

مکان‌یابی QTL‌های مربوط به خصوصیات سنبله با استفاده از خانواده‌های F_3 و F_4 جو حاصل از تلاقی بادیا $\times$ کومینو

عاطفه کاویانی چراتی^۱، حسین صبوری^{۲*}، حسین علی فلاحي^۳ و عیسی جرجانی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبدکاوس، گنبد کاووس

۲- دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبدکاوس، گنبد کاووس

۳- استادیار، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری

۴- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۰۱)

چکیده

به منظور تجزیه ژنتیکی صفات مربوط به خصوصیات سنبله در جو آزمایشی، با ۱۰۰ خانواده نسل F_3 و F_4 جو حاصل از تلاقی بادیا $\times$ کومینو در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. صفات زراعی شامل طول سنبله، تعداد دانه در یک سنبله، تعداد کل سنبله، وزن کل سنبله، طول دانه و قطر دانه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نقشه پیوستگی جمعیت با ۷ نشانگر SSR و ۶۹ آلل چندشکل iPBS تهیه شد که ۶۳۲/۲ سانتی مورگان از ژنوم جو را پوشش داد. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) انجام شد و تعداد ده QTL برای صفات مورد مطالعه، با اثر افزایشی (۱۲۷/۰۷) برای تعداد سنبله تا ۰/۶۲۵ - میلی‌متر برای طول دانه (مکان‌یابی گردید). واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط این QTL‌ها از ۱۰/۹ تا ۱۲/۹ درصد متغیر بود که بیشترین آن مربوط به صفت طول سنبله در نسل F_3 و کم‌ترین آن برای صفت تعداد کل سنبله در نسل F_3 و وزن کل سنبله در نسل F_4 بود. همه QTL‌های شناسایی شده دارای اثرات بزرگ بودند و پس از تعیین اعتبار می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: جو، خصوصیات سنبله، نشانگرهای مولکولی، نقشه لینکاژی، QTL

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: hossein.sabouri@gonbad.ac.ir

مقدمه

گیاه زراعی جو (*Hordeum vulgare* L.) در میان غلات بعد از گندم، برنج و ذرت از نظر سطح و تولید چهارمین محصول دنیا محسوب می‌شود. اما با توجه به این که این گیاه زراعی در شرایط متنوع آب و هوایی قابل کشت است، از نظر دامنه گسترش کشت مقام اول را داراست (Feug et al., 2006). جو گیاهی زراعی دیپلوئید با $2n=2x=14$ کروموزوم می‌باشد (Germán et al., 2000). از زمان کشف قوانین مندل تا به امروز جو به عنوان یکی از گیاهان مهم در مطالعات ژنتیکی مطرح بوده است. علت استفاده از جو در تحقیقات ژنتیکی ماهیت دیپلوئیدی و داشتن تعداد کم کروموزوم، خودگشنی، دارابودن کروموزوم‌های طویل، وجود تنوع ژنتیکی در بین ارقام زراعی و خویشاوندان وحشی، سهولت انجام دورگ‌گیری، سازگاری و انتشار وسیع جغرافیایی این گیاه است. ژنوم جو شامل ۷ جفت کروموزوم و اندازه ژنومی 5×10^9 جفت نوکلئوتید است (Slafer et al., 2002).

نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کمی (QTL) یکی از روش‌هایی است که در دهه اخیر برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی توسعه یافته است. در این روش تفرق همزمان صفت کمی و نشانگرهای مولکولی بررسی می‌شود و در نهایت تعداد ژن‌ها (عوامل موثر)، نوع عمل آنها و میزان اثر هر یک برآورده شده و مکان QTL‌ها روی ژنوم شناسایی می‌گردد، از اینرو می‌توان از نتایج آن در گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود (Liu, 2000 ; Kato et al., 1998). QTL به قسمتی از ژنوم گفته می‌شود که روی صفت کمی تاثیر می‌گذارد و معمولاً شامل تعداد زیادی ژن یا مکان‌های ژنی می‌باشند که همه یا بعضی و یا گاهی حتی یکی از آنها به صفت کمی مربوط می‌شوند (Rabiei, 2003). نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های مرتبط با صفات مورد نظر می‌توانند در جهت بهبود کارایی روش‌های اصلاحی به کار روند. تهیه نقشه‌های ژنتیکی از مهم‌ترین کاربردهای این نشانگرهاست که براساس آن می‌توان جایگاه ژنی و کروموزومی ژن‌های تعیین کننده

صفات مطلوب را از نظر ترتیب و فاصله ژن‌ها و نشانگرها از یکدیگر تعیین نمود (Rafalski et al., 1996). نشانگر مولکولی SSR شامل توالی‌های تکراری ساده با واحدهای ۱ تا ۵ نوکلئوتیدی است که به دلیل مزایای ویژه نسبت به دیگر نشانگرهای مولکولی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. از جمله محاسن آن می‌توان به کاربرد ساده و تفسیر نتایج آسان، میزان بالای پلی‌مورفیسم حتی در سطح ارقام و ژنوتیپ‌های یک گونه، فراوانی و تنوع زیاد آلل‌های SSR در سطح ژنوم یوکاریوت‌ها، وجود الگوی تظاهر همباز، تکرار پذیر بودن نتایج و در نهایت قابل انتقال بودن آن در سطح جنس و یا دیگر گونه‌های نزدیک اشاره کرد (Naghavi et al., 2005). نشانگر ipBS از جمله نشانگرهایی است که بر روی توالی‌های تکراری متحرک (رتروترانسپوزون‌ها) موجود در کروموزوم‌ها عمل کرده و باعث تکثیر این قسمت از کروموزوم می‌شود. امروزه عناصر رتروترانسپوزونی به دلیل اینکه کپی‌های فراوانی از آنها در سطح ژنوم وجود دارد و حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد از ژنوم گیاهان را تشکیل می‌دهند (Aalami et al., 2012)، نشانگرهای مولکولی مناسبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی در گیاهان محسوب می‌شوند (Queen et al., 2004).

پیغمبری و همکاران (Peighambari et al., 2005) با بررسی ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی Steptoe $\times$ Morex، QTL‌هایی را برای صفات ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه در شرایط کم آبیاری شناسایی کردند. QTL‌های کنترل‌کننده این صفات روی تمام کروموزوم‌های مختلف به استثنای کروموزوم ششم قرار داشتند.

جائر و جنسن (Kjaer and Jensen, 1996) با استفاده از نشانگرهای RFLP و RAPD در جمعیت مشتمل بر ۹۰ رگه هاپلوئید مضاعف، عملکرد دانه و اجزای آن را در جو مطالعه نمودند و دو QTL برای عملکرد دانه و یک QTL برای تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در مترمربع

برای شناسایی QTL و اثر متقابل محیط $\times$ QTL برای صفات مؤثر بر عملکرد دانه در پنج سال متوالی استفاده کردند. آن‌ها برای طول سنبله ۲۶ QTL بر روی کروموزوم 2H و 7H، برای تعداد دانه در سنبله ۲۰ QTL بر روی کروموزوم 2H، برای تعداد سنبله در گیاه ۱۸ QTL بر روی کروموزوم 5H و برای تعداد سنبله در بوته ۱۸ QTL بر روی کروموزوم 2H و 4H مکان‌یابی کردند.

