

کیوتی‌ال‌های مرتبط با رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه در مراحل اولیه جوانه‌زنی گندم

محسن براجعه فرد^۱، محمدرضا سیاهپوش^{۲*} و محمد مدرسی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۸)

چکیده

با توجه به اهمیت صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر در استقرار اولیه گیاه در شرایط تنش، انجام مطالعاتی جهت شناسایی کیوتی‌ال‌های مرتبط با رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه ضروری است. به این منظور ۱۴۴ لاین خویش آمیخته نو ترکیب گندم حاصل از تلاقی کاز و مانتانا در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نقشه پیوستگی با کمک ۲۳۴ جفت آغازگر ریزماهواره (SSR) و ۲۶۷ نشانگر AFLP در مطالعات قبل بر روی این جمعیت تهیه شده است، که ۲۰ کروموزوم گندم را پوشش می‌دهد. برای صفت طول ساقه‌چه روی کروموزوم‌های 4B، 4D و 2D به ترتیب ۱، ۲ و ۲ کیوتی‌ال مکان یابی شدند. دو کیوتی‌ال طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های 6B و 3D قرار داشتند. کیوتی‌ال‌های تعداد ریشه‌چه روی کروموزوم‌های 4A، 5A و 3B شناسایی شدند. برای هر کدام از صفات وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه به ترتیب تنها یک کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 4A و 3D شناسایی شد. در مجموع برای نسبت وزن خشک ساقه‌چه به وزن خشک ریشه‌چه روی کروموزوم‌های 2D و 3D سه کیوتی‌ال مکان‌یابی شد. کیوتی‌ال‌های وزن تر ساقه‌چه روی کروموزوم‌های 6B و 2B تشخیص داده شدند. روی کروموزوم‌های 1B، 2D و 6B سه کیوتی‌ال برای نسبت وزن تر ساقه‌چه به وزن تر ریشه‌چه مشخص گردید. برای تمام صفات محدوده LOD بین ۲/۰۴ تا ۶/۳۴ و R² بین ۵/۱۱ تا ۱۹/۵۸ محاسبه شد. بیشترین مقدار LOD و R² به ترتیب برابر ۶/۳۴ و ۱۹/۵۸ مربوط به کیوتی‌ال QSL-chpgu-4D برای طول ساقه‌چه بود. کمترین فاصله کیوتی‌ال تا نزدیکترین نشانگر معادل ۰/۰۰۵ سانتی‌مورگان برای کیوتی‌ال طول ریشه‌چه QRL-chpgu-3D روی کروموزوم 3D در مجاورت نشانگر AFgcCGb بدست آمد.

واژگان کلیدی: ساقه‌چه، کیوتی‌ال، گیاهچه، گندم، ریشه‌چه

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: siahpoosh@scu.ac.ir

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) مهمترین گیاه زراعی است که در نقاط مختلف جهان کشت و کار می‌شود (Gupta et al., 2010). مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای، مراحل موثر و پایه‌ای برای رشد و نمو گندم قلمداد می‌شوند (Araki and Iijima, 2001). در این میان ریشه یک عضو مهم برای جذب آب، مواد غذایی و انتقال مواد فتوسنتزی در گیاه بوده و علاوه بر این ریشه‌ها بر مراحل رشد و نمو گیاه و عملکرد تأثیر زیادی دارند (Rong et al., 2011). به احتمال فراوان ریشه‌های اولیه بیش از ریشه‌های ثانویه بر عملکرد تأثیر می‌گذارند (Manske and Vlek, 2002). بسیاری از محققین بر این عقیده هستند که سیستم ریشه-ای قوی با رشد سریع، بر عملکرد نهایی تأثیر گذاشته و در تحمل گیاه به سطح بالایی از تنش‌ها دخیل می‌باشد (Sun et al., 1996). صفات مربوط به ریشه که سبب بهبود افزایش توانایی جذب آب و مواد غذایی در گیاه می‌شوند در انتخاب ارقام گندم مفید می‌باشند (Gregory, 2006). بسیاری از محققین برای بررسی نمو و توسعه مراحل گیاهچه‌ای از کشت آزمایشگاهی استفاده می‌کنند (Yang et al., 2010; Zhu et al., 2005). تجزیه کیوتی‌ال برای صفات مربوط به ریشه توجه زیادی را به خود معطوف کرده است که سبب فهم بهتر ژنتیک رشد ریشه و ایجاد فرصت بهتر برای اصلاح‌گران شده است (Dorlodot et al., 2007). گزارش شده است که رشد ریشه توسط ژن‌های زیادی با اثرات کم کنترل می‌شود (Lu et al., 2010). کیوتی‌الیابی برای رشد ریشه در بیشتر گیاهان از جمله گندم گزارش شده است (Zhang et al., 2013). در مطالعات قبل برای صفات ریشه چندین کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 1B, 3A, 3B, 4A1, 4A2 و 6A1 شناسایی و گزارش شدند (Christopher et al., 2013). در مطالعه‌ای برای تعداد ریشه‌چه دو کیوتی‌ال روی کروموزوم 4D، برای صفت وزن خشک ساقه گندم دو کیوتی‌ال و برای وزن خشک ریشه‌چه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 2D و برای نسبت وزن خشک ساقه‌چه

