسبی برای MAS می‌باشند. تکنیک MAS می‌تواند در هر مرحله رشدی گیاه و در هر نسلی اجرا شود و به‌نژادگر نیازمند نگهداری تعداد زیاد گیاهان کاندید برای نسل‌های متوالی نخواهد بود.

ه) انتخاب برای چند ژن یا چند صفت: در برخی از موارد باید چندین نژاد پاتوژن برای شناسایی چندین مقاومت در گیاهان به‌کار گرفته شود تا بتوان انتخاب صفت مورد نظر را انجام داد. این عمل می‌تواند در عمل مخاطره‌آمیز باشد، چرا که ژن‌های مختلف ممکن است فنوتیپ‌های مشابهی تولید کنند و تفکیک از هم به سختی امکان‌پذیر است؛ بنابراین به کمک روش MAS می‌توان چندین ژن مقاومت را به‌طور هم‌زمان انتخاب کرد و آن‌ها را به یک لاین منتقل کرد.

و) انتخاب ژنوم کامل: امروزه ردیابی صفات مطلوب و انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی (MAS) از طریق پیوستگی (لینکاژ) آن‌ها با صفات مهم زراعی (کمی و کیفی) امکان‌پذیر شده است (Bindler *et al.*, 2007). امکان به‌کارگیری تکنیک MAS در سطح کل ژنوم نیز وجود دارد. انتخاب کل ژنوم می‌تواند در محدود کردن ژنوم دهنده در روش تلاقی‌برگشتی استفاده شود. در برنامه تلاقی‌برگشتی ٥ تا ٧ نسل برای بازیابی پس‌زمینه ژنتیکی والد دوره‌ای نیاز است، اما با استفاده از MAS تعداد دو تا چهار نسل تلاقی‌برگشتی برای انتقال یک آلل هدف کافی است. هم‌چنین با استفاده از MAS و انتخاب کل ژنوم، امکان انتخاب هم‌زمان چند صفت در روش تلاقی‌برگشتی وجود دارد.

٦- شناسایی اثرات فنوتیپی هر آلل بر صفت (نحوه عمل ژن)

به‌نژادگران با مطالعه نشانگرهای ژنتیکی پیوسته با یک آلل مشخص می‌کنند که فرد حامل چه تعداد آلل (صفر، یک یا دو آلل) از ژن مورد نظر است. در مرحله بعد به‌نژادگر باید متوسط فنوتیپ افراد حامل صفر، یک یا دو آلل را مشخص کند و سپس با روش‌های آماری چگونگی تغییر فنوتیپ به ازای هر کپی از آلل را مشخص کند. برای این منظور تنها از برخی نشانگرها می‌توان استفاده کرد؛ برای مثال نشانگرهای RFLP به‌دلیل هم‌بارز بودن، کاربرد فراوانی در این مطالعات دارند زیرا به کمک آن‌ها می‌توان افراد حامل یک یا دو کپی از آلل را کاملاً تشخیص داد (Ripamonti *et al.*, 2009).

٧- شناسایی اثرات چندگانه (پلیوتروپی)

با استفاده از نشانگرها می‌توان ژن‌ها یا نواحی ژنومی مرتبط با بروز و ظهور یک آرایش خاص از صفات کمی و کیفی را شناسایی کرد و صفات مورد نظر را از نظر ژنتیکی تجزیه و تحلیل کرد. برای مثال در اکالیپتوس به‌منظور تعیین مکان نشانگرهای مربوط به ارتفاع و سطح برگ این درخت

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

مشخص شد که نشانگرهای مؤثر بر سطح برگ در همان ناحیه استقرار نشانگرهای مربوط به ارتفاع قرار دارند. این حالت احتمالاً به‌دلیل وجود یک ژن پلیوتروپیک در آن ناحیه است که بر دو صفت ارتفاع و سطح برگ مؤثر می‌باشد (Byrne *et al*., 1997).

۸- تعیین وجود اثرات اپیستازی

از نشانگرهای مولکولی مانند نشانگرهای هم‌بارز RFLP می‌توان برای شناسایی اپیستازی و تجزیه و تحلیل آن در ژنوم‌های گیاهی استفاده کرد.

۹- تعیین گروه‌های هتروتیک[1]

مقدار هتروزیس تا حد زیادی به میزان غالبیت در هر لوکوس و فاصله ژنتیکی والدین بستگی دارد. به‌نژادگر برای دست‌یابی به حداکثر هتروزیس باید از روابط ژنتیک لاین‌های خالص آگاهی داشته باشد تا بتواند با تعیین گروه‌های هتروتیک و انتساب لاین‌های جدید به این گروه‌ها، تلاقی‌های مناسب را برای تولید هیبریدها و لاین‌های جدید طراحی کند (Wang *et al*., 2016). به‌طور کلی والدین دارای قدرت ترکیب‌پذیری عمومی بالاتر و فاصله ژنتیکی دورتر می‌توانند یک هیبرید با تظاهر عملکرد بهتر تولید کنند. این آگاهی می‌تواند به تعیین خصوصیات ژنوتیپ‌ها برای ثبت و حفاظت از ارقام و ژنوتیپ‌های جدید در برنامه به‌نژادی کمک کند. یک گروه هتروتیک گروهی از ژنوتیپ‌ها هستند که در تلاقی با ژنوتیپ‌های متمایز از نظر ژنتیکی، ترکیب‌پذیری و واکنش مشابهی را نشان دهند (Melchinger and Gumber, 1998). معمولاً به‌نژادگران برای تولید ارقام هیبرید از دو خزانه ژنی استفاده می‌کنند و لاین‌های استخراج‌شده از این دو خزانه به‌عنوان والدین در تلاقی‌ها استفاده می‌کنند (Comings and MacMurray, 2000). به این ترتیب، هر خزانه یک گروه هتروتیک و مجموعه این دو خزانه به‌عنوان الگوی هتروتیک تلقی می‌شوند. انتساب لاین‌ها به گروه‌های هتروتیک موجب جلوگیری از تولید و ارزیابی تعداد زیادی از تلاقی‌ها می‌شود که نهایتاً بسیاری از این تلاقی‌ها حذف شده و موجب بهره‌برداری بهتر از ذخایر توارثی می‌شود.

در به‌نژادی مرسوم گیاهان روش‌های مختلفی از جمله اطلاعات شجره‌ای و یا تلاقی‌های دای‌آلل برای تعیین گروه‌های هتروتیک استفاده می‌شوند. با استفاده از نشانگرهای DNA، می‌توان نمونه‌ها را از نظر ژنوتیپ‌های ناشناخته بدون انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای بزرگ به‌طور دقیق شناسایی و ارزیابی کرد و آن‌ها را در گروه‌های هتروتیک خاص قرار داد (Nadeem *et al*., 2018) و هم‌چنین ترکیبی از والدین که با یکدیگر از نظر ژنتیکی هتروزیس بیشتری نشان می‌دهند را شناسایی کرد (Xing *et al*., 2018). نشانگر RFLP به‌عنوان ابزار مکمل روش‌های مرسوم برای تعیین گروه‌های هتروتیک و مطالعه هتروزیس در نتاج حاصل از تلاقی‌های انجام‌شده استفاده شده است (Nadeem *et al*., 2018; Wang *et al*., 2018). این نشانگر در مقایسه با سایر نشانگرها برای تعیین روابط ژنتیکی در بین لاین‌های خالص از کارایی بالاتری برخوردار است. استفاده از نشانگرها در تمایز واریته‌ها و ثبت ارقام گیاهی و ارزیابی تنوع در واریته‌های زراعی مدرن نمونه‌ای از کاربرد این فناوری است (Nadeem *et al*., 2018).

۱۰- ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ها و بررسی روابط خویشاوندی و روند تکاملی

روش‌های مختلفی مانند روش دای‌آلل (ارزیابی واریانس ژنتیکی بر مبنای بررسی یک نسل) و روش تجزیه میانگین نسل‌ها (استفاده از میانگین نسل‌های مختلف حاصل از تلاقی بین ارقام مورد مطالعه برای محاسبه اثرات ژنتیکی) به‌وفور برای ارزیابی جمعیت‌ها و تعیین اساس ژنتیکی کنترل صفات استفاده شده‌اند. در روش‌های مرسوم ارزیابی تنوع ژنتیکی معمولاً از خصوصیات فنولوژیک و مورفولوژیک که به‌شدت تحت تأثیر تغییرات محیطی قرار دارند استفاده می‌شود وجود اثرات متقابل محیط و ژنوتیپ بر فنوتیپ گیاهان و زمان‌بر بودن این روش‌ها موجب کاهش کارایی روش‌های ارزیابی فنوتیپی در اصلاح‌نباتات

1- Heterotic

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

مرسوم شده است. از بین انواع روش‌های اندازه‌گیری و تخمین میزان تنوع ژنتیکی در بین گونه‌های گیاهی، نشانگرهای مولکولی DNA ابزاری قدرتمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی و روابط ژنتیکی و اصلاح گیاهان شناخته و معرفی شده است. آن‌ها کاربردهای زیادی در بررسی تنوع ژنتیکی، انگشت‌نگاری، تسهیل اینتروگرسیون، یافتن روابط خویشاوندی بین گونه‌ها، شناسایی ارقام، تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنیک و انتخاب دقیق والدین مناسب برای تولید دورگ‌های قوی دارند (Ren and Timko, 2001).

به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی گیاهی چه در محیط طبیعی[1] و چه در خارج از محیط طبیعی[2] باید چهار مؤلفه فرضیه تحقیق (نوع نشانگر مناسب، روش ایجاد و ارزیابی نشانگر و روش آنالیز داده‌های به‌دست‌آمده) را به‌خوبی مشخص کرد. هدف به‌نژادگر از مطالعه تنوع ژنتیکی می‌تواند شناسایی هویت[3] نمونه‌ها و تعیین شباهت ژنتیکی دو یا چند نمونه (مشابهت یا تفاوت دو یا چند نمونه از نظر ژنتیکی، تعیین زیرمجموعه‌های جداشده از یک جمعیت واحد، وجود ارقام مترادف[4] یا همنام[5] به‌عنوان نمونه‌های موجود در بانک ژن، تعیین وقوع تبادلات ژنتیکی بین نمونه‌ها یا جمعیت‌ها درگذر زمان) باشد. با اطلاع از پتانسیل ژنتیکی ارقام، می‌توان ضمن حفظ خلوص ژنتیکی (Nandakumar *et al*., 2004)، ریخته‌های ارثی را به‌صورت دقیق شناسایی و روابط ژنتیکی آنان را برآورد کرد (Raggi *et al*., 2015).