قیطران پورسهریق و همکاران (Gheitaran et al., 2014) به منظور مکان‌یابی QTL های مرتبط با میزان و غلظت آهن در قسمت هوایی جو طی مراحل پنج برگی و رسیدگی کامل، ۱۴۸ 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 نمودند. برای تجزیه QTL از نقشه پیوستگی مشتمل بر ۲۶ نشانگر رتروترانسپوزونی IRAP و REMAP، ۲۴۶ نشانگر SSR و EST-SSR، ۲۳۸ نشانگر RFLP و یک نشانگر مورفولوژیک استفاده شد. 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 به ترتیب در مراحل پنج برگی و رسیدگی کامل شناسایی شدند. اثر افزایشی منفی اغلب QTL های شناسایی شده برای غلظت و محتوای آهن تک بوته نشان‌دهنده نقش آل‌های والد Sahara3771 در افزایش تجمع آهن در نتاج بود. یک ناحیه ژنومی مشترک برای QTL های صفات غلظت و محتوای آهن تک بوته در مرحله رسیدگی کامل شناسایی گردید.

خدایی و همکاران (Khodaei et al., 2014) برای مکان‌یابی QTL های صفات مرتبط با تجمع فسفر در بخش هوایی جو، ۱۴۸ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper در شرایط گلخانه‌ای ارزیابی و غلظت و محتوای فسفر در مرحله پنج برگی و رسیدگی اندازه‌گیری نمودند. در مجموع سیزده QTL

شناسایی نمودند. تمام این QTL ها روی کروموزوم شماره یک قرار داشتند.

باقی‌زاده و همکاران (Baghizadeh et al., 2007) در پژوهشی با ۹۰ خانواده F_3 حاصل از کراس بین دو ژنوتیپ جو و بر اساس ۷۱ مارکر RAPD برای صفات طول سنبله یک QTL بر روی کروموزوم ۴، برای تعداد دانه در سنبله سه QTL بر روی کروموزوم ۳ و ۴ مکان‌یابی کردند.

شاهین‌نیا و همکاران (Shahinnia et al., 2014) پژوهشی به منظور مکان‌یابی QTL های کنترل‌کننده عملکرد و اجزاء عملکرد در ۹۹ لاین اینبرد نوترکیب نسل F_{13} جو حاصل از تلاقی دو والد Azumamungi $\times$ Kanto Nakte Gold انجام دادند. نتایج این مطالعه منجر به مکان‌یابی QTL جدیدی برای صفات تعداد سنبله در مترمربع شد. این QTL با توجیه حدود ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی، روی بازوی کوتاه کروموزوم 5H مکان‌یابی شد.

رن و همکاران (Ren et al., 2013) در پژوهشی که با استفاده از یک جمعیت دابل هاپلوئید از ۱۲۲ لاین حاصل از کراس Huaai 11 $\times$ Huadami 6 انجام دادند و با استفاده از روش نقشه‌برداری فاصله‌ای مرکب، برای تعداد سنبله در گیاه یک QTL بر روی کروموزوم 7H، برای طول سنبله اصلی دو QTL بر روی کروموزوم 2H و 7H و برای تعداد دانه در سنبله یک QTL بر روی کروموزوم 7H مکان‌یابی کردند.

مهرآوران و همکاران (Mehravaran et al., 2014) در پژوهشی به منظور نقشه‌برداری جایگاه صفت کمی با ۷۲ لاین دابل هاپلوئید حاصل از کراس بین استپتو و مورکس و با استفاده از ۳۲۷ نشانگر مولکولی RFLP و روش نقشه‌برداری فاصله‌ای مرکب، هشت QTL برای طول سنبله بر روی کروموزوم 3H، 4H، 7H و شش QTL برای تعداد سنبله در کروموزوم 1H، 2H، 3H و 7H در شرایط نرمال و تنش و میانگین دو شرایط شناسایی کردند.

وانگ و همکاران (Wang et al., 2016) از یک جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از آمیزش Huaai $\times$ Huadami6

برای غلظت و محتوای فسفر در مراحل پنج برگی و رسیدگی شناسایی شد. برای غلظت و محتوای فسفر در مرحله پنج برگی، به ترتیب سه و دو QTL مکان‌یابی گردید. از چهار QTL شناسایی شده برای غلظت فسفر در مرحله رسیدگی، سه و یک QTL به ترتیب دارای اثر افزایشی مثبت و منفی بودند. برای محتوای فسفر تک بوته در مرحله رسیدگی نیز چهار QTL با مجموع تبیین فنوتیپی ۶۰ درصد مکان‌یابی گردید. از سیزده QTL شناسایی شده، تعداد ده QTL دارای اثر افزایشی مثبت بودند که نشان‌دهنده نقش آل‌های والد Clipper در این جایگاه‌ها در افزایش ارزش صفات مربوطه در نتاج است. در این مطالعه، یک QTL مشترک برای صفات مورد مطالعه شناسایی شد.

هدف از این تحقیق تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR و iPBS و تعیین موقعیت کروموزومی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات طول سنبله، تعداد دانه در یک سنبله، تعداد کل سنبله، وزن کل سنبله، طول دانه و قطر دانه در جمعیت F_3 و F_4 حاصل از تلاقی رقم‌های بادیا $\times$ کومینو بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه بذرهای خانواده F_3 و F_4 (۱۰۰ خانواده) به همراه والدین طی دو سال زراعی ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در ۱۰۰ کیلومتری شمال شرق گرگان با طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی کشت شدند. از صفات برتر والد بادیا می‌توان عملکرد بالاتر و حساس به ورس و والد کومینو عملکرد پایین‌تر و مقاوم به ورس اشاره کرد. هر تکرار شامل ۱۰۲ ردیف (۱۰۰ خانواده F_3 و دو والد) به طول یک متر و فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود که در هر ردیف ۷۰ بذر کشت شد. صفات زراعی شامل تعداد دانه در سنبله، طول سنبله، تعداد کل سنبله، وزن کل سنبله، طول دانه و قطر دانه بودند که در دو سال زراعی در نسل‌های F_3 و F_4 اندازه‌گیری شدند. ثبت ارزش فنوتیپی برای کلیه صفات براساس واحد آزمایشی یا ۲۰ بوته

تصادفی از هر واحد آزمایشی بود که از میانگین صفات ۲۰ بوته در تجزیه‌ها استفاده شد. جهت اجرای تجزیه و تحلیل آماری صفات فنوتیپی از نرم افزار SPSS 23 استفاده شد.

به منظور استخراج DNA ژنومی نمونه برگ‌ها از ۱۸ بوته تصادفی از هر خانواده F_3 و والدین برداشت و DNA با روش CTAB (Saghi Maroof, 1994) استخراج گردید. کمیت و کیفیت نمونه‌ها به ترتیب با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. برای تفکیک باندها از ژل آگارز ۱/۵ درصد و ژل آکرل آمید ۶ درصد استفاده شد. از بین ۲۹ نشانگر مورد بررسی، ۷ نشانگر SSR با والدین چندشکلی نشان دادند و انتخاب شدند. برای اشباع نقشه حاصل از نشانگرها SSR، از ۱۰ نشانگر iPBS که دارای محتوای اطلاعات زیادی باشند استفاده شد (جدول ۱). نشانگرهای مربوط از سایت Wheat. Pw.usda.gov انتخاب شدند. معیار انتخاب آغازگرها برای این تحقیق، به‌ترتیب میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، میزان هتروزیگوسیتی و تعداد آل مشاهده شده بود. آغازگرهای iPBS، نیز بر این اساس انتخاب شدند که در تحقیقات قبلی حداکثر تعداد باند و درصد چندشکلی را داشته باشند. آغازگرهای مورد بررسی، به صورت لیوفیلیزه تهیه گردید و پس از حل کردن و رقیق ساختن با آب دیونیزه (آب فاقد یون) طبق دستورالعمل مربوط، به عنوان ذخیره اصلی در دمای 20°C - نگهداری شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler (BIORAD ساخت کشور آمریکا)، با بلوک ۹۶ تایی برای تیوپ‌های PCR به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر استفاده شد. برنامه حرارتی نشانگر iPBS مطابق جدول (۲) و نشانگر SSR به صورت جدول (۳) برای نشانگرهای HVM20، HVM36، HVM33، HVM67، HVM65، HVM49 و جدول (۴) برای نشانگر HVM30 انجام شد.

برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTX 17 (Manly and Olson, 1999) استفاده شد. فواصل نشانگری در این نقشه نیز براساس تابع کوزامبی (Kosambi, 1994) محاسبه گردید.

جدول ۱- آغازگرهای SSR و iPBS چندشکل مورد استفاده در این تحقیق

Table 1. The SSR and iPBS primers used in this study

آغازگر Primer name	کروموزوم Chromosome	توالی آغازگرها (۵'→۳') Forward primer/Reverse primer	Parental survey ارزیابی والدین
نشانگر ریزماهواره (SSR)			
HVM20	1	CTCCACGAATCTCTGCACAA/CACCGCCTCCTCTTTCAC	Polymorph (چند شکل)
HVM70	1	CCGCCGATGACCTTCTC/ ACCCAGGACCTATGGCAC	Monomorph (یک شکل)
HVM43	1	GGATTTTCTCAAGAACTT/GCGTGAGTGCATAACATT	Monomorph (یک شکل)
HVM63	1	CGCGCAAGCATGAATACTC/ACTCACAAGTGGCGCGTAC	Monomorph (یک شکل)
HVM64	1	GATGTGAAGGCTGCCCTG/ACACGCCCTATTACCCAGTG	Monomorph (یک شکل)
HVM36	2	TCCAGCCGAACAATTTCTTG/AGTACTCCGACACCACGTCC	Polymorph (چند شکل)
HVM54	2	AACCCAGTAACACCGTCCTG/AGTTCCCTGACCCGATGTC	Monomorph (یک شکل)
HVBKASI	2	ATTGGCGTGACCGATATTTATGTTCA/CAAAACTGCAGCTAAGCAGGGGAACA	Monomorph (یک شکل)
HVM33	3	ATATTAAGGAGGTGAAAGCC/CACGCCCTCTCCCTAGAT	Polymorph (چند شکل)
HVM9	3	CTTCGACACCATCACCCAG/ACCAAAATCGCATCGAACAT	Monomorph (یک شکل)
HVM27	3	GGTCGGTTCCTCGGTAGTG/TCCTGATCCAGAGCCACC	Monomorph (یک شکل)
HVM60	3	CAATGATGCGGTGAACCTTG/CCTCGGATCTATGGGTCCTT	Monomorph (یک شکل)
HVM67	4	GTCGGGTCCATTGCTCT/CCGGTACCCAGTGACGAC	Polymorph (چند شکل)
HVM68	4	AGGACCGGATGTTTATAACG/CAAATCTTCCAGCGAGGCT	Monomorph (یک شکل)
HVM30	5	AGTGGGGAATGAGAGAATGG/TGCTTGTGGGTCATCACAC	Polymorph (چند شکل)
HVLEU	5	TTGGAAGTGATACAGCAATGGAG/TGAAAGGCCCCACAAGATAG	Monomorph (یک شکل)
HVDHN9	5	CATGGACAAGATCAAGGAGAAG/CCCATTATTTATCTGTAGGAACGC	Monomorph (یک شکل)
HVM6	5	CATGAATGAATGATTGGTTTG/CGCATCCGTATGTATGAGTAA	Monomorph (یک شکل)
HVDHN7	5	TTAGGGCTACGGTTCAGATGTT/ACGTTGTTCTTCGCTGCTG	Monomorph (یک شکل)
HVM65	6	AGACATCAAAAAATGAACCA/TGGTAACCTTGCCCCAAAG	Polymorph (چند شکل)
HVM74	6	AGGAAGTCATTGCGTGAG/TGATCAAGAATGATAACATGG	Monomorph (یک شکل)
HVM31	6	CGGTTTCTGGTTGCTTGG/CGAAGCTCTCAGGCTTCATG	Monomorph (یک شکل)
HVM14	6	CGATCAAGGACATTTGGGTAAT/AACTCTTCGGGTTCAACCAATA	Monomorph (یک شکل)
HVM13	6	AGTAGCTATGTGTTTGATCGC/CATCAAGGGCATCCTCATG	Monomorph (یک شکل)
HVM49	7	CTCTATAGGCACGAAAAATTCC/TTGCACATATCTCTGTGCACA	Polymorph (چند شکل)
HVM51	7	TCTAAATTACCTTCCCAGCCA/AAAGCAGACATGTAGGAGGTCA	Monomorph (یک شکل)
HVM4	7	AGAGCAACTACCAGTCCAATGGCA/GTCGAAGGAGAAGCGGCCCTGGTA	Monomorph (یک شکل)
HVM7	7	ATGTAGCGGAAAAAATACCATCAT/CCTAGCTAGTTCGTGAGCTACCTC	Monomorph (یک شکل)
HVM5	7	AACGACGTCGCCACACAC/AGGAACGAAGGGAGTATTAAGCAG	Monomorph (یک شکل)
نشانگر رتروترانسپوزون (iPBS)			
2240	-	AACCTGGCTCAGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2221	-	ACCTAGCTCATGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2239	-	ACCTAGGCTCGGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2077	-	CTCACGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2274	-	GCTCTGATACCA	Polymorph (چند شکل)
2083	-	CTTCTAGCGCCA	Polymorph (چند شکل)
2076	-	GCTCCGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2074	-	CTCATGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2241	-	ACCTAGCTCATGATGCCA	Polymorph (چند شکل)
2231	-	ACTTGGATGCTGATACCA	Polymorph (چند شکل)

جدول ۲- برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های iPBS

Table 2. Thermal program for amplification of iPBS marker

مرحله Phase	دما (°C) Temperature	زمان (دقیقه) Time (min)	تعداد چرخه Number of cycles
واسرشته سازی اولیه DNA Primary denaturation	95	5'	1
واسرشته سازی DNA Denaturation	95	1'	35
اتصال آغازگرها Annealing	50-64	1'	
سنتز Extension	72	1'	
تکثیر نهایی Final extension	72	5'	1

جدول ۳- برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهوره (HVM20، HVM36، HVM33، HVM67، HVM65 و HVM49)

Table 3. Thermal program for amplification of SSR markers (HVM20, HVM36, HVM33, HVM67, HVM65 and HVM49)

مرحله Phase	دما (°C) Temperature	زمان (دقیقه یا ثانیه) Time (min or sec.)	تعداد چرخه Number of cycles
واسرشته سازی اولیه DNA Primary denaturation	94	5'	1
واسرشته سازی DNA Denaturation	94	1'	18
اتصال آغازگرها Annealing	64	30"	
سنتز Extension	72	1'	
واسرشته سازی اولیه DNA Primary denaturation	94	1'	30
اتصال آغازگرها Annealing	55	1'	
سنتز Extension	72	1'	
تکثیر نهایی Final extension	72	5'	1

جدول ۴- برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه ریزماهوره HVM30

Table 4. Thermal program for amplification of SSR marker (HVM30)

مرحله Phase	دما (°C) Temperature	زمان (دقیقه یا ثانیه) Time (min or sec.)	تعداد چرخه Number of cycles
واسرشته سازی اولیه DNA Primary denaturation	94	5'	1
واسرشته سازی DNA Denaturation	94	1'	18
اتصال آغازگرها Annealing	69	30"	
سنتز Extension	72	1'	
واسرشته سازی اولیه DNA Denaturation	94	1'	30
اتصال آغازگرها Annealing	60	1'	
سنتز Extension	72	1'	
تکثیر نهایی Final extension	72	5'	1

محاسبه چولگی و کشیدگی داده‌ها بررسی شد و کلیه داده‌ها نرمال بودند. همچنین برای کلیه محاسبات QTL از روش حداکثر درستی جهت بالابردن دقت نتایج استفاده شد.

بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در خانواده‌های F_3 و F_4 حاکی از وجود تغییرات کمی و پیوسته بود (شکل ۱). برای هر شش صفت طول سنبله، تعداد دانه در یک سنبله، تعداد کل سنبله، وزن کل سنبله، طول دانه و قطر دانه ارزش‌های بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل صفت دیده شد که مبین تفکیک متجاوز برای صفات مورد مطالعه بود. مرضه و همکاران (Marza et al., 2006) برای صفات تعداد روز تا گلدهی، ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد پنجه، وزن هزاردانه و عملکرد دانه در گندم نان تفکیک متجاوز گزارش نموده‌اند. تیان و همکاران (Tian et al., 2005) در پژوهشی در برنج برای تمامی صفات مورد مطالعه‌شان تفکیک متجاوز مشاهده کردند، اظهار داشتند این پدیده می‌تواند به دلیل نوترکیبی QTL‌های کوچک اثر، اپیستازی، اثر متقابل ژنوتیپ با محیط و جهش در طول فرآیند کشت بافت برای تولید جمعیت هاپلوئید مضاعف شده باشد. ضرایب همبستگی ساده بین صفات و برای دو نسل F_3 و F_4 در جدول ۵ نشان داده شده است.

در نهایت برای پیدا کردن QTL‌ها از QGENE (Nelson, 1997) استفاده شد. برای تعیین QTL‌ها و برآورد اندازه اثرات آن‌ها، از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) استفاده گردید و نقطه‌ای که واجد بالاترین مقدار LOD بود به عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد. در کلیه موارد از پرمیوتیشن و Resampling، ۱۰۰۰ استفاده شد و برای هر پایش ۰/۵ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد و براساس آن لود ۲/۵ به عنوان حد بحرانی در نظر گرفته شد. جهت تهیه نقشه ژنتیکی از اسکورهای ۱ (برای وجود باند) و ۲ (برای عدم وجود باند) در نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد. در مورد نشانگرهای iPBS از اسکورهای ۱ (برای وجود باند) و ۳ (برای عدم وجود باند) در مواقعی که باند در والد اول تکثیر یافته بود، استفاده شد. همچنین در مورد نشانگرهای iPBS از اسکورهای ۲ (برای وجود باند) و ۴ (برای عدم وجود باند) در مواقعی که باند در والد دوم تکثیر یافته بود استفاده شد. خاطر نشان می‌شود که انکور کردن نشانگرهای تصادفی به نشانگرهای ریزماهواره برای کروموزوم‌ها جداگانه انجام شد.

نتایج و بحث

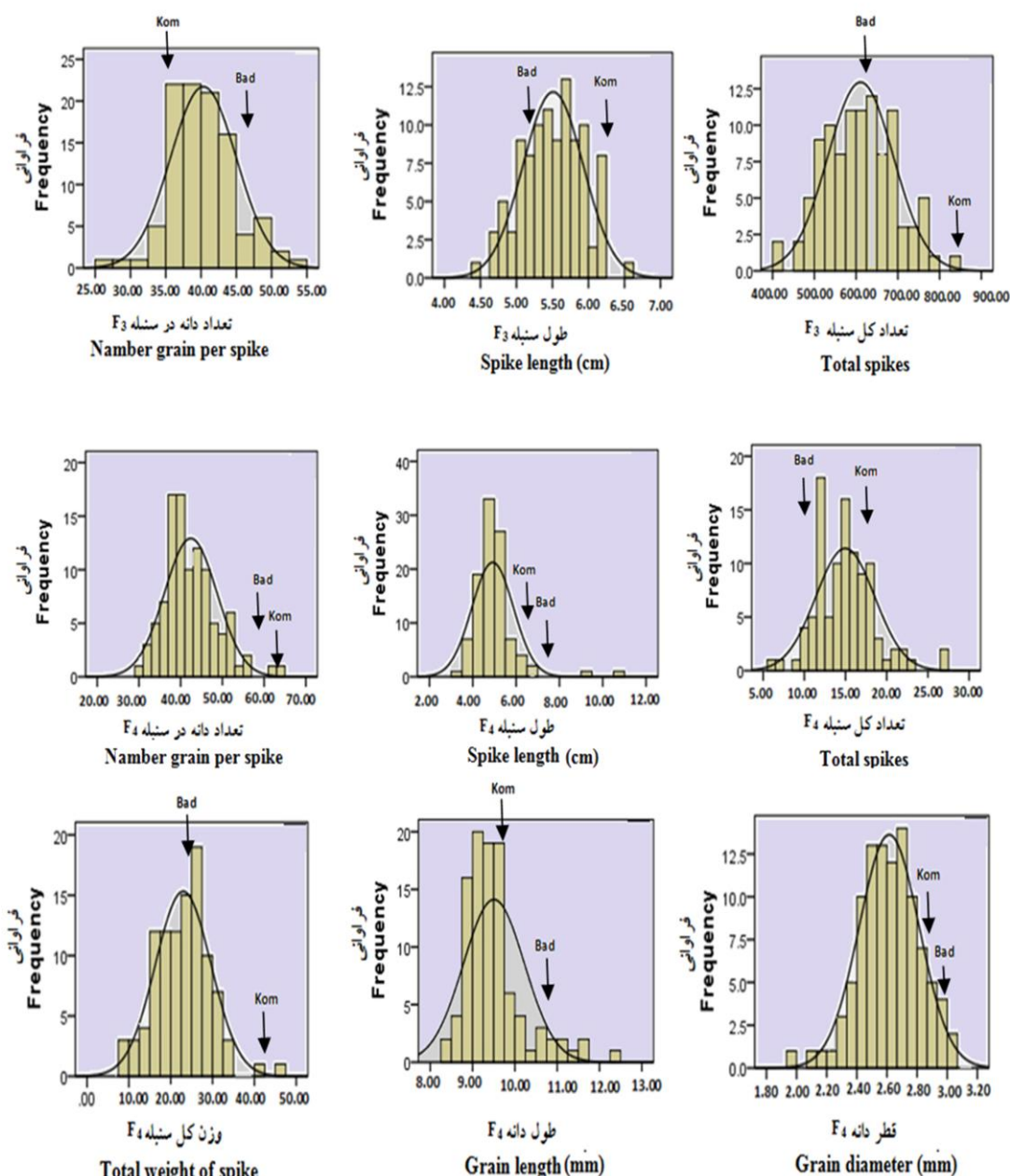
نرمال بودن داده‌ها قبل از تجزیه QTL با استفاده از