به وزن خشک ریشه‌چه نیز یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 2D مکان‌یابی شد (Zhang et al., 2013). برای تعداد ریشه‌چه سه کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 2B, 7A و 7B دو کیوتی‌ال برای وزن خشک ریشه‌چه روی کروموزوم-های 2A و 5B برای نسبت وزن خشک ساقه‌چه به وزن خشک ریشه‌چه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 5D و برای وزن تر ریشه‌چه دو کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 5B و 7A شناسایی شد (Zhou et al., 2005). برای طول ریشه‌چه کیوتی‌ال‌هایی روی کروموزوم‌های 3B, 5BS و 3A، برای وزن خشک ساقه‌چه دو کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 4D و 5A و برای نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 4D مکان‌یابی شدند. همچنین یک کیوتی‌ال مشترک برای صفات وزن خشک ساقه، نسبت وزن خشک ریشه به ساقه، ارتفاع و وزن هزار دانه، روی کروموزوم 4D مکان-یابی گردید (Bai et al., 2013). در مطالعه‌ای دیگر برای تعداد ریشه‌چه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 2BL، برای طول ریشه‌های اولیه دو کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 2AS و 5AL و برای وزن خشک ساقه‌چه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 1BL مکان‌یابی شد (Sanguinet et al., 2007). برای طول ریشه یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 2B و برای صفات تعداد ریشه و وزن خشک ریشه به ترتیب یک و دو کیوتی‌ال روی کروموزوم 2A شناسایی شدند (Bhart et al., 2014). همین‌طور یک کیوتی‌ال روی کروموزوم 5A برای طول ریشه‌های اولیه یافت شده است (Hamada et al., 2012). در مطالعه‌ای در دو محیط مختلف آبی برای طول ریشه کیوتی‌ال‌هایی روی کروموزوم‌های 1B, 2D, 3A, 5B, 5D, 7B و برای تعداد ریشه روی کروموزوم‌های 3D, 5A, 7A, 3B و 2B مشخص شد (Liu et al., 2013). یک کیوتی‌ال در شرایط نرمال برای طول ریشه روی کروموزوم 5B گزارش شده است (Landjeva et al., 2008).

با توجه به اهمیت صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر در استقرار اولیه گیاه در شرایط تنش، انجام مطالعات بیشتر

جهت شناسایی کیوتی‌ال‌های مرتبط با رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه ضروری است. به این منظور آزمایش حاضر با هدف تعیین مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مرتبط با ریشه‌چه و ساقه‌چه در یک جمعیت اینبرد لاین گندم تولید شده جهت انجام مطالعات تنش گرما طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

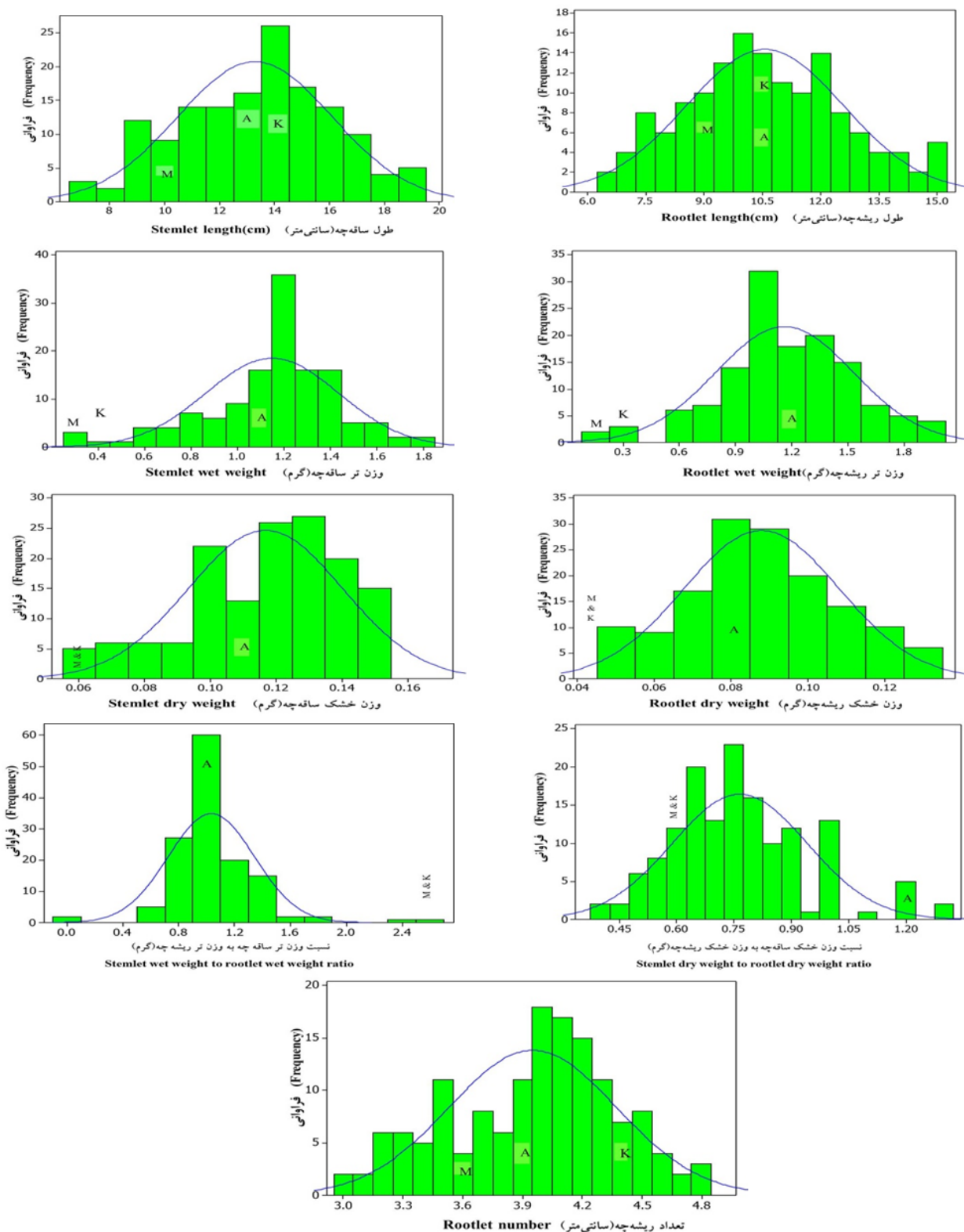
در این آزمایش ۱۴۴ رگه درون‌زاد نوترکیب F9 حاصل از تلاقی ارقام کاز (Jupatco F73/Blue Jay/Urest T81) و مانتنا (PI372129/2*Pondera) مورد استفاده قرار گرفتند. رقم کاز در مرکز بین المللی سیمیت آزاد شده و متحمل به گرما است در حالی که مانتنا رقم حساس به گرما می‌باشد (Ibrahim and Quick., 2001). لاین‌های اینبرد مورد استفاده تا نسل F6 به روش نتاج تک بذر به دست آمده و سپس در ادامه به صورت لاین تکثیر شدند (Mohammadi et al., 2004). در جمعیت مورد مطالعه نقشه پیوستگی با کمک ۲۳۴ جفت آغازگر ریزماهواره (SSR) و ۲۶۷ نشانگر AFLP تهیه شده است که مجموعاً ۲۰ کروموزوم گندم را پوشش می‌دهد (Modarresi, 2009). آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار در آزمایشگاه ژنتیک و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در درون جعبه‌های جوانه‌زنی اجرا گردید. در هر تکرار برای هر لاین مورد بررسی ۳۰ عدد بذر کشت گردید. جهت ضدعفونی ابتدا بذور با آب معمولی و آب مقطر شسته و در مرحله بعد در محلول اتانول ۵۰ درصد به مدت ۲۰ ثانیه قرار داده شدند. سپس با آب مقطر شستشو شده و در هیپوکلرید سدیم ۲ درصد به مدت نیم ساعت نگهداری و در نهایت با آب مقطر شستشو شدند. به منظور جلوگیری از بروز سریع آلودگی، جعبه‌های جوانه‌زنی با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و کاغذهای صافی که به عنوان بستر کشت استفاده شدند، اتوکلاو گردیدند. داده‌برداری ۷ روز پس از کاشت آغاز شد. برای شمارش تعداد ریشه‌چه، به صورت تصادفی ۱۰ گیاهچه از هر لاین انتخاب و تعداد ریشه‌چه