به‌نژادگر در مطالعات تنوع ژنتیکی گاهی به‌دنبال تعیین شیوه‌های تشخیص[6] یک آلل یا توالی نوکلئوتیدی خاص در یک آرایه[7]، نمونه بانک ژن، جمعیتی در محیط طبیعی، یک فرد، یک کروموزوم یا قطعه‌ای از DNA همسانه‌سازی شده می‌باشد تا به کمک این شیوه‌ها بتواند موقعیت نشانگرها روی نقشه‌های فیزیکی یا ژنتیکی را مکان‌یابی کند و افراد یا جمعیت‌های دارای صفات مطلوب را شناسایی کند و یا صفات حذف شده از یک جمعیت را شناسایی و نحوه انتقال احتمالی آن صفت به یک جمعیت گیاهی دیگر را بررسی کند (Zeinalabedini *et al*., 2011).

در بخشی از مطالعات تنوع ژنتیکی به‌نژادگر به دنبال یافتن روابط و ساختارها[8] برای یافتن پاسخ به شبهات روابط خویشاوندی گیاهان، میزان تشابه بین ژنوتیپ‌ها، میزان تنوع ژنتیکی موجود و نحوه توزیع تنوع بین افراد، جمعیت‌ها و آرایه‌ها می‌باشد. به کمک نشانگرها هم‌چنین می‌توان خصوصیات یک ژرم‌پلاسم را شناسایی، تنوع ژنتیکی آن را ارزیابی، میزان قرابت گونه‌ها را تعیین و روابط ژنتیکی بین ارقام را مشخص کرد و پس از چندین نسل ارزیابی ارقام، عمل انتخاب را انجام داد (Govindaraj *et al*., 2015).

این هدف بالاخص برای کارشناسان شاغل در بانک‌های ژن که به‌دنبال بررسی اختلافات موجود در کلکسیون‌های بانک ژن، برنامه‌ریزی برای نمونه‌برداری درست از ژرم‌پلاسم‌ها و باززایی آن‌ها، تشکیل کلکسیون‌های پایه[9]، مطالعه جریان ژنی و تعیین اندازه مناسب نمونه برای محافظت و نگهداری جمعیت‌ها و نمونه‌های بانک ژن هستند مهم می‌باشد. تعیین ویژگی‌های ژرم‌پلاسم، ارزیابی، توصیف و گروه‌بندی آن به به‌نژادگران امکان می‌دهد تا در زمان نمونه‌گیری از جمعیت‌ها صرفه‌جویی شود. با آگاهی از وضعیت ژرم‌پلاسم می‌توان از آن‌ها در اینتروگرسیون و برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد و از این طریق گام مؤثری در افزایش پیشرفت‌های ژنتیکی برداشت (Herzog and Frisch, 2011). هم‌چنین به کمک نشانگرها می‌توان شکل جدیدی از ساختار تنوع داخل یک گونه (Golkar *et al*., 2011) یا گونه‌های در معرض انقراض را شناسایی کرد (Golkar and Mokhtari, 2018; Golkar and Nourbakhsh, 2019) و از

1- *In situ*
2- *Ex situ*
3- Identity
4- Synonymous
5- Homonymous
6- Location and diagnostics
7- Taxon
8- Relationship and structure
9- Core collections

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

آن‌ها در رده‌بندی گیاهان زراعی، طبقه‌بندی توارثی ذخایر توارثی (Honig *et al*., 2012)، مدیریت درست مجموعه‌های ژنتیکی و حفظ و نگهداری آن‌ها، بهره‌گیری بهتر از منابع ژنتیکی و استفاده از آن‌ها در تلاقی‌ها و جداسازی ژن‌های مفید و مطالعات فیلوژنتیکی، شناسایی گونه‌های منقرض‌شده و تعیین مبدأ تنوع استفاده کرد (Kumar *et al*., 2009). در همه این موارد دسترسی به نشانگرها و استفاده از فناوری مناسب و انتخاب درست نشانگر در این مطالعات اهمیت دارد (Ebrahimi and Zienalabedini, 2013).

در اکثر گیاهان به کمک نشانگرهای مولکولی بررسی‌های تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ذخایر توارثی که جنبه بنیادی-کاربردی دارد و می‌تواند به طراحی برنامه‌های به‌نژادی کمک کند، انجام شده است (Barzan *et al*., 2015). با استفاده از نشانگرهای مولکولی و چندشکلی آن‌ها می‌توان تفاوت‌های ژنتیکی افراد مختلف در همه مراحل رشد گیاه در جمعیت‌های در حال تفرق بزرگ را تعیین و افراد مختلف (ارقام، هیبریدها، منابع والدی و...) را از هم متمایز ساخت و از این طریق با استفاده از اطلاعات این مطالعات اقدام به شناسایی و حذف نمونه‌های تکراری موجود در بانک ژن کرد (Xu, 2010) و از هزینه‌های اضافی برای تکثیر و نگهداری آن‌ها جلوگیری کرد. نشانگر رنگ آنتوسیانین[1] (R1-nj) برای شناسایی هاپلوئیدها با موفقیت استفاده شده است (Melchinger *et al*., 2015). هم‌چنین به‌طور مشابه، از نشانگرهای SSR و SNP برای شناسایی هیبریدهای مضاعف (DH) و لاین‌های ایزوژنیک و هیبریدها استفاده شده‌اند (Tang *et al*., 2006; Shahid *et al*., 2013).

نشانگرهای مولکولی هم‌چنین در به‌نژادی گیاهان، افزایش درک به‌نژادگران از اهلی کردن[2] گیاهان زراعی، تکامل[3] گیاهان و سازوکارهای ژنتیکی درگیر در کنترل صفات زراعی نقش دارند. در بین نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای‌پلی‌مراز، نشانگرهای نیمه‌تصادفی ISSR (نواحی بین توالی‌های تکراری ساده) بسیار ساده، سریع و مؤثر، تکرارپذیر و کارآمد بوده و جزء انواع تغییریافته نشانگرهای ریزماهواره می‌باشند که در دامنه وسیعی از گیاهان به‌وسیله محققان برای تجزیه و تحلیل هم‌زمان تعداد زیادی جایگاه ژنی و مطالعه تنوع ژنتیکی استفاده شده‌اند (Hashemi-Petroudi *et al*., 2010). این نشانگر به‌علت غالبیت، سادگی، سرعت عمل و قدرت تفکیک بالا، قدرت بیشتری در آشکارسازی تنوع ژنتیکی دارد (Reddy *et al*., 2002). اگرچه هم‌چنان منابع ژنتیکی شامل ارقام اصلاح‌شده واریته‌های بومی و خویشاوندان وحشی آن‌ها به‌عنوان پایه و اساس هر پروژهٔ به‌نژادی شناخته می‌شوند، استفاده از فناوری‌های توالی‌یابی نسل جدید (NGS) به‌عنوان فناوری سودآور، بیوانفورماتیک و ابزارهای فنوتیپ‌یابی خودکار فرصت‌های زیادی را برای درک صفات و یافتن الگوی تنوع ژنتیکی و بهره‌برداری از آن با توجه به نیازهای کشاورزی مدرن و بررسی دقیق روابط بین تنوع ژنتیکی و فنوتیپی با کارایی بالا (که پیش از این هرگز حاصل نشده بود)، فراهم آورده است. همین‌طور با انجام تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر اساس توالی‌یابی مجدد ژنوم می‌توان بدون هیچ‌گونه محدودیتی از نظر دسترس بودن نشانگر، تجزیه ارتباطی صفات-نشانگر را برای منابع ژنتیکی با دامنه ژنتیکی به‌راحتی اجرا کرد و با اسکن این منابع زمینه را برای انجام مطالعات هم‌خوانی (ارتباطی) سراسر (کل) ژنوم[4] (GWAS) یک گونه خاص که روشی جذاب برای نقشه‌یابی‌های صفات کمی (QTLs) در گیاهان است، فراهم کرد (Brachi *et al*., 2011). انتظار می‌رود این فناوری‌ها موجب انقلابی در استراتژی‌های اصلاحی برای دستیابی به پیشرفت‌های کارآمدتر ژنتیکی شوند.

۱۱- انتخاب به کمک نشانگر (MAS) و اصلاح صفات

در اصلاح‌نباتات مرسوم، انتخاب بر اساس فنوتیپ که خود ناشی از اثر ژنتیک، محیط و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط است، انجام می‌شود و به‌نژادگر با انتخاب افراد دارای ظاهر

1- Navajo
2- Domestication
3- Evolution
4- Genome-wide association study

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

مطلوب به‌دنبال ژنوتیپ‌های برتر می‌باشد. باید توجه داشت که بخش ژنتیکی تنوع، قسمتی از تنوع است که موجب کارایی گزینش و پاسخ به گزینش مناسب می‌شود؛ بنابراین با انتخاب فنوتیپ‌های برتر نمی‌توان ادعا کرد که یقیناً ژنوتیپ‌های برتر انتخاب شده‌اند. به‌نژادگران تلاش می‌کنند تا انتخاب در سطح فنوتیپ بسیاری از صفات را به انتخاب در سطح ژنوتیپ آن‌ها ارتقاء دهند. این تلاش‌ها موجب طراحی برخی از روش‌های ژنتیک کمی شده است که عمدتاً مبتنی بر آزمون نتاج هستند. با توجه به هزینه زیاد و زمان‌بر بودن این روش‌ها، کاربرد نشانگرهای مولکولی مختلف و روش‌های مکان‌یابی ژنی توسعه یافت تا به‌نژادگران به‌راحتی بتوانند ژنوتیپ‌هایی با بلوک‌های ژنی مورد نظر را با توان بازدهی بالا در مدت‌زمانی به‌مراتب کوتاه‌تر از روش‌های مرسوم شناسایی کنند (Nadeem *et al*., 2018). به کمک نشانگرهای DNA می‌توان روش انتخاب به کمک نشانگر (MAS) را برای اصلاح گیاهان زراعی به‌ویژه برای صفات با وراثت‌پذیری پایین (صفات کمی پیچیده مثل عملکرد) به‌کار گرفت (Roychowdhury and Tah, 2013; Nadeem *et al*., 2018)، با این حال، اجرای این روش مستلزم تهیه نقشه‌های پیوستگی نشانگرهای مولکولی برای جمعیت‌های مختلف ژنتیکی است. هم‌چنین درک عمل، تنظیم و بیان و همسانه‌سازی ژن‌ها نیز مستلزم تهیه نقشه و توالی‌یابی ژنوم گیاهان می‌باشد (Devos and Gale, 1997).