جدول ۵- ضرایب همبستگی صفات زراعی در ۱۰۰ خانواده F_3 و F_4 حاصل از تلاقی بادیا × کومینو
Table 5. Correlation coefficients of agronomic traits in 100 F_3 and F_4 families derived from Badia × Komino cross

صفات	تعداد دانه در سنبله	طول سنبله	تعداد کل سنبله	وزن کل سنبله	طول دانه	قطر دانه
Traits	No. grains per spike	Spike length	Total spike	Total weight of spike	Grain length	Grain diameter
تعداد دانه در سنبله	1					
No. grains per spike	1					
طول سنبله	0.384**	1				
Spike length	0.681**	1				
تعداد کل سنبله	-0.198*	-0.037	1			
Total spike	-0.186	-0.156	1			
وزن کل سنبله	0.188	0.165	0.042	1		
Total weight of spike	0.296**	0.143	0.670**	1		
طول دانه	0.266**	0.330**	-0.160	0.055	1	
Grain length	-0.093	0.022	-0.077	0.029	1	
قطر دانه	-0.036	-0.137	-0.144	-0.212*	0.170	1
Grain diameter	-0.181	-0.214*	0.157	0.217*	0.384**	1

اعداد بالا مربوط به همبستگی در نسل F_3 و اعداد پایین هر خانه مربوط به همبستگی در نسل F_4 است
Above number in each cell for correlation of F_3 families and down numbers each cell related to correlations of F_4 families

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد آماری
*and **: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively



شکل ۱- توزیع فراوانی صفات در نسل‌های F_3 و F_4 حاصل از تلاقی بین $Badia \times Komino$
Figure. 1. Distribution of traits frequencies in F_3 and F_4 families derived $Badia \times Komino$ Cross

بود. بین صفات وزن کل سنبله با تعداد کل سنبله ($0/370^{**}$)، قطر دانه با طول دانه ($0/384^{**}$) و وزن کل سنبله با تعداد دانه در سنبله همبستگی مثبت و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. ضرایب همبستگی نشان داد که برای هر دو نسل بیشترین مقدار همبستگی بین صفات طول سنبله و تعداد دانه در سنبله وجود داشت که همبستگی آن مثبت و بسیار معنی‌دار بود. از این‌رو

در نسل F_3 بیشترین همبستگی بین طول سنبله و تعداد دانه در سنبله وجود داشت ($0/384^{**}$) که مثبت و در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ضریب همبستگی بین طول دانه با طول سنبله ($0/330^{**}$) در مرحله بعدی قرار گرفت. همبستگی بین صفات در نسل F_4 نشان داد که بیشترین همبستگی بین طول سنبله با تعداد دانه در سنبله ($0/681^{**}$) بود که مثبت و در سطح یک درصد معنی‌دار

روی کروموزوم‌های 2H، 6H، 7H شناسایی کردند که هیچ یک از این QTLها با QTLهای شناسایی شده در مطالعه حاضر مطابقت نداشت. پیغمبری و همکاران (Peighambari *et al.*, 2005) با بررسی ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی Steptoe × Morex برای تعداد دانه در سنبله یک QTL بر روی کروموزوم 1H شناسایی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

دو QTL در نسل F_۳ برای صفت طول سنبله روی کروموزوم ۴ (در فاصله 2-iPBS2239-2-2231-iPBS) و ۶ (در فاصله 1-iPBS2077-4-iPBS2241) شناسایی شد که ۱۲/۹ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را کنترل کردند. در حالی که در نسل F_۴ یک QTL روی کروموزوم ۶ (6-qSL در فاصله 2-iPBS2274-2-HVM65) با LOD برابر ۲/۶۳، ۱۱/۴ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را به خود اختصاص داد. احمدی اوج‌تپه و همکاران (Ahmadi Ochtapeh *et al.*, 2016) با بررسی ۱۶۲ لاین خالص نوترکیب نسل F_۸ به همراه دو والد آریگاشار و ایگری در جو، سه QTL کنترل کننده طول سنبله را بر روی کروموزوم 2H گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر متفاوت بود. محمدی و بائوم (Mohammadi and Baom, 2008) در تحقیقی با ۱۵۸ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Wi2291 × Tadmor برای صفت طول سنبله شش QTL بر روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۴ و ۷ گزارش کردند که QTL شناسایی شده بر روی کروموزوم ۴ با نتایج پژوهش حاضر یکسان بود.

برای صفت تعداد کل سنبله در نسل F_۳ یک QTL با LOD برابر با ۲/۵۰ روی کروموزوم ۶ (6-qTS) واقع در فاصله 1-iPBS2077-6-iPBS2076 شناسایی شد. ضریب تبیین این QTL برابر با ۱۰/۹ بود. اثر افزایشی این QTL برابر ۱۷۲/۰۷ بود که جهت مثبت آن نشان می‌دهد که آل‌های افزایش دهنده از والد کومینو به نتاج منتقل شده است. برای این صفت در نسل F_۴ یک QTL بر روی کروموزوم ۴ در فاصله نشانگری 3-iPBS2074-4-iPBS2240 با میزان LOD ۲/۸۱، ۱۲/۲ درصد از

می‌توان چنین استنباط کرد که خانواده‌های با طول سنبله بالا دارای تعداد دانه در سنبله بیشتری هستند. آفریدی و همکاران (Afridi *et al.*, 2014) به منظور بررسی پتانسیل ژنتیکی و تنوع صفات مرتبط با عملکرد در گندم دوروم نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین طول سنبله و تعداد دانه در سنبله در هر دو شرایط رطوبتی در تحقیق خود گزارش کردند. ابتدا چندشکلی ۲۹ نشانگر ریزماهواره بر روی والدین جمعیت بررسی شد و از بین آن‌ها ۷ نشانگر در کروموزوم‌های مختلف چندشکلی نشان دادند (جدول ۱). با استفاده از ۷۶ نشانگر چندشکل (۷ نشانگر SSR و ۶۹ آل چندشکل حاصل از ۱۰ نشانگر iPBS) نقشه پیوستگی جو ترسیم گردید که شامل ۷ گروه پیوستگی بود و ۶۳۲/۲ سانتی مورگان از ژنوم جو را پوشش داد (شکل ۲). مشخصات QTLهای شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در جدول ۶ نشان داده شده است. مجموعاً ده QTL شناسایی شد که کنترل شش صفت مورد مطالعه را برعهده داشتند.

برای صفت تعداد دانه در سنبله در نسل F_۳ فقط یک QTL روی کروموزوم ۱ (1-qNGS) در فاصله 7-iPBS2077-4-iPBS2274 مکان‌یابی شد که ۱۱/۴ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کرد. همچنین در نسل F_۴ یک QTL روی کروموزوم ۱ (در فاصله 5-iPBS2239-5-HVM20) شناسایی شد که ۱۲/۳ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را کنترل کرد. از دلایل عدم پایداری QTLهای شناسایی شده می‌توان تفرق صفات و شرایط محیطی (آب و هوا) را ذکر نمود که روی رشد و نمو خانواده‌ها تاثیرگذار بودند. اثر افزایشی مثبت و ال-های والد بادیا باعث افزایش طول سنبله شدند. شاهین‌نیا و همکاران (Shahinnia *et al.*, 2014) برای تعداد دانه در سنبله یک QTL در فاصله نشانگرهای 23.6 e13m و 31.7 e13m روی بازوی کوتاه کروموزوم 2H شناسایی کردند. عشقی و همکاران (Eshghi *et al.*, 2013) در یک جمعیت BC₃ جو حاصل از کراس بین Azhul × Spontaneum I برای تعداد دانه در سنبله سه QTL بر

واریانس فنوتیپی را دارا بود و با اثر افزایشی $8/04$ - باعث کاهش تعداد کل سنبله گردید. شاهین‌نیا و همکاران (Shahinnia *et al.*, 2014) دو QTL برای این صفت بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 5H و 2H شناسایی کردند. وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2016) با استفاده از یک جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از کراس $Huadai11 \times$ $Huadama6$ در جو برای صفت تعداد سنبله در جو هجده QTL بر روی کروموزوم 5H شناسایی کردند که هیچ یک از این QTL‌ها با QTL‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر مطابقت نداشت.