شمارش گردید و سپس میانگین ۱۰ بوته برای تجزیه کیوتی‌ال مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه از خط‌کش میلیمتری استفاده شد. همچنین برای وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه، بعد از جدا کردن ریشه‌چه و ساقه‌چه از گیاهچه گندم، درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. برای توزین ساقه‌چه و ریشه‌چه از ترازوی دقیق (با دو رقم اعشار) استفاده گردید.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 استفاده شد. قبل از انجام تجزیه واریانس دو فرض اصلی تجزیه واریانس شامل نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی با استفاده از آزمون‌های شاپیرو-ویلک و کلموگروف-اسمیرنوف و یکنواخت بودن واریانس خطاهای آزمایشی با استفاده از آزمون بارتلت مورد بررسی قرار گرفت. مکان یابی کیوتی‌ال به وسیله برنامه Windows QTL cartographer 2.5 (Wang et al., 2005) و بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب انجام شد. آستانه $LOD = 2$ ، حداقل فاصله پویش ژنوم ۲ سانتی مورگان و برای تعیین سطح معنی‌داری آزمون جایگشت ۱۰۰۰ مرتبه تکرار و سطح معنی‌داری یک درصد در نظر گرفته شد. از نرم افزار Map Chart (Voorrips, 2002) برای ترسیم جایگاه کیوتی‌ال‌ها روی کروموزوم‌ها استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بین لاین‌ها از نظر طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، تعداد ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، نسبت وزن خشک ساقه‌چه به وزن خشک ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و نسبت وزن تر ساقه‌چه به وزن تر ریشه‌چه بود (جدول ۱). توزیع فنوتیپی برای تمام صفات در شکل ۱ آورده شده است. نتایج نشان از وجود تفرق متجاوز (Transgressive segregation) در جمعیت مورد مطالعه برای کلیه صفات بود. به این شرح که دامنه تغییرات فنوتیپی برای طول ساقه‌چه ۶/۷۹ تا ۱۹/۰۵ سانتی‌متر و میانگین آن ۱۳/۲۶



شکل ۱- توزیع فنوتیپی صفات گیاهی در لاین‌های هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام کاز و مانتنا.

K: کاز، M: مانتنا، A: میانگین جمعیت اینبرد لاین نو ترکیب.

Figure 1. Phenotypic distribution of plant characteristics in wheat inbred lines derived from the Kaz and Mantna cross, K: Kaz mean, M: Mantna and A: Inbred line population mean.

