شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده غلظت و محتوای آهن در بخش هوایی جو با استفاده از جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو (Sahara3771 × Clipper)

شیوا قیطران پورسهریق[۱]، سید ابوالقاسم محمدی[۲،*] و بهزاد صادق‌زاده[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز
۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز
۳- استادیار، موسسه تحقیقات دیم کشور، مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۸ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲٤)

چکیده

آهن یکی از عناصر ضروری و کم مصرف برای اکثر گیاهان می‌باشد که نقش مهمی در تثبیت ازت و فعالیت برخی از آنزیم‌ها مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز دارد. به‌منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با میزان و غلظت آهن در قسمت هوایی جو طی مراحل پنج برگی و رسیدگی کامل، ۱٤۸ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper در شرایط گلخانه‌ای ارزیابی و صفات غلظت و محتوای آهن در مراحل پنج برگی و رسیدگی کامل اندازه‌گیری شد. برای تجزیه QTL از نقشه پیوستگی مشتمل بر ۲٦ نشانگر رتروترانسپوزونی IRAP و REMAP، ۲٤٦ نشانگر SSR و EST-SSR، ۲۳۸ نشانگر RFLP و یک نشانگر مورفولوژیک استفاده شد. از نظر کلیه صفات، تفاوت معنی‌دار بین لاین‌ها مشاهده گردید و وجود تفکیک متجاوز برای تمامی صفات نشان‌دهنده وجود ترکیبات آللی والدینی تکمیل‌کننده در نتاج بود. در مجموع، ۵۱۱ نشانگر در هفت گروه پیوستگی ۱۰۹۹/۰۹ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را با متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر ۲/۳۷ سانتی‌مورگان پوشش دادند. برای غلظت آهن هشت و چهار، محتوای آهن تک بوته شش و سه QTL به‌ترتیب در مراحل پنج برگی و رسیدگی کامل شناسایی شدند. اثر افزایشی منفی اغلب QTLهای شناسایی شده برای غلظت و محتوای آهن تک بوته نشان‌دهنده نقش آلل‌های والد Sahara3771 در افزایش تجمع آهن در نتاج بود. یک ناحیه ژنومی مشترک برای QTLهای صفات غلظت و محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی کامل شناسایی گردید که ممکن است ناشی از پیوسته بودن QTLها یا اثر پلیوتروپیک آن‌ها باشد.

واژگان کلیدی: اثر پلیوتروپیک، تجمع آهن، جو، لاین‌های هاپلوئید مضاعف، پیوستگی ژنی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **mohammadi@tabrizu.ac.ir**

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

مقدمه

جو یکی از مهم‌ترین و قدیمی‌ترین گیاهان زراعی می‌باشد که به‌علت سازگاری وسیع اکولوژیکی، تحمل شرایط نامساعد محیطی و تطابق با محیط، در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شود (Martin *et al*., 1976). جو از نظر تولید ماده خشک رتبه پنجم را پس از ذرت، گندم، برنج و سویا دارد. براساس آمارهای سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد (فائو) طی سال‌های ۲۰۱۱-۱۹۹۵، متوسط سطح زیر کشت گیاه جو در جهان ۵۷/۸ میلیون هکتار با عملکردی بالغ بر ۱۴۱/۸ میلیون تن و متوسط ۲/۴۹ تن در هکتار و در ایران متوسط سطح زیر کشت ۱/۵۵ میلیون هکتار با عملکرد ۲/۷ میلیون تن در سال و متوسط ۱/۷۴ تن در هکتار بود (FAO, 2012).

آهن چهارمین عنصر فراوان بعد از اکسیژن، سیلیس و آلومینیوم در پوسته زمین است (Becker and Asch, 2005). با وجود اینکه این عنصر فراوان‌ترین عنصر کم مصرف در پوسته زمین است، اما بیش‌ترین محدودیت را برای تولیدات گیاهی در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک ایجاد می‌کند. قلیایی بودن، کمبود ماده آلی، آبیاری سنگین، تراکم خاک و نیز تهویه ضعیف خاک از عوامل کمبود آهن قابل دسترس در خاک‌های آهکی است (Fageria *et al*., 2002).

آمارهای جهانی نشان می‌دهند که حدود ۳۰ درصد از خاک‌های تحت کشت غلات در جهان از نظر آهن قابل دسترس مشکل دارند. مصرف یکنواخت و زیاد غلات با محتوای پائین عناصر کم مصرف از دلایل عمده گسترش جهانی کمبود آهن در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (Cakmak, 2002). هر چند که استفاده از کودهای آهن‌دار به‌عنوان راه‌حلی برای برطرف کردن مشکل کمبود آهن و نیز افزایش تولید گیاهان زراعی پیشنهاد می‌شود، ولی گرانی قیمت این کودها، مشکلات زیست‌محیطی و تخریب منابع سبب شده است که شناسایی و تولید ژنوتیپ‌هایی با کارایی بالای جذب آهن به‌عنوان یکی از اهداف اصلاحی گیاهان در راستای برطرف کردن این مشکل در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گیرد. گام اول در تولید ژنوتیپ‌های مطلوب، شناسایی و مکان‌یابی نواحی ژنومی دخیل در جذب آهن و نشانگرهای پیوسته با آن‌ها جهت استفاده در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر است (Yu and Rengel, 1991).