به کمک روش انتخاب به کمک نشانگر (MAS) می‌توان با حذف اثرات محیطی، پلیوتروپی یا اپیستاتیک، گیاهان مطلوب را انتخاب و یا صفات آن‌ها را به‌صورت غیرمستقیم اصلاح کرد. به‌کارگیری این روش در اصلاح گیاهان زراعی مستلزم نشانمند کردن ژن هدف به معنی معرفی یک نشانگر پیوسته به ژن هدف، طراحی آزمایشی مناسب، انجام آنالیزهای نسبتاً پیچیده آماری، دسترسی معمول به اطلاعات نشانگر DNA، روش‌های نقشه‌برداری و نیروی انسانی متخصص می‌باشد (Platten *et al*., 2019). به‌نژادگران می‌توانند با ترکیب روش‌های انتخاب صفات کمی بر مبنای فنوتیپ (روش‌های مرسوم) با روش‌های انتخاب بر پایه فن‌آوری مولکولی، گیاهان را بر اساس ترکیبی از خصوصیات فنوتیپی و ژنوتیپی انتخاب کنند و بدین طریق کارایی انتخاب را افزایش دهند (Johnson, 2004). روش اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در گیاهان مختلف مانند لگوم‌ها با موفقیت انجام شده است (Torres *et al*., 2010). در ادامه مزایای انتخاب به کمک نشانگر تشریح می گردد:

الف- اندازه‌گیری صفات در جمعیت‌های در حال تفرق: از نشانگرهای مولکولی و روش MAS می‌توان برای اندازه‌گیری صفاتی که وابستگی زیادی به شرایط آزمایشگاهی دارند و نمی‌توانند در جمعیت‌های در حال تفرق اصلاحی به‌علت ساختار تخریبی‌شان (مثل صفات مرتبط با ساختار ریشه) اندازه‌گیری شوند، استفاده کرد (Knapp, 1998). از این روش می‌توان ترکیب‌های والدینی مطلوب را برای نیل به هتروزیس حداکثری انتخاب کرد.

ب- امکان تشخیص ژنوتیپ‌های خالص از ناخالص: با این روش می‌توان افراد هتروزیگوت واجد آلل مغلوب را انتخاب و افراد هموزیگوت و هتروزیگوت ایجادشده در یک نسل را بدون نیاز به انجام آزمون نتاج از هم تمیز داد (Castro *et al*., 2003). در انتخاب فنوتیپی به‌دلیل عدم بروز آلل مغلوب در حضور آلل غالب، این کار ممکن نیست. به کمک نشانگر منفرد با پوشش ژنومی وسیع (Ribaut and Betran, 1999) می‌توان تنوع ژنتیکی لاین‌های اصلاح شده را افزایش داد. امروزه با توسعه نسل جدید نشانگرهای مولکولی بر اساس اطلاعات توالی، به‌نژادگران قادرند به کمک این فناوری و استفاده از نشانگرها، برنامه‌های اصلاح گیاهان را هرچه بهتر به‌پیش ببرند (Hosseini *et al*., 2018; Meyer *et al*., 2017).

ج- شکستن پیوستگی‌های ژنی نامطلوب[1]: از روش تلاقی‌برگشتی به کمک نشانگرهای مولکولی یا تلاقی‌برگشتی نشانگریار[2] (MAB یا MASBC) که شکلی از روش انتخاب به کمک نشانگر (MAS) می‌باشد، می‌توان به‌منظور جلوگیری از انتقال ژن‌های نامطلوب از والد

1- Linkage drag
2- Marker-assisted breeding

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

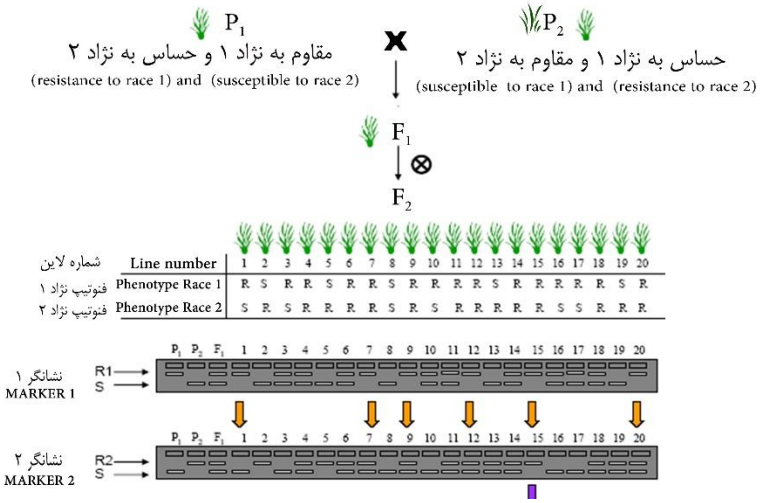
بخشنده، استفاده کرد. در این روش هم‌زمان از نشانگرها برای بازیابی ژنوتیپ والد برگرداننده به روش MASBC استفاده می‌شود. با روش تلاقی‌برگشتی نشانگریار می‌توان نتاج واجد درصد بیشتری از ژنوم والد گیرنده را به‌راحتی شناسایی کرد و بدین طریق تعداد نسل‌های مورد نیاز برای بازیابی ژنوم والد گیرنده را کاهش داد. هم‌چنین در این روش به‌منظور انتخاب ژنوم والد گیرنده در نسل‌های تلاقی‌برگشتی، علاوه‌بر استفاده از نشانگر معمول پیوسته به ژن QTL، از نشانگرهای چندشکلی بین والدهای بخشنده و گیرنده با توزیع یکنواخت در سایر کروموزوم‌ها (غیرپیوسته با QTL) استفاده می‌شود و به‌همین علت تعداد نسل‌های تلاقی‌برگشتی مورد نیاز کاهش می‌یابد.

د- افزایش سرعت روند انتخاب در برنامه‌های اصلاحی: به کمک نشانگرها می‌توان ژن هدف (انتخاب پیش‌زمینه[1]) را کنترل و بازگرداندن ژنوم والد گیرنده در مناطقی غیر از ژن هدف (انتخاب پس‌زمینه[2]) را سرعت بخشید (Bouchez *et al*., 2002). با توجه به این ویژگی می‌توان از نشانگرهای مولکولی در تجزیه ژنتیکی نتاج هر نسل استفاده کرد و سرعت روند انتخاب را افزایش داد. برای این منظور ابتدا باید به‌نحوی حداکثر نیاز ژنوم والد دوره‌ای به ترمیم مانند حفظ عوامل کیفیت و صفات مطلوب در محصول نهایی گیاه تحت اصلاح تعیین شود. سپس از طریق انتخاب پیش‌زمینه (ژنوتیپ‌یابی در جایگاه ژنی مورد نظر) با استفاده از نشانگر و بدون نیاز به آزمایش‌های فنوتیپی تشخیصی، افراد هتروزیگوت بخشنده/گیرنده در ژن هدف را شناسایی و انتخاب کرد. در صورت قرار گرفتن نشانگر در درون ژن هدف، کنترل کامل خواهد بود ولی به‌دلیل نادر بودن این نوع از نشانگرها و ضرورت استفاده از نشانگرهای مستقیم با نتیجه غیرکامل، لازم است پیوستگی نشانگر به ژن مورد نظر کمتر از یک سانتی‌مورگان باشد، در غیراین‌صورت باید از دو نشانگر با فاصله حدود ۲۰ سانتی‌مورگانی استفاده کرد (Jain *et al*., 2010). حتی اگر نزدیک‌ترین نشانگرهای اطراف QTLها نیز شناسایی شده باشند، به‌علت وقوع نوترکیبی بین نشانگرهای اطراف QTLها، سودمندی و اعتبار نشانگر کاهش می‌یابد که این مشکل با در اختیار داشتن جمعیت‌های بزرگ‌تر و تعداد بیشتر نشانگر مرتفع می‌شود. بنابراین نقشه‌ای با حداقل فاصله کمتر از ۵ سانتی‌مورگان و به‌طور ایده‌آل کمتر از یک سانتی‌مورگان می‌تواند برای MAS به‌کار رود.

ه- تسهیل انتقال ژنی بین گونه‌ها: به کمک MAS می‌توان ارقام را اصلاح و لاین‌های برتر را تولید و انتقال اطلاعات ژنتیکی بین گونه‌ها (اینتروگرسیون) را مدیریت کرد (Xu and Crouch, 2008). از روش تلاقی‌برگشتی به کمک نشانگر (تلاقی‌برگشتی نشانگریار) می‌توان با استفاده از یک خویشاوند وحشی، به‌سادگی گیاه را بر اساس صفت تک‌ژنی (مانند مقاومت به بیماری یا خصوصیت تحمل شوری) اصلاح کرد. در روش اصلاح به روش تلاقی‌برگشتی به کمک نشانگر، از نشانگرها با هدف کنترل ژن هدف (انتخاب پیش‌زمینه)، کنترل پس‌زمینه ژنتیکی (انتخاب پس‌زمینه) و هم‌چنین کنترل فرآیند انتقال به‌واسطه پیوستگی (انتخاب نوترکیب) استفاده می‌شود. این روش در زمانی که غربالگری فنوتیپی گران تمام می‌شود و یا انجام آن مشکل یا غیرممکن است و یا هنگامی‌که وراثت‌پذیری صفت مورد نظر برای انتخاب کم است و یا زمانی که صفت مورد انتخاب خیلی دیر در طول نمو گیاهان بروز پیدا می‌کند (مانند ویژگی‌های میوه و گل و یا صفات بلوغ در گونه‌های دارای دوره نونهالی) می‌تواند به‌خوبی به‌نژادگر را کمک کند. همین‌طور به‌نژادگران از این روش برای انتقال ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها یا آفات که به‌علت نیاز خاص آن‌ها برای بیان ژن به‌راحتی قابل غربالگری نیستند و یا هنگامی‌که بیان ژن هدف مغلوب است استفاده می‌کنند. در برخی از برنامه‌های به‌نژادی از این روش به‌منظور تجمیع ژن‌های مقاومت به بیماری یا QTLهایی از چندین ژنوتیپ در یک زمینه ژنتیکی خاص و یا ترکیب هم‌زمان چند ژن برای یک یا چند صفات در یک رقم (هرم‌سازی ژن‌های مشخص در یک رقم) استفاده کرده‌اند (شکل ۲).

1- Foreground selection
2- Background selection

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]



(Source: http://www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse/Marker_assisted_breeding.htm)

شکل ۲- نمایش شماتیک استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر با هدف هرم‌سازی دو ژن مشخص مقاوم به بیماری در یک رقم.

Figure 2. Schematic diagram of marker assisted selection in order to develop durable disease resistance (pyramiding of two disease resistance) genes.

در این روش امکان انتخاب افراد هموزیگوت از نسل F_2 جمعیت در حال تفرق وجود دارد.

In this method homozygotes can be selected from the F_2 population.