سانتی‌متر بدست آمد. برای این صفت مقدار بدست آمده برای والد کاز (۱۴/۱ سانتی‌متر) بیشتر از مانتنا (۱۰/۵ سانتی‌متر) بود و پراکندگی مقادیر افراد جمعیت در بین دو والد و یا بیشتر و کمتر از دو والد صورت گرفت. برای طول ریشه‌چه نیز نتیجه مشابهی بدست آمد، بطوریکه حداقل طول ریشه‌چه برای جمعیت مورد بررسی ۶/۵ سانتی‌متر از هر دو والد کمتر بود و والد کاز با ۱۰/۳۴ سانتی‌متر مقداری برابر با میانگین جمعیت داشت. برای وزن تر ساقه‌چه والد کاز با ۰/۳۷ گرم نسبت به مانتنا با ۰/۲۸ گرم مقدار بیشتری را نشان داد و برای نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه هر دو والد نسبت به لاین‌های مورد بررسی میانگین کمتری نشان دادند. تفکیک مشاهده شده بر اساس مقادیر فنوتیپی اندازه‌گیری شده برای تعداد ریشه‌چه که صفت مهم برای گیاه بوده و نقش اساسی در زندگی گیاه را ایفا می‌کند، توزیع نرمال نشان داد. برای این صفت نیز والد کاز با ۴/۴ عدد ریشه‌چه برتر از مانتنا با ۳/۶ عدد ریشه‌چه بود و میانگین لاین‌های درون جمعیت در بین دو والد قرار داشت. میزان وزن خشک ریشه‌چه ۰/۳۹ گرم برای والد کاز بدست آمد در حالیکه این مقدار برای والد دیگر (مانتنا) برابر ۰/۲۳۵ گرم بود که هر دو والد نسبت به میانگین جمعیت مقادیر کمتری را نشان دادند که نشان دهنده تفرق متجاوز ژن‌ها در جمعیت می‌باشد. با توجه به اینکه در جمعیت اینبردلاین نوترکیب طی نسل‌های متوالی غالبیت بین ژن‌ها و لینکاژها تقریباً شکسته شده و از بین می‌روند، می‌توان گفت که تفرق

مشاهده شده ناشی از اثر افزایشی ژن‌ها در درون جمعیت می‌باشد. برای وزن خشک ساقه‌چه نیز هر دو والد میزان کمتری نسبت به افراد جمعیت را نشان دادند.

تجزیه کیوتی‌ال: با توجه به اهمیت صفات ریشه خصوصاً در مراحل اولیه رشدی گیاه و تأثیر آن بر دوره زندگی و عملکرد، شناسایی مکان‌های ژنومی حاوی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات می‌توانند به صورت بسیار مؤثر در اصلاح گیاهان برای افزایش عملکرد و تحمل به تنش‌ها به کار گرفته شود. در این مطالعه برای صفات تعداد ریشه‌چه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه به ترتیب ۴، ۲ و ۱ کیوتی‌ال روی کروموزوم‌های 3B، 3D، 6B، 4A، 5A، 3D مکان‌یابی شد (جدول ۲ و شکل ۲). برخی کیوتی‌ال‌های بدست آمده برای صفات ریشه‌چه و ساقه‌چه بر روی یک کروموزوم بودند که این امر احتمالاً به دلیل پیوستگی ژنتیکی ژن‌ها می‌باشد (Poorsahigh et al., 2014). دو کیوتی‌ال QLR-chpgu-3D و QRDW-3D برای طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه به ترتیب در موقعیت ۳/۸۲ و ۳۸/۹۶ سانتی‌مورگان در دو ناحیه متفاوت کروموزوم 3D مکان‌یابی شدند. همچنین روی کروموزوم 4A دو کیوتی‌ال برای تعداد ریشه‌چه با نام‌های QRN-chpgu-4A در موقعیت ۴/۰۱ و QRN-4A در موقعیت ۱۲/۰۴ سانتی‌مورگان و برای وزن خشک ساقه‌چه یک کیوتی‌ال (QSDW-chpgu-4A) در موقعیت ۲۶/۰۱ سانتی‌مورگان مکان‌یابی شد.