در رابطه با مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده تجمع آهن در جو گزارشی ارائه نشده است ولی گزارش‌های محدودی در سایر گیاهان وجود دارد که به چند مورد اشاره می‌گردد. نورتن و همکاران (Norton *et al*., 2010) در برنج، با استفاده از نقشه پیوستگی مشتمل بر ۱٦٤ نشانگر و ۷۹ لاین اینبرد نوترکیب، حاصل از تلاقی ارقام Bala (رقم هندی) و Azucena (رقم ژاپنی) QTLهایی را برای ۱۷ عنصر در برگ و دانه شناسایی کردند. آن‌ها در مجموع، ۳٦ QTL در برگ و ٤۱ QTL در دانه و در ۱۲ گروه پیوستگی برنج برای این عناصر مکان‌یابی کردند که برخی QTLها در برگ و دانه مشترک بود. براساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، برای غلظت آهن در برگ سه QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ٦ به‌ترتیب با تبیین فنوتیپی ۱۲/٤، ۱۰/٦ و ۱۰/٤ درصد شناسایی گردید. گارسیا الیویرا و همکاران (Garciaoliveria *et al*., 2009) با استفاده از روش تجزیه تک نشانگری در ۸۵ لاین اینترگرسیون برنج حاصل از تلاقی یک رقم الیت (*Oryza sativa spp. Indica*) با یک گونه وحشی (*O. rufipogon Griff*)، یک QTL بزرگ اثر در کروموزوم ۲ و یک QTL کوچک اثر در کروموزوم ۹ برای محتوای آهن مکان‌یابی کردند. جنک و همکاران (Genc *et al*., 2009)، در جمعیت هاپلوئید مضاعف گندم حاصل از تلاقی ارقام Cascades و RAC8752، یک QTL برای هر کدام از صفات غلظت آهن در بخش هوایی و دانه و وزن دانه در کروموزوم ۳D شناسایی کردند.

با توجه به اهمیت جو به‌عنوان یک گیاه زراعی مهم در تغذیه انسان، صنایع مالت‌سازی و نیز تغذیه دام و طیور اهداف مطالعه حاضر عبارت بودند از:

- اشباع نقشه پیوستگی موجود جمعیت

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

- مکان‌یابی QTLهای مرتبط با غلظت و محتوای آهن در بخش هوایی جو طی مراحل رشد رویشی، رسیدگی کامل و تعیین اثر افزایشی و سهم هر QTL در تبیین تغییرات فنوتیپی
- معرفی نشانگرهای مناسب برای استفاده در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی

مواد گیاهی شامل ۱۴۸ لاین هاپلوئید مضاعف جو، حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771 بود که از دانشگاه استرالیای غربی دریافت گردید. رقم Sahara3771 بومی زمستانه، کارایی جذب آهن بالا، شش ردیفه، پابلند و مقاوم به شوری است. رقم Clipper بهاره، کارایی جذب آهن پائین، اصلاح شده در استرالیا، دو ردیفه و حساس به شوری است.

ارزیابی فنوتیپی تحت شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای ارزیابی فنوتیپی، افراد جمعیت به همراه والدین در گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰ × ۷ × ۷ سانتی‌متر و حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک شنی با pH = ٦/١، ۱/۲ درصد مواد آلی، ۳/۳ میلی‌گرم فسفر در کیلوگرم خاک، ۰/۰٤ میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک و ۱/۵ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک کشت شدند. تا رسیدگی کامل مواد غذایی لازم شامل KH_2PO_4 = ۹، K_2SO_4 = ١٤٥، $CaCl_2.2H_2O$ = ١٤٧، ۲۱ = $MgSO_4.7H_2O$، ۲ = $CuSO_4.5H_2O$، ۱۵ = $MnSO_4.H_2O$، H_3BO_3 = ۰/۷، $Na_2MoO_4.2H_2O$ = ۰/۲، $ZnSO_4.7H_2O$ = ۰/۸ به همراه NH_4NO_3 = ۹۳ (میلی‌گرم در کیلوگرم) به خاک اضافه گردید. ازت مورد نیاز گیاهان نیز هر دو هفته یک‌بار به همراه آبیاری تأمین شد. بعد از جوانه‌زنی کامل در مرحله دو برگی، تعداد بوته‌ها در هر گلدان به هفت بوته تقلیل یافت. به‌منظور کاهش تأثیر میکروکلیمای داخل گلخانه، محل گلدان‌ها هر روز به‌صورت تصادفی تغییر داده شد. آبیاری هر روز تا سقف ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای انجام و نیاز آبی با وزن کردن گلدان‌ها با آب دیونیزه تأمین گردید.

برای اندازه‌گیری غلظت آهن در مرحله پنج برگی (قبل از ظهور سنبله)، تعداد چهار بوته از هر گلدان برداشت و پس از شستشو با آب دیونیزه و سپس با آب دو بار دیونیزه شده، در آون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد. بعد از وزن کردن، نمونه‌ها پودر شدند و ۰/۵ گرم از هر نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره به مدت ١٤ ساعت به خاکستر تبدیل شد. خاکستر حاصل از هر ژنوتیپ در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک (۳۰٪ v/v) به مدت ۳۰ دقیقه حل گردید. محلول حاصل بعد از ته‌نشینی مواد ریز معلق (بعد از یک روز) توسط دستگاه ICP-MS برای تعیین میزان عناصر قرائت شد. اندازه‌گیری غلظت آهن در مرحله رسیدگی کامل روی سه بوته، پس از جداسازی سنبله‌ها، مانند مرحله پنج برگی صورت گرفت. محتوای آهن نیز از حاصل‌ضرب وزن خشک تک بوته در غلظت آهن محاسبه شد (Sadeghzadeh, 2008)

ارزیابی ژنوتیپی

استخراج DNA به روش CTAB (Saghai-Maroof *et al.*, 1984) انجام و کمیت و کیفیت نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین گردید و در نهایت نمونه‌های DNA، به غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رقیق و در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شدند.