ایجاد چندین رقم گیاه زراعی مختلف به کمک این روش انجام شده است (Wu and Wang, 2011). به‌نژادگران برای ایجاد گیاه تراریخت در صورتی‌که به ژرم‌پلاسم‌های اصلاحی دسترسی نداشته باشند و یا تولید گیاهان تراریخت از طریق کشت سلولی میسر نباشد باید مسیر MAS را طی کنند. در این فرآیند آن‌ها می‌توانند از نشانگرها برای غربال ژنوتیپ‌های نوترکیب نادر ایجادشده از ژن‌های نزدیک به هم استفاده کنند. در اصلاح به روش تلاقی‌برگشتی نشانگریار، معمولاً انتخاب علیه مناطق ناخواسته ژنوم دهنده سخت و با محدودیت[1] بالقوه مواجه است. در روش تلاقی‌برگشتی (BC) اغلب والدین دهنده علاوه بر آلل‌های مربوط به صفت مورد نظر، آلل‌های دیگری نیز به والد دوره‌ای منتقل می‌کنند. در این موارد استفاده از نشانگرها می‌تواند میزان الحاق ژن‌های نامطلوب پیوسته به ژن‌های مطلوب را کاهش دهد. انتخاب به کمک نشانگر (MAS) نیز می‌تواند باعث کاهش تولید ارقام نامطلوب (نسبت به ارقام تولیدشده از طریق تلاقی‌برگشتی بدون استفاده از انتخاب به کمک نشانگر (MAS) شود. این مسئله به‌خصوص وقتی‌که ژن‌های اینتروگرسیونی از گونه‌های وحشی به معنی ورود صفات جدید از ژرم‌پلاسم ناسازگار به داخل لاین‌های اصلاحی[2] مطرح باشند، بسیار مهم است (Brar and Kush, 1997). در زمان استفاده از انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای اینتروگرسیون (ورود ژن‌ها از یک ژنوتیپ به‌عنوان ژنوتیپ دهنده به ژنوتیپ دیگری به‌عنوان ژنوتیپ گیرنده) از طریق روش اصلاحی تلاقی‌برگشتی می‌توان به‌وضوح مزیت‌های استفاده از نشانگرهای مولکولی برای انتخاب غیرمستقیم صفات را مشاهده کرد، در غیراین‌صورت انتخاب با روش‌های استاندارد (مرسوم) سخت خواهد بود. از این طریق می‌توان تعداد تلاقی‌های برگشتی در اینتروگرسیون ژن‌های متحمل به خشکی را کاهش داد. باید توجه داشت که کارایی تلاقی‌برگشتی نشانگریار (MASBC) به عواملی مانند دسترسی به نشانگرهای با پیوستگی بسیار بالا که در نزدیکی ژن مورد نظر قرار دارند، جمعیت تلاقی‌برگشتی، تعداد نشانگرهای پس‌زمینه و موقعیت آن‌ها و اندازه

1- Downside
2- Elite

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

جمعیت در هر نسل BC بستگی دارد (Neeraja *et al.*, 2007).

۱۲- بررسی گیاه تراریخته از نظر بیان ژن مورد نظر

اگر ژن منتقل‌شده در محلی جایگزین شود که عملاً جزء غیرفعال کروموزوم باشد، از آن مکان ژنی رونویسی انجام نمی‌شود. در برخی موارد نیز سیستم‌های کنترل‌کننده سلولی موجب خاموش شدن ژن خاصی می‌شوند و در نتیجه سلول به مبارزه برای بازگشت به حالت قبل تحریک شده تا بتواند از بروز تغییرات در موجود جلوگیری کند. همین‌طور ممکن است در ناحیه پیشبر (ناحیه‌ای در انتهای '۵ ژن که توالی‌های مسئول شروع مناسب رونویسی را در بر دارد) یا محل اتصال ژن به پیشبر در ژنوم موجود مشکلاتی ایجاد شود که این مشکلات موجب ممانعت از انجام رونویسی آن محل شود و یا عمل رونویسی به‌درستی انجام نشود. در همه این موارد می‌توان ابتدا با استفاده از روش PCR و سادرن‌بلات به بررسی گیاه از نظر وجود ژن و نیز تعیین تعداد نسخه‌های موجود از ژن در ژنوم گیاه پرداخت. سپس (در برخی از موارد) از ژن‌های گزارشگر[1] یا نشانگرهای مولکولی همراه با ژن هدف[2] برای تأیید یا عدم تأیید موفقیت‌آمیز بودن انتقال یک ژن به ژنوم و یا جایگزینی درست آن در بخش مورد نظر از ژنوم و این‌که آیا مجموعه ژن انتقال‌یافته بیان شده یا خیر، استفاده کرد.

۱۳- تهیه شناسه‌های مولکولی[3] و درک سازوکارهای مؤثر در تحمل به تنش‌های محیطی

یافتن پیوستگی بین صفت مورد نظر با یک نشانگر به‌عنوان شناسه مولکولی یا نشانمند کردن ژن[4] تعریف می‌شود (Young, 1994). این پیوستگی از بررسی تفرق هم‌زمان[5] صفت و نشانگر به‌دست می‌آید. با استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌توان صفات را نشانمند کرد. برای این منظور باید نقشه‌های کامل پیوستگی ژنتیکی در دسترس باشند تا بتوان به کمک آن‌ها فعالیت‌های مربوط به انتخاب با کمک نشانگر (MAS) را جلو برد و مواد ژنتیکی با کیفیت بالاتر و یکنواختی بیشتر را شناسایی کرد و از آن‌ها برای اهدافی نظیر انتخاب سریع برای آزاد کردن یک رقم جدید به‌کار گرفت. شناسه مولکولی تعداد زیادی از صفات گیاهان زراعی مختلف به‌وسیله انواع مختلف نشانگرهای مولکولی تهیه شده است. برای مثال، می‌توان به شناسایی پیوستگی نشانگرهای بیوشیمیایی و مولکولی DNA با برخی از صفات مهم در گندم (Golabadi *et al.*, 2012a)، گلرنگ (Mirzahashemi *et al.*, 2015)، ذرت، جو، سویا، نخودفرنگی و برنج (Wijerathna, 2015) اشاره کرد که به‌طور وسیع در روش انتخاب به کمک نشانگرها (MAS) استفاده شده است.

۱٤- کاربرد نشانگرهای مولکولی در به‌نژادی گیاهان برای تحمل به تنش‌های محیطی

بهره‌گیری از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های به‌نژادی می‌تواند به‌نژادگر را در مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مؤثر در تحمل به تنش‌ها بدون نیاز به تعیین فنوتیپ کمک کند و ارزیابی‌های مزرعه‌ای را به حداقل برساند (Golabadi *et al.*, 2012a,b). از کاربردهای دیگر نشانگرهای مولکولی پیدا کردن و کشف تنوع ژنتیکی (Jehan *et al.*, 2014) و امکان انتخاب غیرمستقیم بر اساس نشانگر (MAS) تحت شرایط تنش می‌باشد (Collard *et al.*, 2005).

الف- تنش‌های زیستی: نشانگرهای مولکولی به‌وفور در اصلاح و بهبود تحمل به تنش‌های زیستی، شناسایی ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم به بیماری در مراحل اولیه رشد گیاهچه (غربال‌گری سریع بیماری و جلوگیری از کاهش تلفات)، تولید لاین‌های ایزوژنتیک متحمل به بیماری‌های گیاهی و تولید کیت‌های تشخیص بیماری مبتنی بر نشانگرهای DNA استفاده شده است (Torres, 2010). به کمک نشانگرهای DNA پیوسته به ژن هدف، می‌توان آزمون‌های تشخیصی برای تأیید وجود یا عدم وجود صفات مقاومت به بیماری بدون انجام تلقیح پاتوژن در مزرعه یا

1- Reporter or scoreable genes
2- Selectable marker gene
3- Molecular tags
4- Gene tagging
5- Cosegregation

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

گلخانه انجام داد (Dubey *et al.*, 2007). استفاده از نشانگرهای مولکولی کارایی بسیار بالایی در تشخیص اولیه و زودهنگام بیماری‌های مختلف گیاهی و در نتیجه تولید لاین‌های برتر متحمل به بیماری‌های گیاهی دارد (Torres, 2010). علاوه‌بر این، به کمک نشانگرهای مولکولی می‌توان به‌راحتی قبل از وقوع بیماری یا حمله بیوتیپ‌های خاص حشرات، ژن‌های مقاومت به نژادهای خاص را به واریته‌های مورد نظر منتقل کرد.

ب- تنش‌های غیرزیستی: به‌نژادگر به کمک نشانگرهای مولکولی می‌تواند از طریق شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به تنش‌های غیرزیستی، واریته‌های متحمل به این تنش‌ها را ایجاد کند. امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی و آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌های ژرم‌پلاسم[1]، تسهیل مکان‌یابی دقیق ژن یا QTLهای مرتبط با تحمل تنش‌های مختلف از جمله شوری، خشکی و سرما در ژنوتیپ‌های متحمل و تکمیل نقشه‌های پیوستگی (لینکاژی) هر ژنوم، تائید ژن‌های کاندید مسئول صفات کمی، از کاربردهای دیگر نشانگرهای مولکولی در بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی هستند (Gebhardt *et al.*, 2004; Bhau *et al.*, 2016). اطلاعات این نقشه‌ها می‌تواند موجب افزایش کارایی اصلاح و قدرت انتخاب به این تنش‌ها شود (Wang *et al.*, 2011).

توجه به سختی تعریف یا اندازه‌گیری دقیق و واضح صفت تحمل به خشکی، در مقایسه با دیگر تنش‌های غیرزیستی تهیه نقشه‌یابی مولکولی این صفت بسیار مشکل می‌باشد. بنابراین، برای طرح و مدیریت برنامه‌های ارزیابی فنوتیپی تحمل به خشکی باید تلاش مضاعفی صورت گیرد تا احتمال شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی برای اصلاح آتی تحمل گیاه در محیط مورد نظر، حداکثر شود.