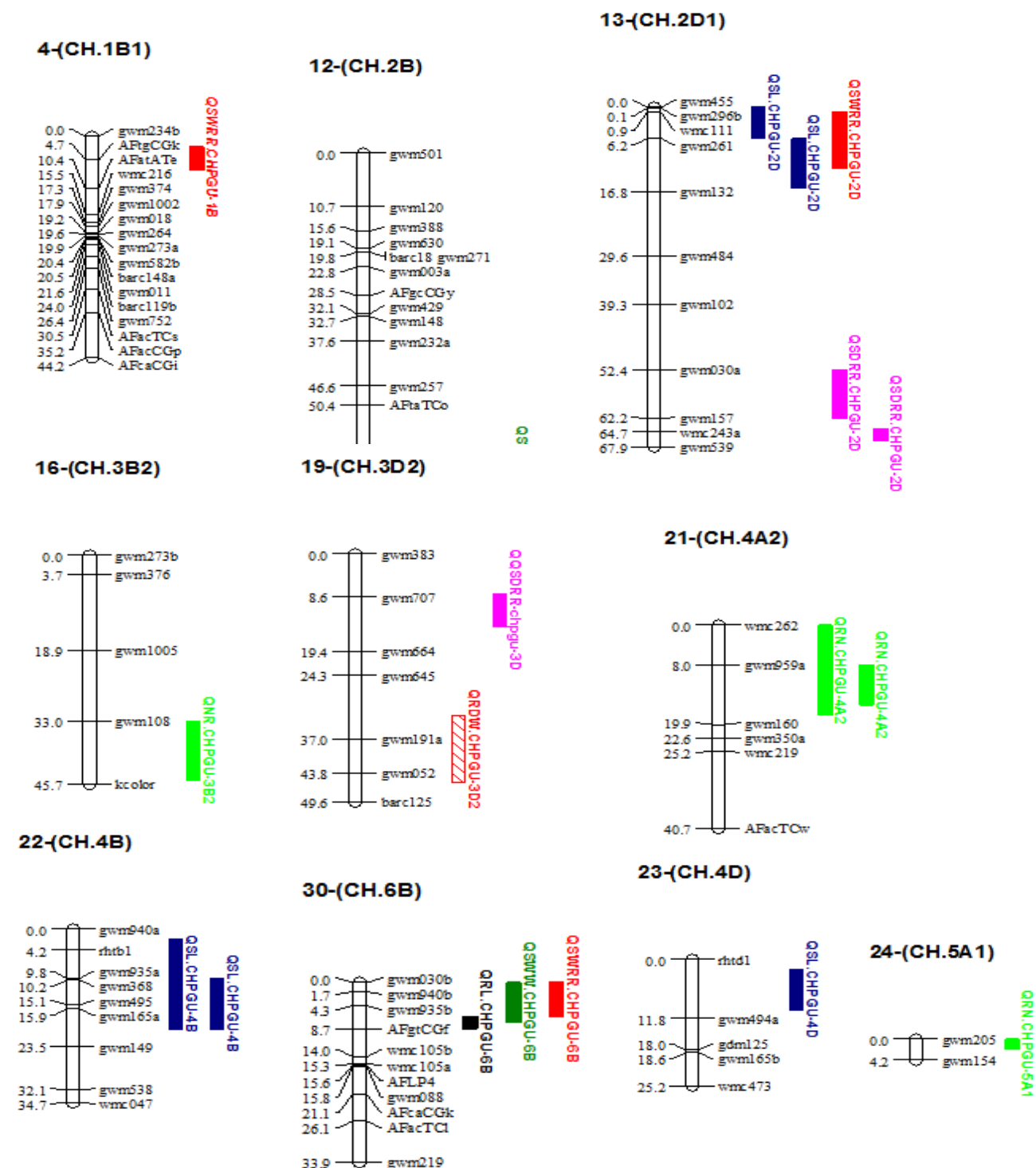
جدول ۱- تجزیه واریانس برای صفات مرتبط با ساقه‌چه و ریشه‌چه (مقادیر ارائه شده میانگین مربعات صفات می‌باشند)

Table 2- ANOVA for stemlet and rootlet related traits (The presented values are mean square)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	تعداد ریشه‌چه Rootlet number	طول ریشه چه Rootlet length	طول ساقه چه stemlet Length	نسبت وزن تر		وزن خشک ساقه‌چه Rootlet dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Stemlet dry weight	وزن تر ساقه‌چه Stemlet wet weight	وزن تر ریشه‌چه Rootlet wet weight
					نسبت وزن تر به ساقه‌چه Stemlet dry weight to Rootlet dry weight ratio	نسبت وزن تر ریشه‌چه به ریشه- خشک ساقه‌چه چه Stemlet wet weight to Rootlet wet weight ratio				
لاین	143	0.37**	21.86**	14.58**	0.68**	0.122**	0.0095**	0.032**	0.164**	0.276**
خطا	288	0.048	1.15	2.05	0.047	0.016	0.0005	0.00057	0.018	0.022
ضریب تغییرات (%) Cv	–	5.56	10.08	10.7	17.9	12.6	14.8	14.94	11.5	12.8

** : Significant at 1% of probability levels

** : معنی دار در سطح ۱ درصد



شکل ۲- مکان QTL‌های شناسایی شده برای صفات گیاهچه‌ای در جمعیت اینبرد لاین نوترکیب؛ کروموزوم (CH) و موقعیت کیوتی‌ال-های صفات تعداد ریشه‌چه (RN)، وزن خشک ساقچه‌چه (SDW)، وزن خشک ریشه‌چه (RDW)، نسبت وزن خشک ساقچه‌چه به وزن خشک ریشه‌چه (SDRR)، نسبت وزن تر ساقچه‌چه به وزن تر ریشه‌چه (SWRR)، طول ساقچه‌چه (SL)، طول ریشه‌چه (RL) و وزن تر ساقچه‌چه (SWW).

Figure 2. The identified QTLs location for seedling stage traits in RIL population; chromosome (CH) and QTLs position for rootlet number (RN), Stemlet dry weight (SDW), Rootlet dry weight (RDW), Stemlet dry weight to rootlet dry weight ratio (SDRR), Stemlet wet weight to rootlet wet weight ratio (SWRR), Stemlet Length (SL), Rootlet length (RL) and Stemlet wet weight (SWW).

مکان‌یابی شد و تنها ۰/۰۲ سانتی‌مورگان با نشانگر Gwm707 فاصله داشت و دارای اثر افزایشی مثبت بوده و ۱۲/۸۳ درصد از تنوع موجود برای این صفت را بیان نمود. این کیوتی‌ال از والد کاز به ارث رسید.

کیوتی‌ال‌های به ارث رسیده از والد کاز پس از تأیید صحت نتایج در طی آزمایشات تکمیلی و بررسی نشانگرهای مرتبط در ارقام مختلف، می‌توانند دست‌یافت‌های آتی را تقویت نموده و پتانسیل استفاده از کیوتی‌ال‌ها در برنامه انتخاب به کمک نشانگر جهت اصلاح گندم در مرحله گیاهچه را افزایش دهند. وجود کیوتی‌ال‌های مهم به ارث رسیده از والد متحمل به گرما (کاز) روی ژنوم D توانایی این ژنوم نسبت به دو ژنوم دیگر در انتقال مجدد مواد، ایجاد ریشه و ساقه قوی را نمایان می‌سازد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که مناطق ژنتیکی کنترل کننده صفات مهم مربوط به مراحل گیاهچه‌ای گندم در این آزمایش از والد کاز به ارث رسیدند و این مناطق ژنتیکی بیشتر روی دو ژنوم B و D قرار داشتند.