برای تکثیر نشانگرهای رتروترانسپوزنی IRAP و REMAP، چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ٩٤° C، ۳۵– ۳۰ چرخه با واسرشت‌سازی در دمای ٩٤° C به‌مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها به‌مدت یک دقیقه در دمای اختصاصی آن‌ها و بسط در دمای ۷۲ °C به‌مدت ۲ دقیقه و در نهایت یک چرخه به‌مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ °C بود. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از الکتروفورز

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

ژل پلی‌اکریلامید ٤ درصد در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ (شرکت Corbett Robotics) صورت گرفت. برای اضافه کردن نشانگرهای رتروترانسپوزنی به نقشه موجود جمعیت، قبل از تجزیه پیوستگی، آزمون انحراف از نسبت مندلی ۱:۱ برای نشانگرها با استفاده از نرم‌افزار MapDisto 1.7 (Lorieux, 2012) انجام شد. نقشه پیوستگی نشانگرها با استفاده از برنامه JoinMap 4 (Van-Ooijen, 2006) با فرض LOD ≥ ۳ و حداکثر فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر ۵۰ سانتی مورگان تهیه و نشانگرهایی که دارای انحراف تفرق از نسبت مدنظر بودند از تجزیه پیوستگی حذف شدند. تجزیه QTL براساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و با استفاده از برنامه QTL Charthographer (Wang *et al.*, 2005) انجام گردید. برای QTLهای شناسایی شده اثر افزایشی، درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت محاسبه شد

نتایج و بحث

توزیع فنوتیپی صفات مورد مطالعه در جمعیت

توزیع فنوتیپی صفات مورد مطالعه در شکل ۱ آورده شده است. دامنه غلظت آهن در مرحله پنج برگی، از ۱۱۷ تا ۳٤۹ میلی‌گرم در کیلوگرم با میانگین ۱۸٤/٤٦ در جمعیت متغیر بود. میانگین این صفت در Clipper، ۱۹۷/۳۳ و در Sahara3771، ۱٤٤/٦٦ میلی‌گرم در کیلوگرم بود که نشان‌دهنده میانگین بالای والد Clipper نسبت به Sahara3771 و میانگین جمعیت است (۵۲ = LSD.۰٫۰۵). محدوده محتوای آهن تک بوته در مرحله پنج برگی از ۳۰/٦۷ تا ۸۵ میکروگرم با میانگین ٤۹/۵۲ در جمعیت متغیر بود. در رقم Sahara3771 محتوای آهن برابر با ٤۵/٦٦ و در رقم Clipper برابر با ۳۹/۳۳ میکروگرم بود. اختلاف دو والد از نظر محتوای آهن تک بوته در مرحله پنج برگی غیرمعنی‌دار بود (۱۳/۵۳ = LSD.۰٫۰۵). نورتن و همکاران (Norton *et al.*, 2010) در جمعیتی متشکل از ۷۹ لاین اینبرد نوترکیب، غلظت آهن در برگ برنج را در والد Azucena، ۲۹۵ و در Bala، ۵٦۸ و میانگین کل را ۳۹۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش کردند.

مقادیر غلظت آهن در مرحله رسیدگی، برای لاین‌های هاپلوئید مضاعف از ۵۵ تا ۱۲۸/۷ با میانگین جمعیت ۸۰/۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم در نوسان بود و والدین Sahara3771 و Clipper، به‌ترتیب با ۸۹ و ٦٦ میلی‌گرم در کیلوگرم دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بودند (۲۰/۱۸ = LSD.۰٫۰۵).

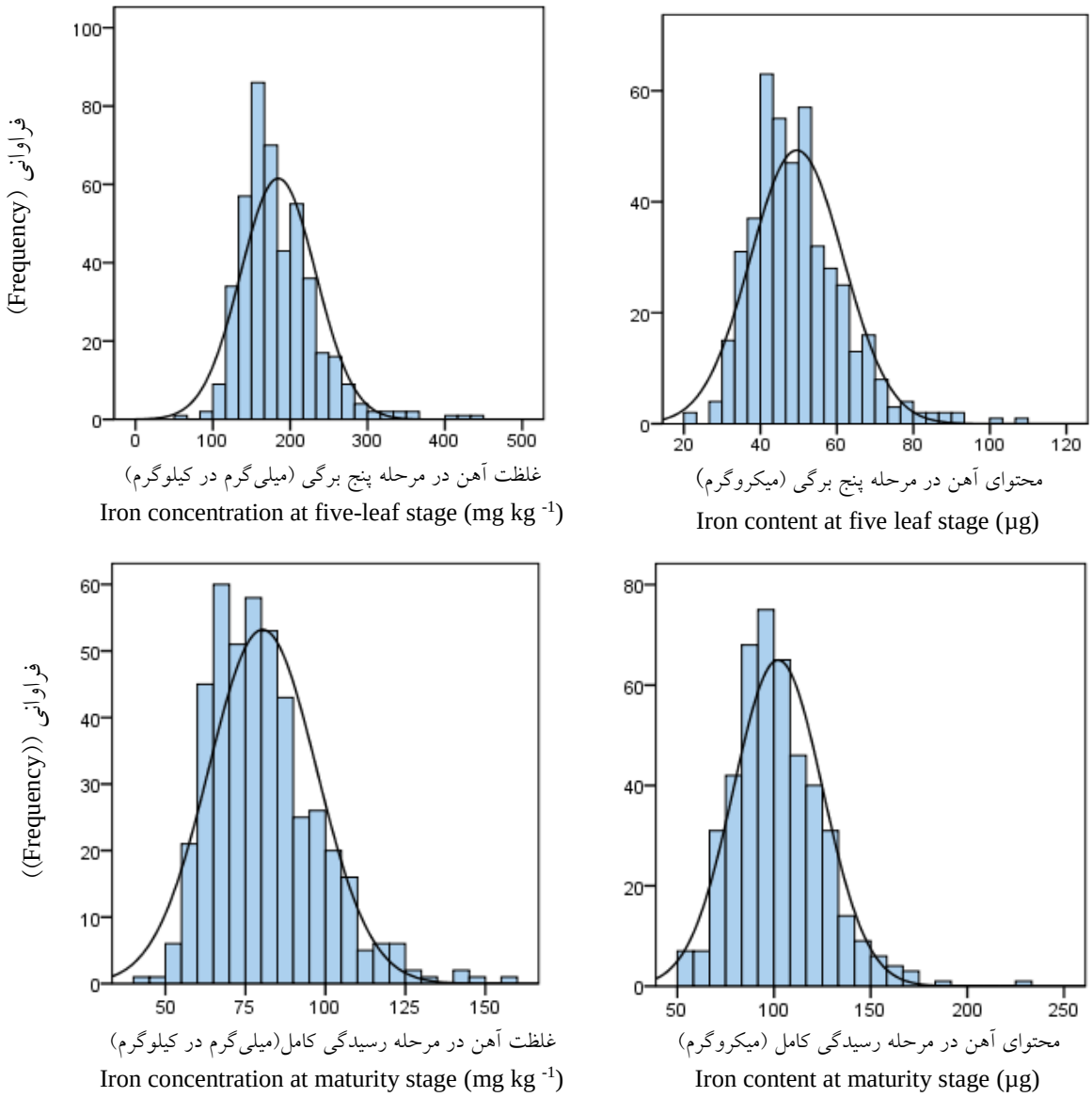
محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی دارای دامنه ۵۸/٦۷ تا ۱٦۳ میکروگرم بود. میانگین این صفت در جمعیت ۱۰۲/۱۰، در Clipper، ۸۲/٦٦ و در Sahara3771، ۹۷/۳۳ به‌دست آمد و اختلاف بین میانگین دو والد غیرمعنی‌دار بود (۲۵/٦ = LSD.۰٫۰۵).