١٥-کاربرد نشانگرهای مولکولی در به‌نژادی گیاهان از روش انتخاب ژنومی

اکثر صفات مهم گیاهان مانند عملکرد و تحمل به تنش‌های محیطی، پلی‌ژن بوده و اثر هریک از ژن‌های کنترل‌کننده این صفات بسیار کوچک می‌باشد. عامل کوچک بودن اثر ژن و وجود اثر متقابل ژنوتیپ و محیط مانعی در مقابل انتخاب درست این صفات در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (Golabadi *et al.*, 2011). با توجه به این‌که اساس انتخاب در برنامه‌های اصلاح‌نباتات مرسوم ارزیابی فنوتیپ‌های گیاهان در چند محیط مختلف است، به‌نژادگران با استفاده از برخی روش‌های آماری خاص و آنالیز هم‌زمان اطلاعات ثبت‌شده شجره‌ای یا داده‌های فنوتیپی گیاهان، ارزش‌های ژنتیکی گیاهان را برآورد و سپس از این برآوردها برای انتخاب افراد مطلوب در برنامه‌های اصلاح‌نباتات استفاده می‌کنند. آن‌ها هم‌چنین از اطلاعات مربوط به ارزیابی‌های فنوتیپی در مطالعات پیوستگی استفاده می‌کنند. فرآیند دست‌یابی به اطلاعات درست فنوتیپی برای انجام ارزیابی‌های فنوتیپی بسیار زمان‌بر، پرهزینه و با مشکل همراه است و در اکثر موارد درستی این ارزیابی‌ها نیز به‌دلیل تأثیر محیط بر فنوتیپ گیاهان و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط، مورد تشکیک است. در جمعیت‌های وحشی که از تنوع بسیار بالایی برخوردار هستند، ارزیابی صفات سیار پیچیده است. با این وجود ارزیابی‌های فنوتیپی و پایش صفات تنها بر اساس نتایج حاصل از داده‌های مربوط به اطلاعات شجره‌ای افراد به‌صورت موفقیت‌آمیز در بسیاری از گیاهان به‌دلیل مشاهده نوترکیبی‌ها و تفرق و فاصله بیشتر از حد اولیه در گیاهان تحت مطالعه انجام شده است که مؤید موفقیت‌های کسب‌شده در اصلاح‌نباتات مرسوم است. با این حال علی‌رغم موفقیت‌های ناشی از ارزیابی‌های فنوتیپی در اصلاح‌نباتات مرسوم، این توفیقات نتوانسته است چشم‌انداز روشنی برای دست‌یابی به اهداف اصلاح‌نباتات فراهم آورد، به‌همین دلیل امروزه بسیاری از روش‌های ارزیابی در اصلاح‌نباتات مرسوم به‌وسیله روش‌های جدید جایگزین شده است.

1- Germplasm collection

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

پیشرفت‌های حاصل از کاربرد نشانگرها در گیاهان زراعی، اطلاعات به‌دست‌آمده از تنوع DNA در گیاهان و استفاده گسترده از روش اصلاحی انتخاب به کمک نشانگرها (MAS) به‌عنوان روش مرسوم غلبه بر مشکلات انتخاب مستقیم و غیرمستقیم در گیاهان، بسیار کمتر از حد انتظار بوده است. بنابراین باید اذعان کرد که روش‌های جدید نیز به‌دلیل عدم استفاده از نشانگرهای متراکم توزیع‌شده در کل ژنوم و عدم ارزیابی فنوتیپی کامل و وسیع نتوانسته‌اند به‌نژادگران را در پیش‌بینی دقیق ارزش‌های اصلاحی و برآورد این ارزش‌ها (آن‌گونه که انتظار می‌رود) کمک کنند. دلیل محدود بودن پیشرفت ژنتیکی با استفاده از انتخاب به کمک نشانگرها احتمالاً به آثار کوچک تک ژن‌ها و این‌که نشانگرهایDNA تنها قادرند بخش کوچکی از واریانس ژنتیکی را ردیابی کنند، برمی‌گردد؛ بنابراین لازم است در برنامه اصلاحی از داده‌های بیشتری برای برآورد اثرات داده‌های QTL به‌عنوان اثرات هاپلوتیپ‌ها (میزان تنوع نوکلئوتید) استفاده شود و اصلاح به کمک ژنوم به‌عنوان یک روش یکپارچه و جامع‌نگر که از استراتژی‌های مختلف ژنومی و ابزارهای خاص استفاده می‌کند، به‌کار گرفته شود (Varshney *et al*., 2005). پیش‌بینی فنوتیپ از ژنوتیپ با استفاده از ابزارها و استراتژی‌های مختلف ژنومی، اساس اصلاح به کمک ژنوم می‌باشد. با بهبود دقت و کارایی پیش‌بینی فنوتیپ از ژنوتیپ، ایجاد ارقام اصلاح‌شده با مقاومت یا تحمل به تنش زنده و یا تنش غیرزنده بیشتر و عملکرد زراعی بالاتر می‌تواند خیلی سریع‌تر انجام شود (Varshney *et al*., 2006). با توجه به اینکه مجموعه‌ای از توالی‌های دو به دو جفت‌شده در کنار یکدیگر، توالی ژنوم یک فرد را تشکیل می‌دهد که در آن‌ها اطلاعات ژنتیکی در مجموعه‌ای از جفت کروموزوم‌های فرد نگهداری می‌شوند و از هر جفت یک نماینده به نسل بعد منتقل می‌شود؛ بنابراین به کمک توالی‌یابی کل ژنوم گیاه، توالی‌یابی ترانسکریپتوم و یا توالی‌یابی اگزوم[1] (روشی که در آن تنها نواحی کدکننده ژنوم توالی‌یابی شده و به کمک آن می‌توان جهش‌های نقطه‌ای و حذف و مضاعف‌شدگی‌های کوچک را شناسایی کرد) و دسترسی به داده‌های این توالی‌یابی‌ها، می‌توان نشانگرهای ژنتیکی را ایجاد و توسعه داد و ژن‌های مهم مرتبط با عملکرد و تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را کشف کرد.

در این رابطه انتخاب ژنومی روشی است که به کمک آن به‌نژادگر می‌تواند با انتخاب استراتژی‌های مناسب، ژنوتیپ‌یابی گیاهان را با هزینه کمتر مدیریت کند و از روش‌های ژنوتیپ‌یابی قابل کاربرد در سطح مزرعه استفاده کند (De Los Campos *et al*., 2013). در ژنتیک به ترکیبی از آلل‌های گوناگون ژن‌ها که روی جایگاه‌های مختلف یک کروموزوم در نزدیکی یکدیگر قرار گرفته و با هم به ارث می‌رسند، یک هاپلوتیپ، گفته می‌شود. به‌عبارتی توالی چندریختی تک‌نوکلوئیدی (SNP) روی جفت کروموزوم را ژنوتیپ و روی یک کروموزوم منفرد را هاپلوتیپ می‌نامند (Zarea *et al*., 2013). به کمک روش‌های توالی‌یابی نسل جدید (NGS) می‌توان ساختار ژنتیکی و رفتار ژنوم گیاهی را مطالعه و جایگاه‌های هتروزیگوت را شناسایی کرد. اگر ژنوم یک گیاه را به‌صورت نواحی پیوسته و متمایز از یکدیگر در نظر گرفته شود، درون هر یک از این نواحی (که به‌عنوان بلوک‌های هاپلوتیپی شناخته می‌شوند) می‌توان تنوع هاپلوتیپ‌ها را مشاهده کرد که در طی نسل‌های متوالی بدون تغییر باقی می‌ماند و حفظ می‌شود (Mohammadi-Nejad *et al*., 2008).

وقتی بر اساس مکان‌یابی QTLها مشخص شد که ژن‌های تأثیرگذار در کنترل صفتی در ناحیه مشخصی از کروموزوم‌ها قرار دارند، به کمک نشانگرهای ریزماهواره (SSR) و بررسی فنوتیپی هاپلوتیپ والد دهنده در جمعیت (مطابقت دادن توالی‌های ریزماهواره در آن ناحیه با هاپلوتیپ والد دهنده در جمعیت)، می‌توان هاپلوتیپ دارای بیان بهتر از صفت دلخواه را مشخص کرد و از این طریق بهترین و مؤثرترین ترکیب آللی ناحیه QTL مورد نظر (که برای انتخاب به کمک نشانگر لازم است) را تعیین کرد

1- Exome

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

(Huang *et al*., 2013). هم‌چنین از روی مشاهده عدم تطابق هاپلوتیپ‌های دارای فنوتیپ مطلوب با والد دهنده QTL، می‌توان به وجود مکان‌های ژنی جدید برای صفت مورد نظر در این ذخایر ژنتیکی پی برد. معمولاً به‌نژادگران به کمک نشانگرهای فوق و با استفاده از یک جمعیت تصادفی از افراد مختلف تنوع هاپلوتیپی ناحیه مورد نظر را با مکان‌یابی دقیق ناحیه مورد نظر در محدوده‌ای کمتر از پنج سانتی‌مورگان (در محدوده بزرگ‌تر از پنج سانتی‌مورگان فراوانی کراسینگ‌اور افزایش یافته و احتمال شکستن پیوستگی بین ژن‌های (QTL) مربوط و نشانگر بیشتر می‌شود) و تهیه تمامی نشانگرهای ریزماهواره برای آن ناحیه (از بانک‌های اطلاعاتی)، آن‌ها را در جامعه آزمون نموده تا بدین طریق ترکیب آللی برتر نشانگرهای مرتبط با جایگاه QTL کنترل‌کننده صفت تعیین شود (Mohammadi-Nejad *et al*., 2008).

انتخاب ژنومی درواقع نوعی انتخاب به کمک نشانگر است که اساس آن استفاده از عدم تعادل پیوستگی یا انحراف از تعادل به‌دلیل پیوستگی بین دو مکان ژن با QTL به کمک نشانگر می‌باشد. عدم تعادل پیوستگی در نتیجه پیوستگی زیاد بین دو ژن (آلل) ایجاد می‌شود که به معنی ارتباط غیرتصادفی آلل‌ها یا ژن‌ها در دو یا چند مکان‌ژنی و یا همبستگی بین آلل‌ها در جایگاه‌های مختلف در یک جمعیت می‌باشد. عوامل مختلفی شامل انتخاب، رانش ژنی، ساختار جمعیت، مهاجرت، جهش و نرخ نوترکیبی عدم تعادل پیوستگی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بر اساس برآورد میزان عدم تعادل پیوستگی (LD[1]) ایجاد شده بین دو مکان (مکان ژن مورد نظر و نشانگرهای مجاور) که بین صفر تا یک متغیر است می‌توان مکان ژنی صفت کمی (QTL) را در ژنوم شناسایی کرد. این ابزار جدید از نشانگرهای مولکولی تمام ژنوم (نشانگرهای با تراکم بالا و ژنوتیپ‌یابی با بازدهی بالا) به‌گونه‌ای استفاده می‌کند که همه جایگاه‌های صفات کمی (QTL) با حداقل یک نشانگر در حالت عدم تعادل پیوستگی را پوشش دهد. میزان موفقیت استفاده از این نشانگرها در مطالعات پویش ژنومی و شناسایی معماری صفات مختلف به‌میزان عدم تعادل پیوستگی (LD) و توصیف ساختارهای بلوک‌های هاپلوتیپی در سطح ژنوم بستگی دارد که ممکن است در جمعیت‌های مختلف متفاوت باشد. عدم تعادل پیوستگی به‌وفور در مطالعات مکان‌یابی ارتباطی استفاده می‌شود.