با توجه به اینکه جوانه‌زنی سریع و داشتن ویژگی‌های مطلوب در تولید ریشه‌چه و ساقه‌چه از عوامل اصلی استقرار سریع و پایدار گیاهچه و تضمین کننده دوام آن در مقابل عوامل نامساعد محیطی است، انجام مطالعات پایه مانند مطالعه اخیر در شناسایی کیوتی‌ال‌های کنترل کننده صفات مرتبط با ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌تواند در پیشبرد هدفمند برنامه‌های اصلاحی بویژه برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگرها مفید واقع شود.

سپاسگزاری

از پروفیسور پتریک برن استاد دانشگاه ایالتی کلرادوی آمریکا به خاطر در اختیار گذاشتن جمعیت اینبرد لاین نوترکیب برای انجام این آزمایش تشکر و قدردانی می‌گردد.

هر سه کیوتی‌ال کوچک اثر بوده و میزان تنوع ناچیزی برای صفات یاد شده را بیان کردند. بای و همکاران (Bai et al., 2013) در مطالعات خود گزارش کردند که کیوتی‌ال‌ها می‌توانند برای صفات ریشه و ساقه به صورت مجزا و یا به صورت هم مکان، مکان‌یابی شوند و حتی می‌توانند با صفات مرتبط با مراحل بلوغ گیاه همچون وزن هزار دانه و ارتفاع هم‌مکان باشند. در صورت قرار داشتن کیوتی‌ال‌ها برای صفات مختلف بر روی یک کروموزوم عملیات انتخاب و انتقال این کیوتی‌ال‌ها تسهیل خواهد شد. کیوتی‌ال QRN-chpgu-5A، ۱۲/۷۷ درصد از تنوع فنوتیپی برای تعداد ریشه‌چه را بیان کرد و در موقعیت ۰/۰۱ سانتی‌مورگان در بین دو نشانگر - gwm154 gwm205 قرار داشت. در یک آزمایش مشابه کریستوفر و همکاران (Christopher et al., 2013) نیز کیوتی‌ال‌های تعداد ریشه‌چه را روی کروموزوم 4A گزارش کردند. لیو و همکاران (Liu et al., 2013) نیز نشان دادند که برخی کیوتی‌ال‌های مربوط به تعداد ریشه-چه روی کروموزوم 5A و 3B قرار دارند. کیوتی‌ال QRL-chpgu-6B برای تعداد ریشه‌چه ۱۱/۱۳ درصد از تنوع فنوتیپی را بیان کرد. کیوتی‌ال QSL-chpgu-4D برای طول ساقه‌چه با بیشترین $R^2=19/58$ و $LOD=6/34$ در ناحیه ۸/۰۱ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 4D بدست آمد و اثر افزایشی مثبت (۱/۲۹۵) روی ساقه نشان داد. نشانگر gwm494a کمترین فاصله را با کیوتی‌ال مذکور داشت که این نشانگر نیز پتانسیل استفاده در برنامه انتخاب به کمک نشانگر را داراست. در مطالعات قبلی الیس و همکاران (Ellis et al., 2002) نیز ژن‌های پاکوتاهی را بر روی کروموزوم 4D گزارش کردند که می‌تواند نشان از اهمیت این کروموزوم و دارا بودن کیوتی‌ال‌های مهم مرتبط با نمو و مورفولوژی ساقه باشد. کیوتی‌ال QSDRR-chpgu-6B برای نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه روی کروموزوم 3D و در موقعیت ۸/۵۷ سانتی‌مورگان

جدول ۲- کیوتی‌ال‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با ساقچه و ریشه‌چه

Table 2. Detected QTLs for stemlet and rootlet related traits

صفت trait	نام کیوتی‌ال QTL name	جایگاه Position	شماره کروموزوم Chromosome number	LOD	نشانه‌گرهای مجاور Flanking marker	ضریب تبیین اثر افزایشی AD	R ²
طول ساقچه Stemlet Length	QSL-chpgu-4D	8.01	4D	6.34	rhtd1 - gwm494a (3.82)*	1.295	0.1958
	QSL-chpgu-4B	10.23	4B	2.34	gwm368 - gwm495 (0.01)	-0.6674	0.0543
	QSL-chpgu-4B	8.18	4B	2.33	rhtb1 - gwm935a (1.57)	-0.6927	0.0590
	QSL-chpgu-2D	12.19	2D	2.33	gwm261 - gwm132(4.6)	-0.7659	0.0764
طول ریشه‌چه Rootlet length	QSL-chpgu-2D	4.91	2D	2.12	wmc111 - gwm261 (1.28)	-0.6820	0.0605
	QRL-chpgu-6B	8.26	6B	3.58	gwm935b - AftgCGf(0.402)	0.8004	0.1113
	QRL-chpgu-3D	3.82	3D	2.35	AfgcCGb - wmc011a (0.005)	-0.5145	0.063
	QRN-chpgu-3B	43.03	3B	2.42	gwm108 - kcolor(2.43)	0.1154	0.0775
تعداد ریشه‌چه Rootlet number	QRN-chpgu-4A	4.01	4A	2.60	wmc262 - gwm959a (4.01)	-0.9411	0.0827
	QRN-chpgu-4A	12.04	4A	2.33	gwm959a - gwm160(4.012)	-0.1165	0.0785
	QRN-chpgu-5A	0.01	5A	3.23	gwm205 - gwm154(0.01)	-0.1476	0.1277
وزن خشک ساقچه Stemlet dry weight	QSDW-chpgu-4A	26.01	4A	2.61	gwm601 - gwm397a (4.09)	-0.0065	0.0747
وزن خشک ریشه‌چه Rootlet dry weight	QRDW-chpgu-3D	38.96	3D	3	gwm191a - gwm052(2)	-0.0064	0.0986
	QSDRR-chpgu-2D	60.38	2D	2.06	gwm030a - gwm157(1.8)	-0.0976	0.0889
نسبت وزن خشک ساقچه به ریشه Stemlet dry weight to rootlet dry weight ratio	QSDRR-chpgu-2D	66.72	2D	2.86	wmc243a - gwm539(1.08)	-0.1082	0.1107
	QSDRR-chpgu-3D	8.57	3D	4.2	Gwm707 - gwm664(0.02)	0.1173	0.1283
وزن تر ساقچه Stemlet wet weight	QSWW-chpgu-2B	65.81	2B	3.4	wmc025 - wmc243b(0.01)	-0.1332	0.0927
نسبت وزن تر ساقچه به ریشه‌چه Stemlet wet weight to rootlet wet weight ratio	QSWW-chpgu-6B	1.7	6B	2.36	gwm940b - gwm935b(0.02)	-0.1111	0.0672
	QSWRR-chpgu-1B	2.58	1B	2.58	AftgCGk - AfatATe(0.02)	0.1056	0.0810
نسبت وزن تر ساقچه به ریشه‌چه Stemlet wet weight to rootlet wet weight ratio	QSWRR-chpgu-2D	6.19	2D	2.04	gwm261 - gwm132(0.02)	-0.0882	0.0536
	QSWRR-chpgu-6B	4.26	6B	2.65	gwm935b - AftgCGf(0.01)	-0.0851	0.0511