وجود لاین‌های خارج از حوزه والدین، نشانگر تفکیک متجاوز در جمعیت برای کلیه صفات مورد مطالعه بود. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت آهن در مرحله پنج برگی اندام‌های هوایی بیشتر از میزان آن در مرحله رسیدگی کامل است. به احتمال زیاد گیاه بعد از جذب آهن در مراحل اولیه رویشی قسمتی از آن را در مراحل نهایی رسیدگی به بذر منتقل می‌کند و این امر باعث می‌شود غلظت Fe در مرحله پنج برگی اندام‌های هوایی بیشتر از میزان آن در مرحله رسیدگی اندام‌های هوایی باشد.

تجزیه پیوستگی و QTL

با استفاده از آغازگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزن‌های جو، در مجموع ۹۵ نشانگر الگوی نواری چند شکل بین والدین و نیز در جمعیت نشان دادند. تجزیه انحراف از نسبت مندلی ۱:۱ برای جمعیت هاپلوئید مضاعف نشان داد که فقط ۳٦ نشانگر مشتمل بر ۱۲ تا IRAP و ۲٤ تا REMAP از نسبت مندلی ۱:۱ تبعیت کردند. براساس تجزیه پیوستگی، ۲٦ نشانگر رتروترانسپوزونی به نقشه پیوستگی موجود جمعیت مشتمل بر ۲٤٦ نشانگر SSR و EST-SSR، ۲۳۸ نشانگر RFLP و یک نشانگر مورفولوژیک (دو ردیفه و شش ردیفه بودن) (Ebadi, 2013) در هفت گروه پیوستگی استفاده گردید. نقشه حاصل، ۱۰۹۹/۰۹ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را با متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر ۲/۳۷ سانتی‌مورگان

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]



شکل ۱- توزیع فنوتیپی صفات مورد مطالعه در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper

Figure. 1. Phenotypic distribution of plant characteristics in barley double haploid lines derived from the Clipper and Sahara 3771 cross

پوشش دادند. هر یک از گروه‌های پیوستگی با یکی از کروموزوم‌های ژنوم جو مطابقت داشت و طول نقشه کروموزوم‌ها بین ۱۵۷/۲۱ (کروموزوم ۲) تا ۲۸۰/۶۹ (کروموزوم ۷) سانتی مورگان متغیر بود (شکل ۲). با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، هشت QTL برای غلظت آهن در مرحله پنج برگی در کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H، 5H، 6H و 7H با مجموع تبیین فنوتیپی ۷۸/۰۹ درصد شناسایی شد. QTL واقع‌بین نشانگرهای cdo1395-Scssr4056 در کروموزوم 7H، یک QTL با تبیین ۲۸/۵۹ درصد از واریانس فنوتیپی صفت دارای اثر افزایشی منفی بود که نشان‌دهنده توارث آلل مطلوب در این مکان از والد Sahara 3771 به نتاج می‌باشد. از هشت QTL مکان‌یابی شده برای غلظت آهن در مرحله پنج برگی، شش QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که این نقش آلل‌های والد Sahara 3771 را در افزایش غلظت آهن در مرحله پنج‌برگی را نشان می‌دهد (جدول ۱). نورتن و همکاران (Norton *et al.*, 2010) در برنج با استفاده از لاین‌های اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی ارقام Bala و Azucena برای غلظت آهن در برگ سه QTL در کروموزوم‌های ۱، ۳ و ٦ مکان‌یابی کردند که

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

جدول ۱- جایگاه، فاصله از نشانگر سمت چپ، کروموزوم، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مرتبط با صفات گیاهی جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو

Table 1. Locus, distance from the left marker, chromosome, LOD, additive effect and percentage of phenotypic variance determination of QTLs related to plant characteristics in barley double haploid lines population