دسترسی به صدها جایگاه چندشکلی نشانگرهای تک نوکلئوتیدی SNP در طول ژنوم گیاهان مختلف و تعیین ژنوتیپ آن‌ها و دیگر نشانگرهای متراکم در ژنوم چشم‌انداز جدیدی را در برنامه‌های اصلاح‌نباتات فراهم کرده است و امکان استفاده از اطلاعات نشانگری ژنوم در پیش‌بینی ارزش‌های اصلاحی کل برای انجام انتخاب ژنومی را فراهم کرده است (Crossa *et al*., 2017). درواقع، نمونه‌های موفق از اصلاح به کمک ژنوم برای چند غله مهم (Varshney *et al*., 2006; Varshney *et al*., 2007) گزارش شده است.

چشم‌انداز کلی

با استفاده از نشانگرهای DNA تلاش زیادی در اصلاح گیاهان زراعی بالاخص در ترسیم نقشه ژن‌های اصلی در گیاهان، تولید لاین‌های نسبتاً ایزوژنیک و ایجاد جمعیت‌های لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL[2])، همسانه‌سازی ژن‌های اصلی، نقشه‌برداری با وضوح بسیار بالا (Faris *et al*., 2000) و جستجو برای ژن هدف در کلون‌های ژنومی، مرتب‌سازی آلل‌ها، تجزیه و تحلیل تنوع مولکولی و اندازه‌گیری جریان ژنی انجام شده است. با این وجود، ناموفق بودن برخی از تلاش‌ها می‌تواند بخشی از آن به‌دلیل پیچیدگی ژنتیکی بیش از حد صفات مهم اقتصادی باشد. با این حال، بزرگ‌ترین محدودیت استفاده

1- Linkage disequilibrium
2- Recombinant inbred lines

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

از نشانگرهای DNA در اصلاح گیاهان زراعی، هزینه و کاربرد پیچیده استفاده از این نشانگرها است. به‌نژادگران به کمک نشانگرها قادرند طی یک فصل رشد هزاران گیاه را غربال‌گری کنند و بهترین آن‌ها را طی چند هفته برای برنامه‌های بعدی اصلاح انتخاب کنند. توسعه سریع روش‌های استخراج DNA، امکان استفاده از نشانگرهای بسیار پلی‌مورفیک میکروساتلایت، امکان انجام تجزیه‌های پیچیده چندگانه (که می‌تواند مکان ژنی نشانگر را در کمتر از یک هفته ارزیابی کند) و استفاده از برنامه‌های نرم‌افزاری کامپیوتر برای تجزیه سریع داده‌های ورودی را فراهم کرده است و موجب شده است توان استفاده از نشانگرهای DNA در اصلاح گیاهان افزایش یابد (Cheema *et al*., 2010).

References

Aghaee-Sarbarzeh, M., Singh, H. and Dhaliwal, H.S. (2001). A microsatellite marker linked to leaf rust resistance transferred from Aegilops triuncialis into hexaploid wheat. *Plant Breeding*, **120:** 259-261.

Amom, T. and Nongdam, P. (2017). The use of molecular marker methods in plants: a review. *International Journal of Current Research and Review*, **9:** 1-7.

Avise, J.C. (2012). *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Springer Science & Business Media, Berlin, DE.

Babiker, E., Yen, Y., Stein, J. (2009). Identification of a microsatellite marker associated with Stem rust resistance gene *Sr35* in wheat. *Australian Journal of Crop Science*, **34:** 1835-1850.

Barclay, A. (2004). *Feral Play: Crop Scientists Use Wide Crosses to Breed into Cultivated Rice Varieties the Hardiness of their Wild*. Rice Today, IRRI, Los Banos, PH.

Barzan, Z., Dehdari, M. and Amiri Fahliani, R. (2015). Study of genetic diversity in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes using microsatellite markers. *Agricultural Biotechnology Journal*, **7(1):** 29-42.

Bernardo, R. and Charcosset, A. (2006). Usefulness of gene information in marker-assisted recurrent selection: a simulation appraisal. *Crop Science*, **46:** 614-621.

Bernardo, R. and Yu, J. (2007). Prospects for genome-wide selection for quantitative traits in maize. *Crop Science*, **47:** 1082-1090.

Bhau, B.S., Sharma, D.K., Bora, M., Gosh, S., Puri, S., Borah, B., Kumar, D.G. and Wann, S.B. (2016). *Molecular markers and Crop Improvement*: *Abiotic Stress Response in Plants*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA-Weinheim, DE.

Bindler, G., Van Der Hoeven, R., Gunduz, I., Plieske, J., Ganal, M., Rossi, L., Gadani, F. and Donini, P. (2007). A microsatellite marker based linkage map of tobacco. *Theoretical and Applied Genetics*, **114(2):** 341-349.

Bisht, S.S. and Panda, A.K. (2014). *DNA Sequencing: Methods and Applications*. *Advances in Biotechnology*, Springer, New Delhi, Delhi, IND.

Bouchez, A., Hospital, F., Causse, M., Gallais, A., Charcosset, A. (2002). Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. *Genetics*, **162:** 1945-1959.

Brachi, B., Morris, G.P. and Borevitz, J.O. (2011). Genome-wide association studies in plants: the missing heritability is in the field. *Genome Biology*, **12(10):** 232-238.

Brar, D. and Kush, G. (1997). Alien introgression in Rice. *Plant Molecular Biology*, **35:** 35-47.

Prescott-Allen, C. and Prescott-Allen, R. (1988). *Genes from the Wild: Using Wild Genetic Resources for Food and Raw Materials*. Routledge, Taylor & Francis, London, UK.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Brar, D.S. and Dhaliwal, H.S. (1997). Molecular Markers and their Application in Crop Improvement. In: Bajwa, M.S., Dhillon, J.S., Dilawari, V.K. and Chahal S.S., Eds., *Proceedigs of the 3rd Agricultural Science Congress. Invited Papers*, pp. 175-192. National Academy of Agricultural Sciences, New Delhi, IND.

Byrne, M., Murrell, J.C., Owen, J.V., Kriedemann, P., Williams, E.R. and Moran, G.F. (1997). Identification and mode of action of quantitative trait loci affecting seedling height and leaf area in *Eucalytpus nitens*. *Theoretical and Applied Genetics*, **94:** 674-681.

Castro, A.J., Capettini, F.L.A.V.I.O., Corey, A.E., Filichkina, T., Hayes, P.M., Kleinhofs, A.N.D.R.I.S., Kudrna, D., Richardson, K., Sandoval-Islas, S., Rossi, C. and Vivar, H. (2003). Mapping and pyramiding of qualitative and quantitative resistance to stripe rust in barley. *Theoretical and Appllied Genetics*, **107:** 922-930.

Cheema, J., Ellis, T.H. and Dicks, J. (2010). THREaD mapper studio: a novel, visual web server for the estimation of genetic linkage maps. *Nucleic Acids Research*, **38:** 188-193.

Coe, E.H., Hoisington, D.A. and Neuffer, M.G. (1987). Linkage Map of Corn (maize) (*Zea mays* L.). In: O'Brien, S.J., Ed. *Genetic Maps. A Compilation of Linkage and Restriction Maps of Genetically Studied Organisms*, Vol. 4, pp. 685-707. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, USA.

Collard, B.C.Y. and Mackill, D. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **363:** 557-572.

Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B. and Pang, E.C.K. (2005). An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basis concepts. *Euphytica*, **142:** 169-196.

Comings, D.E. and MacMurray, J.P. (2000). Molecular heterosis: A review. *Molecular Genetics and Metabolism*, **71(1):** 19-31.

Crossa, J., Pérez-Rodríguez, P., Cuevas, J., Montesinos-López, O., Jarquín, D., De Los Campos, G., Burgueño, J., González-Camacho, J.M., Pérez-Elizalde, S., Beyene, Y., Dreisigacker, S., Singh, R., Zhang, X., Gowda, M., Roorkiwal, M., Rutkoski, J. and Varshney, R.K. (2017). Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. *Trends in Plant Science*, **22(11):** 961-975.

Davar, R., Darvishzadeh, R., Rezaee Danesh, Y., Kholghi, M., Azizi, M. and Shah, D.A. (2012). Single sequence repeat markers associated with partial resistance in sunflower to Phoma macdonaldii. *Phytopathologia Mediterranea*, **51(3):** 541-548.

De Los Campos, G., Hickey, J.M., Pong Wong, R., Daetwyler, H.D. and Calus, M.P. (2013). Whole genome regression and prediction methods applied to plant and animal breeding. *Genetics*, **93:** 327-345.

Devos, K.M. and Gale, M.D. (1997). Comparative genetics in the grasses. *Plant Molecular Biology*, **35:** 3-15.

Dubey, S.C., Suresh, M. and Singh, B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *Ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, **40:** 118-127.

Ebrahimi, M.A. and Zienalabedini, M. (2013). Application of genomic and unigene-based microsatellite markers in conservation and management of genetic resources of some Iranian crops. *Crop Biotechnology*, **4:** 133-148 (In Persian).

Emebiri, L., Michael, P., Moody, D.B., Ogbonnaya, F.C. and Black, C. (2009). Pyramiding QTLs to improve malting quality in barley: gains in phenotype and genetic diversity. *Molecular Breeding*, **23:** 219-228.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Ersoz, E.S., Yu, J. and Buckler, E.S. (2007). Applications of Linkage Disequilibrium and Association Mapping in Crop Plants. In: Varshney, R.K. and Tuberosa, R.T., Eds., *Genomics Assisted Crop Improvement: Genomics Approaches and Platforms*. pp. 97-120. Springer, Dordrecht, NL.

Falque, M. and Santoni, S. (2007). Molecular Markers and High-Throughput Genotyping Analysis. In: Morot-Gaudry J.F., Lea P. and Briat, J.F., Eds., *Functional Plant Genomics*. pp. 503-527. Taylor & Francis Group, LLC, London, UK.

Faris, J.D., Haen, K.M. and Gill, B.S. (2000). Saturation mapping of a gene-rich recombination hot spot region in wheat. *Genetics*, **154:** 823-835.

Fatokun, C.A., Menancio-Hautea, D.I., Danesh, D. and Young, N.D. (1992). Evidence for orthologous seed weight genes in cowpea and mung bean based on RFLP mapping, *Genetics*, **132:** 841-846.

Freeling, M. (2001). Grasses as a single genetic system. Reassessment 2001. *Plant Physiology*, **125:** 1191-1197.

Gale, M.D. and Devos, K.M. (1998). Comparative genetics in the grasses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95:** 1971-1974.