برای صفت وزن کل سنبله در نسل F_3 QTL‌ای پیدا نشد در حالی که در نسل F_4 یک QTL ($qTWS-5$) بر روی کروموزوم 5 در فاصله نشانگری $iPBS2221-1$ - $iPBS2077-4$ شناسایی شد که $10/9$ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را شامل شد. اثر افزایشی این QTL برابر $113/15$ بود که جهت مثبت آن نشان می‌دهد که آلل‌های افزایش دهنده از والد بادیا به نتاج منتقل شد. زو و همکاران (Xue *et al.*, 2010) در پژوهشی در جو برای صفت وزن سنبله سه QTL بر روی کروموزوم 2H و 6H مکان‌یابی کردند. نرجسی و همکاران (Narjesi *et al.*, 2015) در پژوهشی در گندم دو QTL برای وزن سنبله در کروموزوم‌های 2A و 6B شناسایی کردند که به ترتیب $12/4$ و $6/5$ درصد از واریانس فنوتیپی صفت مربوط را توجیه نمود که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

برای صفت طول دانه در نسل F_3 QTL‌ای پیدا نشد ولی در نسل F_4 یک QTL بر روی کروموزوم 5 با میزان LOD $2/73$ در فاصله نشانگری $iPBS2221-1$ - $iPBS2077-4$ با توجیه $11/8$ درصد از واریانس فنوتیپی و نقش کاهنده آلل‌های والد کومینو در کنترل این صفت شناسایی شد. برسگلو و سورلر (Bressegello and Sorrells, 2006) با استفاده از نقشه‌یابی ارتباطی در ارقام گندم نان مشخص کردند که کروموزوم 2D در کنترل صفات عرض و وزن دانه و کروموزوم‌های 5B و 5A در کنترل صفت طول دانه نقش بسیار مهمی دارند که با نتایج پژوهش حاضر

مطابقت داشت. رامیا و همکاران (Ramya *et al.*, 2010) در جامعه لاین‌های نوترکیب گندم نان با استفاده از نقشه-یابی QTL برای طول دانه شش QTL در کروموزوم‌های 5B، 5A، 2D، 2B، 1A و 5D گزارش کردند. لی و همکاران (Li *et al.*, 2015) با بررسی 182 لاین خالص نوترکیب $F_{8.9}$ حاصل از $Shannong01-35 \times$ $Gaocheng9411$ برای طول دانه چهار QTL بر روی کروموزوم 1B، 4B و 6A مکان‌یابی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

برای قطر دانه در نسل F_3 ، QTL‌ای پیدا نشد ولی در نسل F_4 یک QTL بر روی کروموزوم 7 در فاصله نشانگری $iPBS2083-1$ - $iPBS2076-5$ با توجیه $12/5$ درصد از واریانس فنوتیپی شناسایی شد. آلل‌های والد بادیا در این مکان ژنی از نقش افزاینده برای این صفت برخوردار بودند. سان و همکاران (Sun *et al.*, 2010) در پژوهشی با بررسی جمعیتی از 132 لاین خالص نوترکیب F_{12} حاصل از کراس $Ning7840$ و Clark در گندم برای قطر دانه شش QTL بر روی کروموزوم‌های 4AL، 5AL، 5AS و 6AS شناسایی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت. لی و همکاران (Li *et al.*, 2016) یازده QTL برای قطر دانه در گندم بر روی کروموزوم 1BL، 2BS، 2DL، 3BS، 4AL، 4BS، 5AL، 5AS، 6AL، 7AL مکان‌یابی کردند که QTL مکان‌یابی شده بر روی کروموزوم شماره 7 با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برای کلیه صفات مورد بررسی تفکیک متجاوز از والدین در جهت مثبت و منفی وجود داشت. در این مطالعه در مجموع 10 جایگاه دارای QTL برای صفات مربوط به خصوصیات سنبله در دو نسل F_3 و F_4 شناسایی شد که واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط این QTL‌ها از $10/9$ تا $12/9$ متغیر بود. برای تمامی صفات مورد مطالعه QTL‌های با اثرات بزرگ شناسایی شد. پیشنهاد می‌شود از نتایج مطالعه حاضر پس از تعیین اعتبار در مکان‌ها و جمعیت‌های

مختلف در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده بدینوسیله از ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان گنبد کاووس جهت همکاری صمیمانه در اجرای این طرح سپاسگزاری می‌گردد.

سپاسگزاری

جدول ۶- QTL های کنترل کننده برای صفات خصوصیات سنبله در نسل F_3 و F_4 جو حاصل از تلاقی بادیا × کومینو

Table 6. QTL controlling for spike traits in F_3 and F_4 barley generation derived from Badia × komino cross