صفت Trait	نشانگرهای مجاور Flanking markers	فاصله از نشانگر چپ(cM) Distance from the left marker	کروموزوم Chromosome	LOD	اثر افزایشی Additive effect	اثرQTL (%) QTL effect (%)
غلظت آهن در مرحله پنج برگی Iron concentration at five-leaf stage	ISSR2/Sukkula- Psr 162	7.20	1	8.28	-14.87	12.94
	X7SGLOB-abc261	0.31	1	6.14	-12.73	9.00
	abc 165-bcd 292	3.39	2	9.14	-15.65	14.56
	HvPEPDIPR- GBM 1285	0.005	3	3.32	-8.51	4.00
	Bcd808b-GBM1363	0.03	5	3.16	-9.28	5.00
	Bmag0509-Bmac0303	1.65	5	3.98	9.88	5.00
	GBMS180-Bmag0496	0.97	6	12.26	5.38	8.00
	cdo1395-scssr4056	0.08	7	16.81	-22.88	28.59
محتوای آهن در مرحله پنج برگی Iron content at five-leaf stage	Psr 162-abc 257	1.49	1	3.38	-2.43	5.00
	bcd 292- cdo 678 (a)	2.86	2	5.42	-3.07	9.00
	abc 164-Bmag 0323	0.11	5	3.96	2.67	6.00
	Tam10- EBmac0674	1.34	6	6.80	3.61	11.69
	HvGSL6- cdo 1395	0.22	7	13.85	-5.43	26.95
	EBmac0755-HVM49	12.46	7	6.42	-4.25	16.45
غلظت آهن در مرحله رسیدگی کامل Iron concentration at maturity stage	X7SGLOB-abc 261	0.30	1	5.09	-3.68	7.00
	abc152f-HvCSLC1	9.20	1	4.71	-3.52	6.00
	Bmac0218 (a)-KsuF15	2.93	2	13.87	-6.45	22.00
	Scald- EBmac0655	5.71	7	9.10	-4.94	13.00
محتوای آهن در مرحله رسیدگی کامل Iron content at maturity stage	EBmac0404-HVM20	0.11	1	4.97	-6.97	13.00
	Bmag0872-cdo473	1.84	1	4.75	-7.75	15.00
	Scald –EBmac0655	5.71	7	3.80	-5.79	9.00

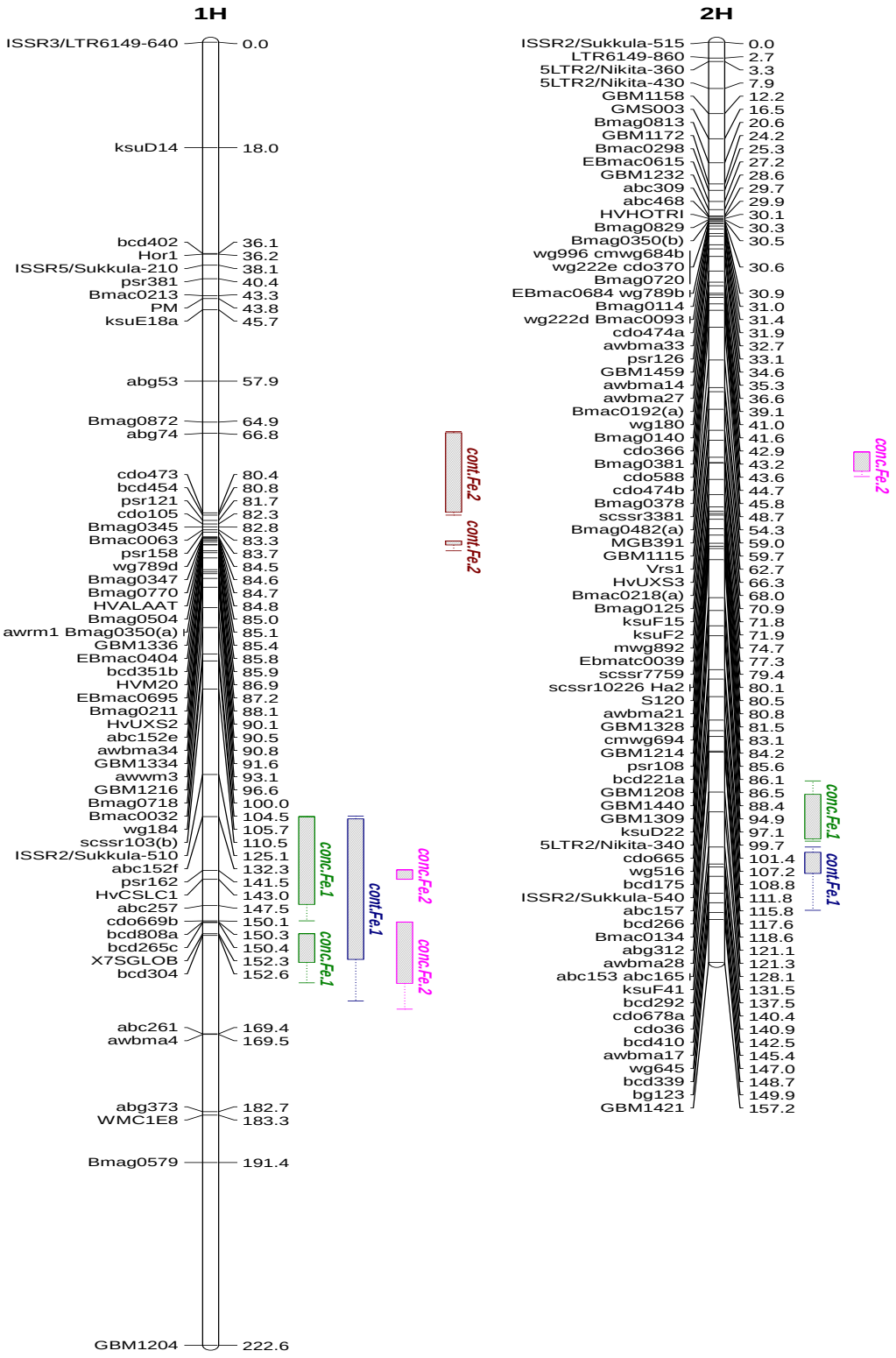
به‌ترتیب پیوسته به نشانگرهای R2417، RG409 و RZ516 بودند.