Garrido-Cardenas, J.A., Mesa-Valle, C. and Manzano-Agugliaro, F. (2018). Trends in plant research using molecular markers. *Planta*, **247(3):** 543-557.

Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P. and Schuler, K. (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, **13:** 93-102.

Golabadi, M., Arzani, A. and Mirmohammadi Maibody, S.A.M. (2012a). Identification of microsatellite markers associated with grain protein content in durum wheat grown under drought stress at terminal growth stages *Cereal Research Communications*, **40(2):** 215-224.

Golabadi, M., Arzani, A., Mirmohammadi Maibody, S.A.M., Sayed Tabatabaei, B.E. and Mohammadi, S.A. (2011). Identification of microsatellite markers linked with yield components under drought stress at terminal growth stages in durum wheat. *Euphytica*, **177:** 207-221.

Golabadi, M., Arzani, A., Mirmohammadi Maibody, S.A.M. (2012b). 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).

Golkar, P. and Nourbakhsh, V. (2019). Analysis of genetic diversity and population structure in *Nigella sativa* L. using agronomic traits and molecular markers (SRAP and SCoT). *Industrial Crops and Products*, **130:** 170-178.

Golkar, P. and Mokhtari, N. (2018). Molecular diversity assessment of a world collection of safflower genotypes by SRAP and SCoT molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **24(6):** 1261-1271.

Golkar, P., Arzani, A. and Rezaei, A.M. (2011). Genetic variation in safflower (*Carthamus tinctorious* L.) for seed quality-related traits and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *International Journal of Molecular Sciences*, **12:** 2664-2677.

Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*, **2015:** 1-14.

Hackett, C.A. (2002). Statistical methods for QTL mapping in cereals. *Plant Molecular Biology*, **48 (5-6):** 585-599.

Hashemi-Petroudi, S.H., Mirmohammadi-Maibody, S.A.M., Arzani, A. and Nematzadeh, G.H. (2011a). Genetic purity testing of rice hybrid seeds using microsatellite markers. *Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, **93:** 84-92 (In Persian).

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Hashemi-Petroudi, S.H., Mirmohammadi-Maibody, S.A.M., Nematzadeh, G.H. and Arzani, A. (2011b). Identification of rice hybrids using microsatellite and RAPD markers. *African Journal of Biotechnology*, **8(10):** 2094-2101.

Hashemi-Petroudi, S.H., Mirmohammadi-Maibody, S.A.M., Nematzadeh, G.H. and Arzani, A. (2010). Semi-random PCR markers for DNA fingerprinting of rice hybrids and theirs corresponding parents. *African Journal of Biotechnology*, **9(7):** 979-985.

Herzog, E. and Frisch, M. (2011). Selection strategies for marker-assisted backcrossing with high-throughput marker systems. *Theoretical and Appllied Genetics*, **123:** 251-260.

Honig, J.A., Averello, V., Bonos, S.A. and Meyer, W.A. (2012). Classification of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars and accessions based on microsatellite (simple sequence tepeat) markers. *Horticultural Science*, **47:** 1356-1366.

Holland, J.B. (2007). Genetic architecture of complex traits in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**: 156-161.

Hosseini, S.Z., Ismaili, A., Nazarian Firouzabadi, F., Fallahi, H. and Rezaeinejad, A. (2018). Development of EST-SSR microsattelite markers related to drought tolerance in lentile (*lens culinaris*). *Crop Biotechnology*, **23:** 43-57 (In Persian).

Huang, Y., Millett, B.P., Beaubien, K.A., Dahl, S.K., Steffenson, B.J., Smith, K.P. and Muehlbauer, G.J. (2013) Haplotype diversity and population structure in cultivated and wild barley evaluated for Fusarium head blight responses. *Theoretical and Applied Genetics*, **126(3):** 619-36.

Jain, S.M., Brar, D.S. and Ahloowalia, B.S. (2010). Molecular Techniques in Crop Improvement. Springer, New York, USA.

Jansen, R.C. and Nap, J.P. (2001). Genetical genomics: the added value from segregation. *Trends in Genetics*, **17:** 388-391.

Jehan, T., Vashishtha, A., Yadav, S.R. and Lakhanpaul, S. (2014). Genetic diversity and genetic relationships in Hyacinthaceae in India using RAPD and SRAP markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **20(1):** 103-114.

Jena, K.K. and Mackill, D.J. (2008). Molecular markers and their use in marker-assisted selection in Rice. *Crop Science*, **48:** 1266-1276.

Johnson, R. (2004). Marker-assisted selection. *Plant Breeding Review*, **24:** 293-309.

Jonah, P.M., Bello, L.L., Lucky, O., Midau, A. and Moruppa, S.M. (2011). The importance of molecular markers in plant breeding programmes. *Global Journal of Science Frontier Research*, **11(5):** 4-12.

Kilian, A., Kudrna, D.A., Kleinhofs, A., Yano, M., Karata, N., Steffenson, B. and Sasaki, T. (1995). Rice-barley synteny and its application to saturation mapping of the barley Rpg1 region. *Nucleic Asids Research*, **23:** 2729-2733.

Knapp, S.J. (1998). Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. *Crop Science*, **38:** 1164-1174.

Kraakman, A.T.W., Martínez, F., Mussiraliev, B., Van Eeuwijk, F.A. and Niks, R.E. (2006). Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding*, **17(1):** 41-58.

Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R. and Pandey, B.K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics Journal*, **2(4):** 141-162.

Ma, C., Fu, T., Bengtsson, L., Gertsson, B., Dayteg, C. and Tuvesson, S. (2003). Genetic diversity of Chinese and Swedish *Brassica napus* cultivars based on Inter-SSR PCR markers and its relationship to hybrid performance. *Journal of Swedish Seed Association*, **2:** 67-77.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

McCouch, S.R., Kochert, G., Yu, Z.H., Wang, Z.Y., Khush, G.S., Coffman, W.R. and Tanksley, S.D. (1988). Molecular mapping of rice chromosomes *Theoretical and Applied Genetics*, **76:** 815-829.

Melchinger A.E., Winter, M., Mi, X., Piephob, H.P., Schippracka, W. and Mirditaa, V. (2015). Controlling misclassification rates in identification of haploid seeds from induction crosses in maize with high-oil inducers. *Crop Science*, **55(3):** 1076-1086.

Melchinger, A.E. and Gumber, R.K. (1998). Overview of Heterosis and Heterotic Groups in Agronomic Crops, In: Lamkey, K.R. and Staub J.E., Eds., *Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants*. pp. 29-44. Crop Science Society of America, Madison, WI.

Metzker, M.L. (2010) Sequencing technologies-the next generation. *Nature Reviews Genetics*, **11(1):** 31-46.

Meyer, L., Causse, R., Pernin, F., Scalone, R., Bailly, G., Chauvel, B., Délye, C. and Le Corre, V. (2017). New gSSR and EST-SSR markers reveal high genetic diversity in the invasive plant *Ambrosia artemisiifolia* L., can be transferred to other invasive *Ambrosia* species. *Public Library of Science* (*PloS One*), **12:** e0176197.

Mirmohammady Maibody, S.A.M. (2008). *Principles and Fundamentals of Plant Breeding*. Isfahn University of Technology Publiction centre, Isfahan, IR.

Mirzahashemi, M., Mohammadi-Nejad, G. and Golkar, P. (2015). A QTL linkage map of safflower for yield under drought stress at reproductive stage. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, **4(2):** 20-27.

Mohammadi-Nejad, G., Arzani, A., Rezai, A.M., Singh, R.K. and Gregorio, G.B. (2008). Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. *African Journal of. Biotechnology*, **7(6):** 730-736.

Mohan, M., Nair, S., Bhagwat, A., Krishna, T.G., Yano, M., Bhatia, C.R. and Sasaki, T. (1997). Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*, **3:** 87-103.

Nadeem, M.Z., Nawaz, M.N., Shahid, M.Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., Hatipoğlu, R., Ahmad, F., Alsaleh, A., Labhane, N.O., Zkan, H., Chung, G. and Baloch, F.S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **32(2):** 261-285.

Nandakumar, N., Singh, A.K., Sharma, R.K., Mohapatra, T., Prabhu, K.V. and Zaman, F.U. (2004). Molecular fingerprinting of hybrids and assessment of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers. *Euphytica*, **136:** 257-264.

Neeraja, C.N., Rodriguez, R.M., Pamplona, A., Heuer, S., Collard, B.C.Y., Steptingsih, E.M., Vergara, G., Sanchez, D., Xu, K., Ismail, A.M. and Mackill, D.J. (2007). A marker-assisted backcross approach for developing submergence tolerant rice cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, **115(6):** 767-776.

Paterson, A.H. (1996). Making Genetic Maps. In: Paterson, A.H., Ed., *Genome, Genome mapping, in Plants*, pp. 23-39. TX: R G Landes Company, Austin, Texas, USA.

Pereira, M.G., Lee, M., Bramel-Cox, P., Woodman, W., Doebley, J., Whitkus, R. (1994). Construction of an RFLP map in sorghum and comparative mapping in maize. *Genome*, **37:** 236-243.

Platten, J.D., Cobb, J.N. and Zantua, R.E. (2019). Criteria for evaluating molecular markers: comprehensive quality metrics to improve marker-assisted selection. *PLoS One*. **14(1):** e0210529.

Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J.P. and Hyvonen, J. (2013). Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods*, **9(1):** 6.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Qi, L.L., Echalier, B., Chao, S., Lazo, G.R., Butler, G.E., Anderson, O.D., Akhunov, E.D., Dvorák, J., Linkiewicz, A.M., Ratnasiri, A., Dubcovsky, J., Bermudez-Kandianis, C.E., Greene, R.A., Kantety, R., La Rota, C.M., Munkvold, J.D., Sorrells, S.F., Sorrells, M.E., Dilbirligi, M., Sidhu, D., Erayman, M., Randhawa, H.S., Sandhu, D., Bondareva, S.N., Gill, K.S., Mahmoud, A.A., Ma, X.F., Miftahudin, Gustafson, J.P., Conley, E.J., Nduati, V., Gonzalez-Hernandez, J.L., Anderson, J.A., Peng, J.H., Lapitan, N.L., Hossain, K.G., Kalavacharla, V., Kianian, S.F., Pathan, M.S., Zhang, D.S., Nguyen, H.T., Choi, D.W., Fenton, R.D., Close, T.J., McGuire, P.E., Qualset, C.O. and Gill, B.S. (2004). A chromosome bin map of 16,000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. *Genetics*, **168:** 701-712.

Raggi, L., Bitocchi, E., Russi, L., Marconi, G., Sharbel, T.F., Veronesi, F. and Albertini, E. (2015). Understanding genetic diversity and population structure of a Poa pratensis worldwide collection through morphological, *Nuclear and Chloroplast Diversity Analysis*. *Public Library of Science* (*PLoS One*), **10:** e0124709.