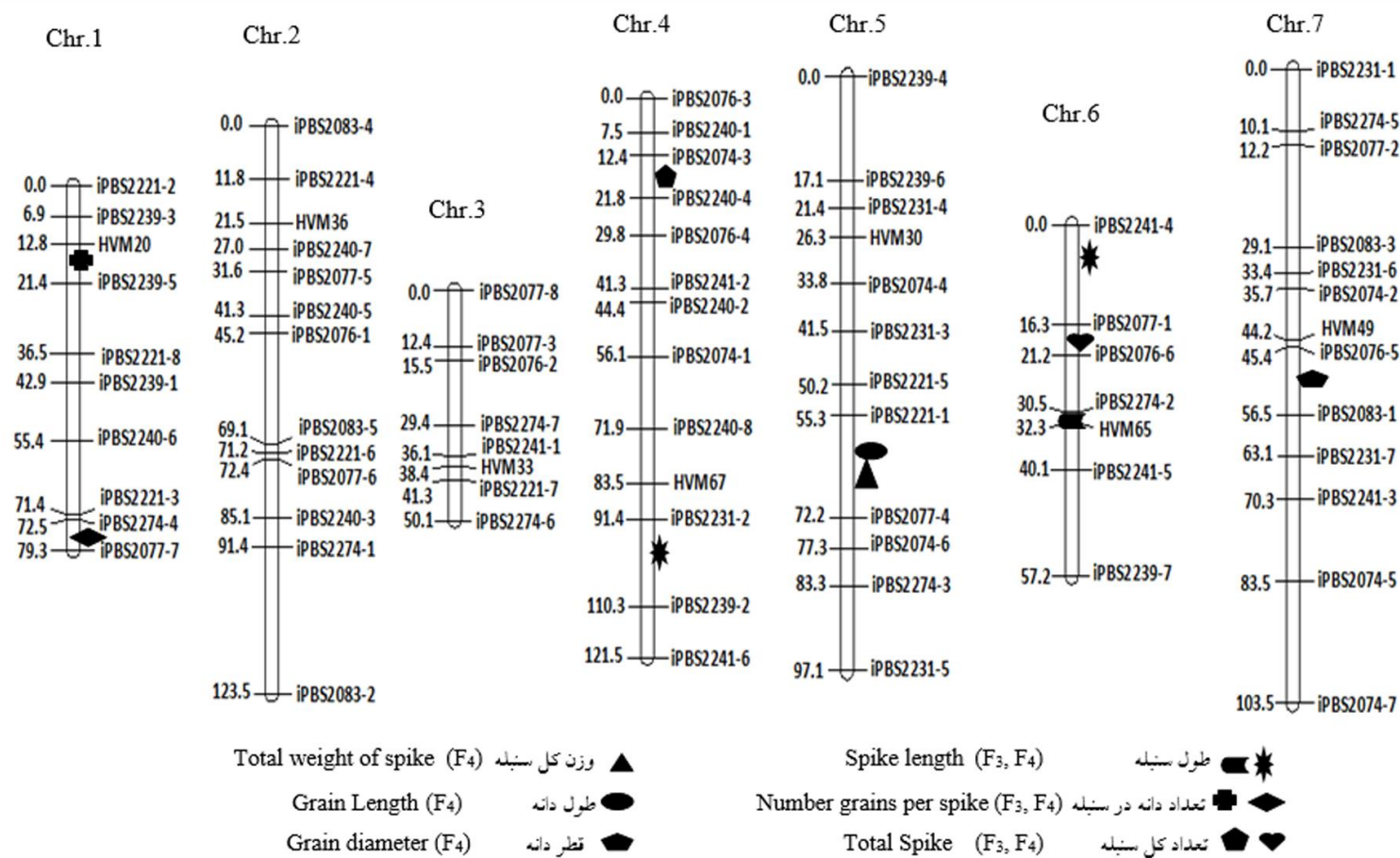
صفت Traits	خانواده Family	QTL	کروموزوم Chromosome	موقعیت (سانتی مورگان) Position (cM)	نشانگرهای مجاور* Flanking markers*	LOD	اثر افزایشی Additive effect	ضریب تبیین Explaining factor	جهت آلل Allele direction
تعداد دانه در سنبله Number grains per spike	F_3	qNGS- 1	1	74	<u>iPBS2274-4-</u> <u>iPBS2077-7</u>	2.55	-3.99	11.1	Komino
طول سنبله Spike length	F_3	qSL- 4	4	94	<u>iPBS2231-2-</u> <u>iPBS2239-2</u>	2.99	-3.14	12.9	Komino
طول سنبله Spike length	F_3	qSL- 6	6	2	<u>iPBS2241-4-</u> <u>iPBS2077-1</u>	2.98	-6.39	12.9	Komino
تعداد کل سنبله Total spike	F_3	qTS- 6	6	18	<u>iPBS2077-1-</u> <u>iPBS2076-6</u>	2.50	172.07	10.9	Komino
تعداد دانه در سنبله Number grains per spike	F_4	qNGS- 1	1	20	<u>HVM20-</u> <u>iPBS2239-5</u>	2.86	10.75	12.3	Badia
طول سنبله Spike length	F_4	qSL- 6	6	32	<u>iPBS2274-2-</u> <u>HVM65</u>	2.63	2.90	11.4	Komino
تعداد کل سنبله Total spike	F_4	qTS-4	4	20	<u>iPBS2074-3-</u> <u>iPBS2240-4</u>	2.81	-8.04	12.2	Badia
وزن کل سنبله Total weight of spike	F_4	qTWS-5	5	58	<u>iPBS2221-1-</u> <u>iPBS2077-4</u>	2.49	113.15	10.9	Badia
طول دانه Grain length	F_4	qGL-5	5	56	<u>iPBS2221-1-</u> <u>iPBS2077-4</u>	2.73	-625.51	11.8	Komino
قطر دانه Grain diameter	F_4	qGD-7	7	52	<u>iPBS2076-5-</u> <u>iPBS2083-1</u>	2.90	24.63	12.5	Badia

*: نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

*: Markers underlined are the nearest marker to QTLs

علامت منفی اثر افزایشی نشان دهنده این است که آلل انتقال یافته از والدی که دارای ارزش کمتر برای آن صفت است منتقل شده است

Negative sign additive effect indicates that alleles transmitted from parent to less valuable for that trait has been passed



شکل ۲- نقشه پیوستگی حاصل از نشانگرهای SSR و iPBS در نسل F₃ و F₄ جو حاصل از تلاقی Badia × Komino

Figure 2. Linkage map produced by SSR and iPBS markers on barley F₃ and F₄ individuals derived from the cross between Badia × Komino

References

- Aalami, A., Safiyar, S. and Abdollahi Mandoulakani, B.** (2012). R-RAP: a retrotransposon-based DNA fingerprinting technique in plants. *Plant Omics Journal*, **5**(4): 359-364.
- Afridi, Kh., Ahmad, G., Ishaq, M., Khalil, I.A., Ahmad Shah, I., Saeed, M. and Ahmad, N.** (2014). Genetic potential and variability for morpho-yield traits in durum wheat. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, **3**: 1206-1212.
- Ahmadi Ochtapeh, H., Soltanloo, H., Ramezanpour, S.S., Naghavi, M.R., KalateArabi, M., Nikkhah, H.R. and Yoosefi Rad, S.** (2016). Localization of QTLs conferring lodging resistance in barley recombinant inbred lines. *Modern genetics*, **11**(2): 237-244 (In Persian).
- Baghizadeh, A., Taleei, A.R. and Naghavi, M.R.** (2007). QTL Analysis for some agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Inter National Journal of Agriculture and Biology*, **9**(2): 372-374.
- Breseghehlo, F. and Sorrells, M.E.** (2006). Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, **172**: 1165-1177.
- Eshghi, R., Salayeva, S., Ebrahimpour, F., Rahimi, M., Baraty, M. and Ojaghi, J.** (2013). Advanced-backcross QTL analysis in hullless barley: I. Detection of exotic alleles for yield and yield components introgressed from *Hordeum vulgare* ssp. *Spontaneum*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, **5**(2): 95-100.
- Feug, Z.Y., Liu, X.J., Zhang, Y.Z. and Ling, H.Q.** (2006). Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR markers. *Acta Genetica Sinica*, **33**: 917-928.
- Germán, S., Arbelbide, M., Abadie, T., Romero, R. and Peculio, A.** (2000). *Characterization of photoperiod response of barley genotypes from diverse origin*. In: S. Logue (ed.), Barley Genetics VIII, 212-214, Vol. III – Contributed Papers. Department of Plant Science, Adelaide University, Glen Osmond, Adelaide, AUS.
- Gheitaran-Poorsahrigh, S., Mohammadi, A.A., and Sadeghzadeh, B.** (2014). Identification of Genomic Oregions Controlling Iron Concentration and Content in Shoot of Barley in A × B Doubled Haploid Mapping Population. *Journal of Plant Genetic Research*, **1**(1): 1-12 (In Persian).
- Kato, K., Miura, H. and Sawada, S.** (2000). Mapping QTLs controlling grain yield and its components on chromosome 5A of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, **101**: 1114-1121.
- Kjaer, B. and Jensen, J.** (1996). Quantitative trait loci for grain yield and yield components in a cross between a six – rowed and two-rowed barley. *Euphytica*, **90**: 39-48.
- Khodaei, S., Mohammadi, A.A. and Sadeghzadeh, B.** (2014). QTL Mapping of Phosphorus Concentration and Content on Shoot of Barley. *Journal of Plant Genetic Research*, **1**(1):15-24 (In Persian).
- Kosambi, D.D.** (1994). The estimation of map distance from recombination values. *Annals of Eugenics*, **12**: 172-175.
- Li, Ch., Bai, G., Choo, Sh. Carrer, B. and Wang, Zh.** (2016). Single nucleotide polymorphisms linked to quantitative trait loci for grain quality traits in wheat. *The Crop Journal*, **4**: 1-11.
- Li, Q., Zhang, Y., Liu, T., Wang, F., Liu, K., Chen, J. and Tian, J.** (2015). Genetic analysis of kernel weight and kernel size in wheat (*Triticum aestivum* L.) using unconditional and conditional QTL mapping. *Molecular Breeding*, **35**:194-219.
- Liu, B.H.** (1998). *Statistical Genomics; Linkage, mapping and QTL analysis*. CRC Press, LLC, USA.
- Manly, K.F. and Olson, J.M.** (1999). Overview of QTL mapping software and introduction to map manager QTL. *Mammalian Genome*, **10**: 327-334.
- Marza, F., Bai, G.H., Carver, B.F. and Zhou. W.C.** (2006). Quantitative trait loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 × Clark. *Theoretical and Applied Genetics*, **112**: 688-698.