برای محتوای آهن تک بوته در مرحله پنج برگی، شش QTL در کروموزوم‌های 1H، 2H، 5H، 6H و 7H مکان‌یابی گردید. این QTLها در مجموع ۷٤/۰۹ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را تبیین کردند. QTL واقع‌بین نشانگرهای HvGSL6-cdo 1395 در کروموزوم 7H، با ۲۹/۹۵ درصد تبیین واریانس فنوتیپی بیشترین اثر را در بین QTLها داشت (جدول ۱). شیمیز و همکاران (Shimizu *et al*., 2005) با استفاده از نشانگر AFLP در جمعیت F_3 و F_8 حاصل از تلاقی رقم ژاپنی Gimbozu و رقم هندی Kasalath یک QTL در کروموزوم ۳ برای محتوای آهن برگ در برنج شناسایی کردند. بلینت و همکاران (Balint *et al.*, 2007) بیان کردند که در سطوح مختلف مس، در گندم برای محتوای آهن در بخش هوایی یک QTL در ناحیه سانترومری کروموزوم 3B وجود دارد.

چهار QTL برای غلظت آهن در مرحله رسیدگی شناسایی شد که در مجموع ٤٨ درصد از تغییرات صفت را تبیین کردند. هر چهار QTL شناسایی شده دارای اثر افزایشی منفی بود که بیانگر توارث آلل افزاینده از والد Sahara 3771 به نتاج می‌باشد (جدول ۱).

برای محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی، سه QTL مکان‌یابی شد که در کروموزوم‌های 1H و 7H قرار داشتند و در مجموع ۳۷ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را تبیین کردند. هر سه QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که نشان می‌دهند آلل‌های والد Sahara3771 در این جایگاه‌ها نقش بیشتری در افزایش محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی در مقایسه با آلل‌های والد Clipper داشتند (جدول ۱).

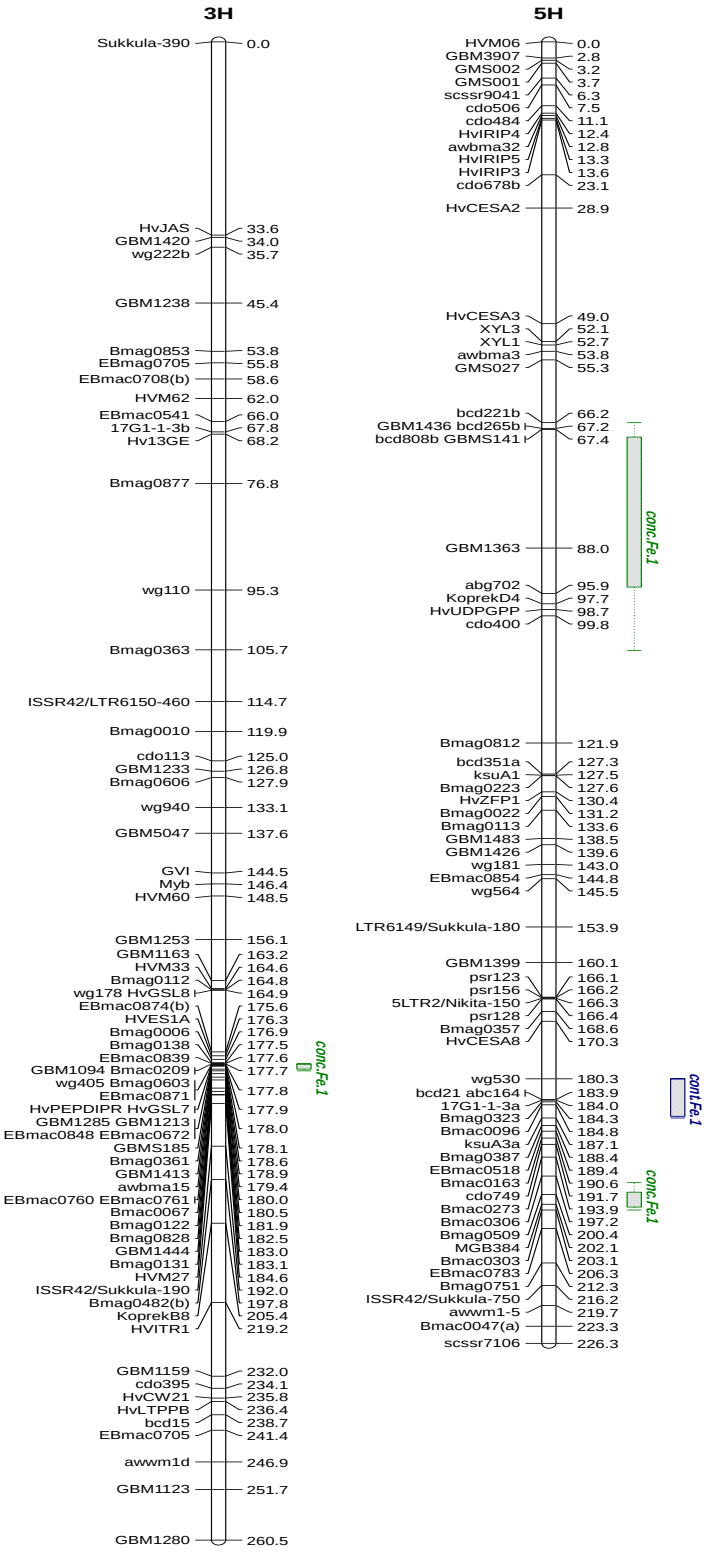
[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]