- اعداد درون پرانتز بیانگر فاصله کیوتی‌ال تا نزدیکترین نشانه‌گر مجاور می‌باشد.

- اثر افزایشی مثبت یا منفی نشان‌دهنده این است که آلل افزایشنده به ترتیب از والد کاز یا مانتانا به ارث می‌رسد. در مواردی که نشانه‌گر مجاور کیوتی‌ال از نوع AFLP است، جهت توارث آلل افزایشنده برعکس روند عمومی است (+ از مانتانا و - از کاز).

- LOD: نسبت بیشترین درست‌نمایی وجود کیوتی‌ال به عدم وجود کیوتی‌ال در هر جایگاه بین دو نشانه‌گر مجاور

- R²: ضریب تبیین

- AD: اثر افزایشی برای صفات مختلف

- Numbers in parenthesis indicate interval to nearest flanking marker

- Negative or positive additive effect showed the heredity of alleles from Kaz or Montana, respectively. When the flanking marker of QTLs are AFLP, the sign of heredity of additive allele was inverse to common process (+from Montana and - from Kaz).

- LOD: Logarithmic of odds

- R²: Coefficient of determination

- AD: Additive effect for different treats

References

- Araki, H. and Iijima, M. (2001). Deep rooting in winter wheat: rooting nodes of deep roots in two cultivars with deep and shallow root systems. *Plant Production Science*, **4**: 215-219.
- Bai, C., Liang, Y. and Hawkesford, M.J. (2013). Identification of QTLs associated with seedling root traits and their correlation with plant height in wheat. *Journal of Experimental Botany*, **6**:1745-1753.
- Bhar, S., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. (2014). Quantitative trait loci analysis for some root traits in bread wheat (*triticum aestivum* L.). *International Journal of Agricultural Sciences*, **7**: 214-221.