- Mehravaran, L., Fakheri, B.A. and Sharifi-Rad, J.** (2014). Localization of quantitative trait loci (QTLs) controlling drought tolerance in barley. *International Journal of Biosciences*, **5**(7): 248-259.
- Mohammadi, M. and Baom, M.** (2008). QTL analysis for morphological traits in the population of double haploide barley. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, **45**(1): 111-120 (In Persian).
- Naghavi, M., Gharayazi, B. and Hosseini, Gh.** (2005). *Molecular Markers*. Tehran University Press, Tehran, Iran.
- Narjesi, V., Mardi, M., Majidi Hervan, E. Azadi, A., Naghavi, M. R., Ebrahimi, M. and Zali, A.A.** (2015). Analysis of Quantitative Trait Loci (QTL) for grain yield and agronomic traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under normal and salt-stress conditions. *Plant Molecular Biology Reporter*, **33**: 2030-2040.
- Nelson, J. C.** (1997). QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding*, **3**(3): 239-245.
- Peighambari, S.A., Yazdi Samadi, B., Nabipour, A., Charmet, G. and Sarrafi, A.** (2005). QTL analysis for agronomic traits in barley doubled haploids population grown in Iran. *Plant Science*, **169**: 1008-1013.
- Queen, R.A., Gribbon, B.M., James, C., Jack, P. and Falvell, A.J.** (2004). Retrotransposon-based molecular marker for linkage and genetic diversity analysis in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, **271**: 91-97.
- Rabiei, B.** (2003). QTL Analysis for traits controlling seed in Iranian rice varieties. Ph.D thesis, Agriculture College, University of Tabriz, Tabriz, Iran. (In Persian).
- Rafalski, J.A., Vogel, J.M., Morgante, M., Powell, W., Andre, C. and Tingey, S.V.** (1996). *Generating and using DNA markers in plants*. PP. 75-134. In: B. Birren, E. Lai. (Eds.), *mmammalian Genome Analysis. A Practical Guide*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Ramya, P., Chaubal, A., Kulkarni, K., Gipta, L., Kadoo, N., Dhaliwal, H.S., Chhuneja, P., Lagu, M. and Gupta, V.** (2010). QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Applied Genetics*, **51**: 421-429.
- Ren, X., Sun, D., Sun, G., Li, Ch. and Dong, W.** (2013). Molecular detection of QTL for agronomic and quality traits in a doubled haploid barley population. *Australian Journal of Crop Science*. **7**(6): 878-886.
- Saghi Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W.** (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Proceeding of National Academy Science USA*, **91**: 5466-5570.
- Shahinnia, F., Rezaei, A.M., Seyedtabatbai, B.A. and Muhammadi, S.A.** (2014). Localization of genes controlling quantitative traits (QTL) yield and yield components in barley lines. *Seed and Plant Improvement Journal*, **1**: 85-101 (In Persian).
- Slafer, G.A., Molina Cano, J.L., Savin, R., Araus, J.L. and Romagosa, I.** (2002). *Barley Science: Recent advances from molecular biology to agronomy of yield and quality*. Haworth Press, New York, USA.
- Sun, X., Marza, F., Ma, H., Carver, B.F. and Bai, G.** (2010). Mapping quantitative trait loci for quality factors in an inter-class cross of US and Chinese wheat. *Theoretical and applied genetics*, **120**: 1041-1051.
- Tian, R., Jiang, G.H., Shen, L.H., Wang, L.Q. and He, Y.Q.** (2005). Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. *Molecular Breeding*, **15**: 117-124.

- Wang, J., Sun, G., Ren, X., Li, Ch., Liu, L., Wang, Q., Du, B. and Sun, D.** (2016). QTL underlying some agronomic traits in barley detected by SNP markers. *BMC Genetics*. **17**: 103-116.
- Xue, D.W., Zhou, M. X., Zhang, X Q., Chen, S., Wei, K., Zeng, F.R., Mao, Y., Wu, F.B. and Zhang, G.P.** (2010). Identification of QTLs for yield and yield components of barley under different growth conditions. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine and Biotechnology)*, **11(3)**: 169-176.

QTL Mapping of Spike Characteristics in Barley using F₃ and F₄ Families Derived from Badia × Komino Cross

Atefeh Kaviani Charati¹, Hossein Sabouri^{2*}, Hossein Ali Fallahi³ and Eisa Jorjani⁴

- 1- M.Sc. Student, Department of Plant Production, Gonbad kavous University, Gonbad kavous, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Plant Production, Gonbad kavous University, Gonbad kavous, Irna
- 3- Assistance Professor, Department of Agronomic and horticultural Research, Research and Education Center of Agriculture and Natural Resources in Mazandaran, Agricultural Extension and Education Research Organization, Sari, Iran
- 4- Assistance Professor, Department of Biology, Gonbad kavous University, Gonbad kavous, Iran

(Received: February 21, 2016 – Accepted: May 21, 2016)

Abstract

In order to genetic analysis of spike characteristics in barley, an experiment was conducted with 100 F₃ and F₄ barley families derived from Badia × Komino cross at Research Farm college of Agricultural University of Gonbad Kavous (Iran) based on randomized complete block design with three replications. Agronomic traits such as spike length, number of seeds per spike, total of spike, total weight of spike, grain length and grain diameter were measured. Linkage map with 7 SSR and 69 polymorphic alleles of iPBS markers were prepared which covered 632.2 cM of barley genome. QTL analysis was performed based on the method of composite interval mapping (CIM). Ten QTLs (with additive effect ranged from 127.07 for spike number to -0.625 mm for grain length) were detected. Phenotypic variance explained by QTLs ranged from 10.9 to 12.9 percent, which the highest related to spike length in F₃ generation and the lowest related to the total number of spikes in F₃ generation and the total weight of spike in F₄ generation. All detected QTL were major effects and after validation can be used in breeding programs and marker-assisted selection.

Keywords: Barley, Spike characteristic, Molecular markers, Linkage map, QTL

* Corresponding Author, E-mail: hossein.sabouri@gonbad.ac.ir