شکل ۲- مکان کروموزومی QTLهای شناسایی شده برای صفات گیاهی در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771؛ Conc. Fe1: غلظت آهن در مرحله پنج برگی؛ Cont. Fe1: محتوای آهن تک بوته در مرحله پنج برگی؛ Conc. Fe2: غلظت آهن در مرحله رسیدگی کامل؛ Cont. Fe2: محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی کامل

Figure 2. Chromosomal location of the QTLs identified for plant characteristics in barley double haploid lines population derived from a cross between Clipper and Sahara3771 cultivars; Conc. Fe1: Iron concentration at five-leaf stage; Cont. Fe1: Iron content (plant^{-1}) at maturity stage; Conc. Fe2: Iron concentration at maturity stage; Iron content (plant^{-1}) at maturity stage

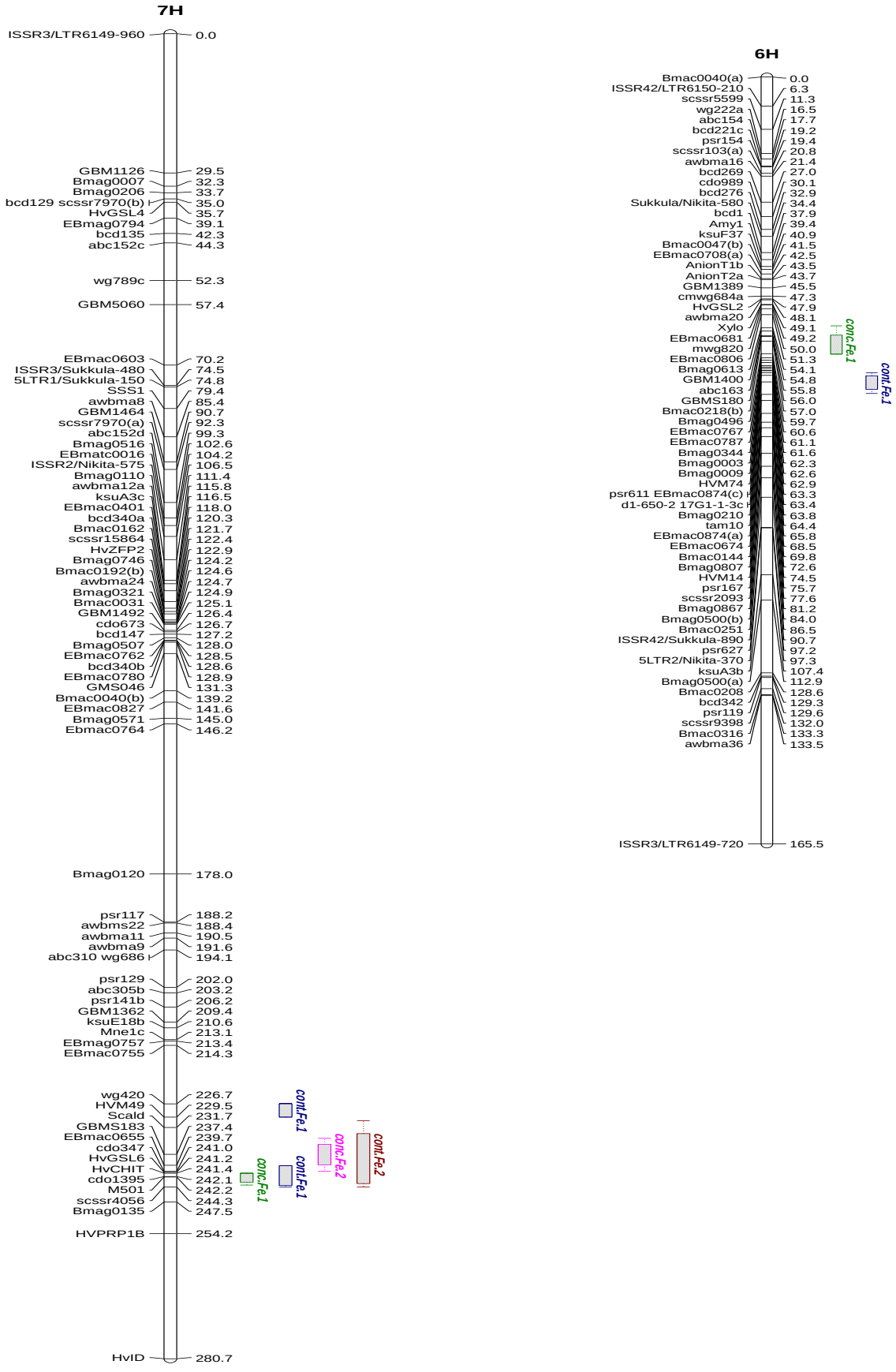
[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]



ادامه شکل ۲

Figure 2 Continued

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]



ادامه شکل ۲

Figure 2 Continued

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

QTLهای مشترک برای صفات مورد مطالعه

در مجموع، ۲۱ عدد QTL برای صفات مورد مطالعه شناسایی شد که مکان کروموزومی برخی از این QTLها مشترک بود. این امر احتمالاً به‌دلیل پیوستگی ژنتیکی و یا اثر پلیوتروپیک ژنی است. ناحیه بین نشانگرهای Scald-EBmac0655 این ناحیه واقع در کروموزوم 7H، QTLهای غلظت و محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی کامل مکان‌یابی شدند.

وجود تفکیک متجاوز برای کلیه صفات مورد مطالعه نشان‌دهنده ترکیب آلل‌های مطلوب والدین در نتاج بود که می‌تواند برای اهداف اصلاحی بعدی و یا گزینش ژنوتیپ‌های برتر استفاده شود. شناسایی QTLهایی با اثرات افزایشی مثبت و منفی، بیانگر انتقال آلل‌های مطلوب در این جایگاه از هر دو والد به نتاج بود که والدین حاضر می‌توانند در برنامه‌های اصلاح جو ایران جهت افزایش کارایی جذب آهن، استفاده شوند. برخی از QTLهای شناسایی شده با تبیین درصد بالاتری از تغییرات فنوتیپی صفات مورد مطالعه به‌عنوان QTL بزرگ اثر شناخته شدند که نشانگرهای پیوسته با این QTLها می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی به کمک نشانگر جهت گزینش لاین‌های برتر و انتقال آلل‌های مطلوب استفاده گردند.