- Christopher, J., Jennings, R., Jones, S., Fletcher, S., Borrell, A. M. A., Jordan, D., Mace, E. and Hammer, G.** (2013). QTL for root angle and number in a population developed from bread wheats (*Triticum aestivum*) with contrasting adaptation to water-limited environments. *Theoretical and Applied Genetics*, **126**:1563-1574.
- Dorlodot, S.D., Forester, B., Pages, L., Price, A., Tuberosa, R. and Draye, X.** (2007). Root system architecture: opportunities and constructions for genetic improvement crops. *Trends in Plant Science*, **10**: 474-481.
- Ellis, M.H., Spielmeyer, W., Gale, K.R., Rebetzke, G.J. and Richards, R.A.** (2002). Perfect's markers for the Rht B1b and Rht D1b dwarfing genes in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, **105**: 1038-1042.
- Gregory, P.** (2006). *Roots and the architecture of root systems*. In: Plant roots: growth, activity and interactions with soils. Oxford, Blackwell Publishing, UK.
- Gupta, P.K., Balyan, H.S. and Varshney, R.K.** (2010). Quantitative genetics and plant genomics: an overview. *Molecular Breeding*, **26**: 133-134.
- Hamada, A., Nitta, M., Nasuda, S., Kato, K., Fujita, M. and Matsunaka, H.** (2012). Novel QTLs for growth angle of seminal roots in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil*, **354**: 395-405.
- Ibrahim, A., and Quick, J.S.** (2001). Genetic control of High temperature tolerance in wheat as measured by membrane thermal. *Crop Science*, **41**:1405-7.
- Landjeva, S., Neumann, K., Lohwasser, U. and Borner, A.** (2008). Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under osmotic stress. *Biologia Plantarum*, **52**: 259-266.
- Liu, X.L., Li, R.Z., Chang, X. P. and Jing, R.L.** (2013). Mapping QTLs for seedling root traits in a doubled haploid wheat population under different water regimes. *Euphytica*, **189**: 51-66.
- Lu, C.X., Guo, J.Q., Wang, Y., Leng, J.T., Yang, G.M., Hou, W.S., Wu, C.X. and Han, T.F.** (2010). Identification, inheritance analysis, and QTL mapping of root and shoot traits in soybean variety PI471938 with tolerance to wilting. *Acta Agronomica Sinica*, **36**: 1476-1483.
- Manske, G.G.B. and Vlek, P.L.G.** (2002). *Root architecture—wheat as a model plant*. In: Waisel Y., Eshel A., Kafkafi, U. (Eds). Plant roots: the hidden half. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Modarresi, M.** (2009). *QTL Analysis for yield, yield component and thermal tolerance in wheat (Triticum aestivum)*. Ph.D. Thesis. Tehran University, Tehran, Iran.
- Mohammadi, V., Qannadha, M.R., Zali, A.A., and Yazdi-Samadi, B.** (2004). Effect of post anthesis heat stress on head traits of wheat. *International Journal of Agriculture and Biology*, **6**: 42-44.
- Poorsahrigh, S.G., Mohammadi, S.A. and Sadeghzadeh, B.** (2014). Identification of genomic origins controlling iron concentration and content in shoot of barley in A × B doubled haploid mapping population. *Journal of Plant Genetic Researches*, **1** (1):1-12.
- Rong, Z., Chen, H., Wang, X., Wu, B., Chen, S., Zhang, X., Wu, X., Yang, Z., Qiu, D., Jiang, M. and Zhou, X.** (2011). Analysis of QTLs for root traits at seedling stage in soybean. *Acta Agronomica Sinica*, **7**: 1151-1158.
- Zhou, R., Chen, H.F., Wang, X.Z., Wu, B.D., Chen, S.L., Zhang, X.J., Wu, X.J., Yang, Z.L., Qiu, D.Z., Jiang, M.L. and Zhou, X.-A.** (2011). Analysis of QTLs for Root Traits at Seedling Stage in Soybean. *Acta Agronomica Sinica*, **37**: 1151-1158.
- Sanguinet, M.C., Maccaferri, L.S., Cornet, M., Rotondo, S.F., Chiar, T. and Tuberosa, R.** (2007). Genetic dissection of seminal root architecture in elite durum wheat germplasm. *Annals of Applied Biology*, **151**: 291-305.
- Sun, G.Y., He, Y., Zhang, R.H. and Zhang, D.P.** (1996). Studies on growth and activities of soybean root. *Soybean Science*, **15**: 317-321.
- Voorrips, R.E.** (2002). MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, **93**:77-78.
- Wang, S.C., Basten, C.J. and Zeng, Z.B.** (2005). Windows QTL cartographer 2.5, user manual. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, N.C., USA.
- Yang, M., Ding, G., Shi, L., Feng, J., Xu, F. and Meng, J.** (2010). Quantitative trait loci for root morphology in response to low phosphorus stress in *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*, **121**: 181-193.
- Zhang, H., Cui, F., Wang, L., Li, J., Ding, A., Zhao, C., Bao, Y., Yang, Q. and Wang, H.** (2013). Conditional and unconditional QTL mapping of drought-tolerance-related traits of wheat seedling using two related RIL populations. *Journal of Genetics*, **92**: 213-231.
- Zhou, X.G., Jing, R.L., Hao, Z.F., Chang, X.P. and Zhang, Z.B.** (2005). Mapping QTL for seedling root traits in common wheat. *Scientia Agrícola*, **38**: 1951-1957.
- Zhu, J., Kaeppler, S.M. and Lynch, J.P.** (2005). Mapping of QTL controlling root hair length in maize (*Zea mays* L.) under phosphorus deficiency. *Plant and Soil*, **270**: 299-310.

QTLs Associated with Stemlet and Rootlet Growth in the Early Stages of Germination of Wheat

Mohsen Barajehfard¹, Mohammad Reza Siahpoosh^{2,*} and Mohammad Modarresi³

1. M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- 2- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

(Received: September 11, 2016 – Accepted: December 28, 2016)

Abstract

In order to identify QTLs associated with stemlet and rootlet growth in the early stages of germination of wheat, 144 recombinant inbred lines derived from the cross of Kaz and Mantana were evaluated in a completely randomized design. The linkage map using composite interval by 234 microsatellite (SSR) primers and 267 AFLP loci have been already prepared in this population which covered 20 chromosomes of wheat. For root length, 1, 2 and 2 QTLs were located on 4D, 4B and 2D chromosomes, respectively. Two QTLs of rootlet length was located on 6B and 3D chromosomes. The QTLs of rootlet number were identified on 4A, 5A and 3B chromosomes. For each of stemlet dry weight (SDW) and rootlet dry weight (RDW) traits only one QTL identified on 4A and 3D chromosomes, respectively. Overall, for SDW to RDW ratio on 2D and 3D chromosomes, three QTLs were located. The QTLs of stemlet wet weight (SWW) were detected on 6B and 2B chromosomes. On 1B, 2D and 6B chromosomes, three QTLs were recognized for SWW to RWW ratio. For all traits, the range of LOD = 2.04-6.34 and R² = 5.11-19.58 were calculated. The highest amount of LOD and R² (5.11 and 19.58, respectively) were obtained for rootlet length QTL (QSL-chpgu-4D). The least distance to the nearest adjacent marker (AFgcCGb marker) was 0.005 Centi-Morgan which belonged to rootlet length QTL (QRL-chpgu-3D) on 3D chromosome.

Keywords: Stemlet, QTL, Seedling, Wheat, Rootlet

* Corresponding Author, E-mail: Siahpoosh@scu.ac.ir