Rajib, R., Abdelmoumen, T., Hakeem, K.R., Mohamed, R.A.G. and Tah, J. (2013). Molecular Marker-Assisted Technologies for Crop Improvement. In: Roychowdhury, R., Ed., *Crop Improvement in the Era of Climate Change*, pp. 241-258. International Publication House, Pvt. Ltd; Delhi, IND.

Rao, V.R. and Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **68(1):** 1-19.

Reddy, M.P., Sarla, N. and Siddiq, E.A. (2002). Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, **128 (1):** 9-17.

Ren, N. and Timko, M.P. (2001). AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. *Genome*, **44(4):** 559-571.

Ribaut, J.M. and Betrán, J. (1999). Single large-scale marker-assisted selection (SLS-MAS). *Molecular Breeding*, **5(6):** 531-541.

Ripamonti, C., Orenstein, A., Kutty, G., Huang, L., Schuhegger, R. and Sing, A. (2009). Restriction fragment length polymorphism typing demonstrates substantial diversity among *Pneumocystis jirovecii* isolates. *The Journal of Infectious Diseases*, **200(10):** 1616-22.

Roychowdhury, R. and Tah, J. (2013). Mutagenesis A Potential Approach for Crop Improvement. In: Hakeem, K.R., Ahmad, P. and Ozturk, M., Eds., *Crop Improvement: New Approaches and Modern Techniques*, pp. 149-187. Springer, New York, USA.

Samiei, K., Arzani, A. and Mirmohammadi Maibody, S.A.M. (2008). Genetic diversity of Persian clover populations using semi-random markers. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, **12(45):** 157-164 (In Persian).

Schena, M. (1998) Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics. *Trends in Biotechnology*, **16:** 301-306.

Schuster, S.C. (2007). Next-generation sequencing transforms today's biology. *Nature Methods*, **5(1):** 16.

Sehgal, D., Singh, R. and Rajpal, V.R. (2016). Quantitative Trait Loci Mapping in Plants: Concepts and Approaches. In: Rajpal, V., Rao S. and Raina, S., Eds., *Molecular Breeding for Sustainable Crop Improvement*, pp. 31-59. Springer International, New York, USA.

Shahid, M.Q., Chen, F.Y., Li, H.Y., Wang, S.Z., Chen, P.F., Lin, S.Q., Liu, X.D. and Lu, Y.G. (2013). Double-neutral genes, and, for pollen fertility in rice to overcome Indica × Japonica hybrid sterility. *Crop Science*, **53(1):** 164-176.

Sharma, K.D., Winter, P., Kahl, G. and Muehlbauer, F.J. (2004). Molecular mapping of *Fusarium oxysporum* f.sp. Ciceris race 3 resistance gene in chickpea. *Theoretical and Appllied Genetics*, **108:** 1243-1248.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Tang, F., Tao, Y., Zhao, T. and Wang G. (2006). *In vitro* production of haploid and doubled haploid plants from pollinated ovaries of maize (*Zea mays*). *Plant Cell Tissue Organ Culture,* **84 (2):** 233-237.

Tanksley, S.D. and McCouch, S.R. (1997). Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild, *Science*, **277:** 1063-1066.

Tanksley, S.D. and Nelson, J.C. (1996). Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theoretical and Applied Genetics*, **92:** 191-203.

Thornsberry, J.M., Goodman, M.M. Doebley, J., Kresovich, S., Nielsen, D. and Buckler, E.S. (2001). Dwarf polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nature Genetics*, **28(3):** 286-289.

Till, B.J., Comai, L. and Henikoff, S. (2007). TILLING and EcoTILLING for Crop Improvement. In: Varshney, R.K. and Tuberosa, R., Eds., *Genomic Assisted Crop Improvement: Genomics Approaches and Platforms*, pp. 333-349. Springer, New York, USA.

Torres, A.M. (2010). Application of Molecular Markers for Breeding Disease Resistant Varieties in Crop Plants. In: Mohan, J.S. and Brar, D.S., Eds., *Molecular Techniques in Crop Improvement*, pp. 185-205. Springer, Dordrecht, NL.

Torres, A.M., Avila, C.M., Gutierrez, N., Palomino, C., Moreno, M.T. and Cubero, J.I. (2010). Marker assisted selection in fababean (*Vicia faba* L.). *Field Crop Research*, **115:** 243-252.

Van Os, H., Andrzejewski, S., Bakker, E., Barrena, I., Bryan, G.J., Caromel, B., Ghareeb, B., Isidore, E., De Jong, W., Van Koert, P., Lefebvre, V., Milbourne, D., Ritter, E., Van der Voort, J.N.A.M.R., Rousselle-Bourgeois, F., Van Vliet, J., Waugh, R., Visser, R.G.F., Bakker, J. and Van Eck, H.J. (2006). Construction of a 10,000 marker ultra-dense genetic recombination map of potato: providing a framework for accelerated gene isolation and a genomewide physical map. *Genetics*, **173:** 1075-1087.

Varshney, R.K. and Dubey, A. (2009). Novel genomic tools and modern genetic and breeding approaches for crop Improvement. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, **18(2):** 127-138.

Varshney, R.K., Hoisington, D.A. and Tyagi, A.K. (2006). Advances in cereal genomics and applications in crop breeding. *Trends in Biotechnology*, **24:** 490-499.

Varshney, R.K., Langridge, P. and Graner, A. (2007). Application of genomics for molecular breeding of wheat and barley. *Advances in* Genetics, **58:** 122-155.

Varshney, R.K., Graner, A. and Sorrells, M.E. (2005). Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant Science*, **10:** 621-630.

Wang, H., Zhang, X., Yang, H., Liu, X., Li, H., Yuan, L., Li, W., Fu, Z., Tang, J. and Kang, D. (2016). Identification of heterotic loci associated with grain yield and its components using two CSSL test populations in maize. *Scientific Reports*, **6:** 38205.

Wang, Y., Cai, Q., Xie, H., Wu, F., Lian, L., He, W., Chen, L., Xie, H. and Zhang, J. (2018). Determination of heterotic groups and heterosis analysis of yield performance in indica Rice. *Rice Science*, **25(5):** 261-269.

Wang, Z.F., Wang, J.F., Bao, Y.M., Wu, Y.Y. and Zhang H.S. (2011). Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. *Euphytica*, **178:** 297-307.

White, R. and Lalouel, J.M. (1988). Chromosome mapping with DNA markers. *Scientific American*, **258(2):** 40-49.

Wijerathna, Y.M.A.M. (2015). Marker assisted selection: biotechnology tool for rice molecular breeding. *Advances in Crop Science and Technology*, **3(4):** 187-190.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]
[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Wu, L. and Wang, C. (2011). Application of molecular marker assisted selection in gene pyramiding and selection of new cultivars. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, **18(1):** 79-84.

Wu, W.R. and Li, W.M. (1996). Joint mapping of quantitative trait loci using F_2 populations. *Theoretical and Applied Genetics*, **93**: 1156-1160.

Xing, L.I., Hailong, Y.U., Zhiyuan, L.I., Xiaoping, L.I.U., Zhiyuan, F.A.N.G., Yumei, L.I.U., Limei, Y.A.N.G., Mu, Z.H.U.A.N.G., Honghao, L.V. and Yangyong, Z.H.A.N. (2018). Heterotic group classification of 63 inbred lines and hybrid purity identification by using SSR markers in winter cabbage (*Brassica Oleracea* L. var. capitata). *Horticultural Plant Journal*, **4(4):** 158-164.

Xu, Y. (2010). *Molecular Plant Breeding*. Cabi Publishing. Wallingford, Oxfordshire, Cambridge, UK.

Xu, Y. and Crouch, J.H. (2008). Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Science*, **48(2):** 391-407.

Yashitola, J., Thirumurugan, T., Sundaram, R.M., Naseerullah, M.K., Ramesha, M.S., Sarma, N.P. and Sonti, R.V. (2002). Assessment of purity of rice hybrids using microsatellite and STS markers. *Crop Science*, **42:** 1369-1373.

Young, N.D. (1994). Constructing a Plant Genetic Linkage Map with DNA Markers. In: Ronald, L. and PhillipsIndra, K.V., Eds., *DNA-Based Markers in Plants*, pp. 31-47. Springer, Berlin, DE.

Zarea, R., Mohammadi-Nejad, G. and Shahsavand-Hassani, H. (2013). Allelic variation of containing markers in responsible QTL for salinity tolerance (Saltol) at seedling stage in Iranian rice cultivars. *Journal of Agricultural Biotechnology*, **5:** 1-14 (In Persian).

Zeinalabedini, M., Nakhoda, B., Majidian, P., Khosh Kholgh Sima, N.A. and Mortazavi, E. (2011). Biodiversity, genetic engineering and sustainable development. *Journal of Biosafety*, **4(1):** 53-72.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]

[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

Application of DNA Molecular Markers in Plant Breeding (Review Article)

Seyed Ali Mohammad MirMohammadi Maibody[1,*] and Pooran Golkar[2]

1- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Research Institute for Biotechnology and Bioengineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

(Received: February 27, 2019 – Accepted: May 26, 2019)

Abstract

Plant breeding has utilized a wide range of techniques and methods to improve the quality and quantity of plants. The molecular markers are the tools that have provided a new perspective for plant breeding advancements. This article has reviewed the various advantages and uses of molecular markers and the utilization of the high potential of natural polymorphisms within communities, combined with the abilities of conventional plant breeding methods. The marker attributes are not subjected to environmental influences, and their high frequency number and high structural diversity are as part of their benefits in identifying identities, determining the genetic diversity of species and studying relationship between populations. They may aid in discovering more information about protecting and maintaining genetic stock collections, identifying varieties, determining genes with chromosomal location and the number of genes controlling traits. Genome sequencing, the preparation of physical and genetic maps and genomic fingerprinting of plants are some of the other applications of this tool in plant breeding. The high efficiency of selection with the help of markers in selection of genotypes has been emphasized as the parent of crosses and selection with the help of a marker in breeding programs and genomic selection. New technologies offer new opportunities to shape genetic variation in the improvement of specific plant breeding programs. Nowadays, development of next-generation sequencing technology, genome sequencing and high throughput approaches for markers have facilitated EST-derived simple sequence repeat (EST-SSR) marker development as well as single nucleotide polymorphism (SNP) marker. These markers can be successfully employed in accelerating research and plant breeding programs.

Keywords: Selection, Breeding, Genetic variation, Molecular marker

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1398.6.1.3.3]

[DOI: 10.29252/pgr.6.1.1]

* **Corresponding Author, E-mail: maibody@cc.iut.ac.ir**