References

Balint, A.F., Roder, M.S., Hell, R., Galiba, G. and Borner, A. (2007). Mapping of QTLs affecting copper tolerance and the Cu, Fe, Mn and Zn contents in the shoots of wheat seedlings, *Biologia Plantarum*, **51**: 129-134.

Becker, M. and Asch, F. (2005). Iron toxicity in rice condition and management concepts. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **168**: 558-573.

Cakmak, I. (2002). Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustaina sustainable ways. *Plant and Soil*, **247**: 3-24.

Ebadi, A. (2013). *Construction of barley doubled haploid population microsatellite linkage map and identification of genetic regions associated with agronomic traits and some micronutrients accumulation*. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran (In Persian).

Fageria, N.K., Baligar, V.C. and Clark, R.B. (2002). Micronutrients in crop production. *Advances in Agronomy*, **77**: 185-268.

FAO. (2012). FAO Statistical Database（FAOSTAT), Web site at URL: http://www.faostat.fao.org. Accessed 09 June 2012.

Garciaoliveria, A.L., Tan, L., Yongcai, F.M. and Sun, C.H. (2009). Genetic identification of quantitative trait loci for contents of mineral nutrients in rice grain. *Journal of Integrative Plant Biology*, **51**: 84-92.

Genc, Y., Verbyla, A.P., Torun, A.A., Cakmak, I., Willsmore, K., Wallwork, H. and McDonald, G.K. (2009). Quantitative trait loci analysis of zinc efficiency and grain zinc concentration in wheat using whole genome average interval mapping. *Plant and Soil*, **314:** 49-66.

Lorieux, M. (2012). MapDisto: fast and efficiency computation of genetic linkage map. *Molecular Breeding*, **30**: 1231-1235.

Martin, J.H., Leonard, W.H. and Stamp, D.L. (1976). *Principles of Field Crop Production*, 3th edn, Collier Macmillan, Toronto, Canada.

Norton, G.J., Deacan, C.M., Xiong, L., Huang, S.H., Meharg, A.A. and Price, A.H. (2010). Genetic mapping of rice ionome in leaves and grain: Identification of QTLs 17 elements including arsenic, Cadmium, iron and selenium. *Plant and Soil*, **329**: 139-153.

Sadeghzadeh, B. (2008). *Mapping of chromosome regions associated with seed Zn accumulation in barley*. Ph.D. Thesis, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, University of Western Australia, Perth, Australia.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

Saghai-Maroof, M.A., Soliman, K., Tpregensen, R.A. and Allard, R.W. (1984). Ribosomal DNA spacer-lenth polymorphism in barley: Mendelian inheritance chromosomal location and population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **81:** 8014-8018.

Shimizu, A., Guerta, C.Q., Gregorio, G.B., Kawasaki, S. and Ikehashi, H. (2005). QTLs for nutritional contents of rice seedlings (*Oryza sativa* L.) in solution cultures and its implication to tolerance to iron-toxicity. *Plant and Soil*, **275**: 57-66.

Van-Ooijen, J.W. (2006). JoinMap4: Software for the calculation of genetic linkage map in experimental population. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.

Wang, S., Basten, C.J. and Zeng, Z.B. (2005). Windows QTL Cartographer V2.5 011. Raleigh, NC: Department of Statistics, North Carolina State University, USA.

Yu, Q. and Rengel, Z. (1991). Micronutrient deficiency influences plant growth and activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupines. *Annals of Botany*, **83**: 175-182.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]

[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]

Identification of Genomic Oregions Controlling Iron Concentration and Content in Shoot of Barley in A × B Doubled Hoploid Mapping Population

Shiva Gheitaran Poorsahrigh[1], Seyed Abolghasem Mohammadi[2,*] and Behzad Sadeghzadeh[3]

1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran
2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran
3- Assistant Professor, Dry land Agricultural Research Institute, Maragheh, Iran

(Received: December 29, 2013 – Accepted: March 15, 2014)

Abstract

Iron is one of the essential micronutrient, which has an important role in nitrogen fixation and activity of some enzymes such as catalase, peroxidase and cytochrome oxidase. To map QTLs related to accumulation of iron in shoot of barley at five leaves and maturity stages, 148 doubled haploid lines derived from a cross between Clipper and Sahara3771 varieties were evaluated under greenhouse condition and single plant iron concentration and content were measured. For QTL analysis by linkage map including, 26 retrotransposone markers IRAP and REMAP, 246 SSR and EST-SSR, 238 RFLP and one morphological markers was used. Analysis of variance revealed significant difference between lines for all the studies traits and presence of trangreesive segregation for all the traits and indicated presence of desirable parental allele combinations in the progenies. In total, 511 markers in 7 linkage covered 1099.09 cM of barley genome with an average distance of 2.37 cM between two adjacent markers. For single plant iron concentration, eight and four, iron content in single plant, six and three QTLs were identified at vegetative and maturity stages, respectively. Negative additive effects of the most QTLs indicate the role of Sahara3771 alleles in increased iron accumulation in offspring. One common genomics regions was detected for QTLs of single plant iron concentration and content at maturity which could be due to linkage between the QTLs or the pleiotropic effect of a single QTL.

Keywords: Barley, Doubled haploid lines, Gene linkage, Iron accumulation, Pleiotropic effect

* **Corresponding Author, E-mail: mohammadi@tabrizu.ac.ir**

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-03-28]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1393.1.1.1.6]
[DOI: 10.29252/pgr.1.1.1]