

## مکان یابی QTL های کنترل کننده عملکرد ریشه و خصوصیات برگ چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) در شرایط تنش خشکی

### QTL mapping for root yield and leaf traits in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under drought stress condition

اباذر رجیبی<sup>۱</sup> و دیتریش بورچارد<sup>۲</sup>

#### چکیده

رجیبی، ا و د. بورچارد. ۱۳۹۴. مکان یابی QTL های کنترل کننده عملکرد ریشه و خصوصیات برگ چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله علوم زراعی ایران. ۱۷(۱): ۶۲-۴۶.

تنش خشکی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده محیطی تولید چغندر قند در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران است. تهیه ارقام متحمل به خشکی یک روش پایدار برای مقابله با این محدودیت است. تهیه این ارقام مستلزم شناسایی اساس ژنتیکی و جایگاه ژنومی (QTL) صفات مرتبط با تحمل به خشکی می باشد. با توجه به اینکه این صفات کمی بوده و بررسی فنوتیپی آنها بخصوص در شرایط مزرعه مشکل است، بنابراین گزینش به کمک نشانگر ابزار مناسبی برای رفع این مشکل می باشد. به منظور شناسایی نواحی ژنومی عملکرد ریشه و برخی از خصوصیات برگ شامل تعداد برگ، میزان کلروفیل برگ، وزن مخصوص برگ، میزان پوشش سبز، تمایز ایزوتوپ کربن ( $\Delta$ )، ضریب آبداری برگ، نمره پژمردگی برگ و نمره پیری برگ، ۱۴۲ فامیل F2:3 چغندر قند حاصل از تلاقی دو لاین والدینی R49 (متحمل) و S501 (حساس) در قالب یک طرح لاتیس ساده در شرایط تنش و بدون تنش کم آبی در سال ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات مطهری کرج مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه پیوستگی با استفاده از ۷۵۹ نشانگر ریزوماهواره (SSR) و چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) و براساس حداقل LOD برابر ۲/۵ انجام گرفت. برای صفات مورد مطالعه در دو شرایط، هیجده QTL مکان یابی شدند. بیشترین تعداد QTL روی کروموزوم های ۴ و ۶ قرار داشت و به نظر می رسد که این دو کروموزوم در کنترل ژنتیکی صفات مورد مطالعه نقش مهمی دارند. در شرایط بدون تنش، یک QTL برای هر یک از صفات وزن مخصوص برگ و ضریب آبداری برگ، دو QTL برای عملکرد ریشه و پنج QTL برای میزان دلتا شناسایی شدند. در شرایط تنش، یک QTL برای هر یک از صفات عملکرد ریشه، تعداد برگ، میزان کلروفیل، ضریب آبداری برگ و نمره پیری برگ، و دو QTL برای هر یک از صفات دلتا و نمره پژمردگی برگ مکان یابی شدند. میزان واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله هر QTL از ۱۰/۶۳ تا ۲۵/۷۰ درصد در شرایط بدون تنش و از ۹/۱۲ تا ۲۱/۸۸ درصد در شرایط تنش خشکی متغیر بود. در شرایط تنش، QTL مربوط به عملکرد ریشه با QTL پیری برگ هم مکان بود. به نظر می رسد که نشانگرهای دارای پیوستگی زیاد با QTL های بزرگ اثر، به ویژه QTL های عملکرد ریشه (qRY4s)، پیری برگ (qSen4s) و پژمردگی برگ (qWilt4s)، می توانند در برنامه های گزینش به کمک نشانگر برای گزینش لاین های برتر و نیز انتقال آلل های مطلوب به ارقام اصلاحی چغندر قند مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: تمایز ایزوتوپ کربن، تجزیه پیوستگی، تنش خشکی، چغندر قند و وزن مخصوص برگ.

## مقدمه

تنش خشکی یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان از جمله ایران محسوب می شود. تهیه و معرفی ارقام متحمل به خشکی برای این مناطق از اهمیت خاصی برخوردار است، اما در این زمینه محدودیت هایی وجود دارد از جمله: عدم وجود صفات کاملاً شناخته شده ای که باعث ایجاد تحمل به خشکی می شوند، چندژنی بودن صفت تحمل به خشکی، وقوع همزمان بیش از یک تنش و وقت گیر و پرهزینه بودن روش های فعلی ارزیابی و گزینش. در این مناطق به نژادگران نیاز به شناسایی کامل فرایندهای تعیین کننده عملکرد محصول دارند. با توجه به وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در درون ژرم پلاسما چغندرقد، امکان اصلاح ارقام چغندرقد برای تحمل به تنش های غیرزیستی از جمله خشکی، شوری، گرما و سرما وجود دارد (Ober and Rajabi, 2011; Rajabi and Ober, 2012; Sadeghian et al., 2000).

از آنجایی که وجود اثر متقابل ژنوتیپ و محیط، پیشرفت ژنتیکی حاصل از گزینش برای افزایش عملکرد در محیط های کم آب را کند نموده است (Ludlow and Muchow, 1990)، لذا انتخاب بر اساس اجزای عملکرد و صفات ثانویه مورد تأکید قرار گرفته است. نتایج آزمایش های قبلی وجود ارتباط بین شاخص تحمل به خشکی (STI) و برخی صفات مورفوفیزیولوژیک چغندرقد از جمله میزان پوشش سبز، ضریب آبداری برگ، وزن ویژه برگ (نسبت وزن خشک برگ به مساحت برگ)، تمایز ایزوتوپ کربن ( $\Delta$ ) (به عنوان معیار کارایی مصرف آب)، پژمردگی و پیری برگ را نشان داده است (Ober et al., 2005; Rajabi et al., 2009).

کارایی مصرف آب (WUE)، صفتی است که بهبود آن به ویژه در محیط های کم آب، به عنوان یک صفت مطلوب محسوب می شود. معلوم شده است که WUE با

تمایز ایزوتوپ کربن ( $\Delta$ ) در گیاهان سه کربنه ( $C_3$ ) رابطه منفی دارد (Rajabi et al., 2008; Rajabi et al., 2009). با انجام گزینش براساس  $\Delta$ ، دو رقم گندم در استرالیا اصلاح شده و در اختیار کشاورزان قرار گرفته است که در شرایط تنش خشکی شدید بطور متوسط ۱۰ درصد عملکرد دانه بالاتری نسبت به ارقام شاهد دارند (Condon et al., 2004). یکی از روش های موثر برای بهبود عملکرد در شرایط تنش خشکی، شناسایی مکان های ژنی صفات کمی (QTL) و سپس انتخاب به کمک نشانگر است. تجزیه QTL و شناسایی QTL های مرتبط با تحمل به خشکی در گیاهان زراعی مختلف صورت گرفته است (Bidinger et al., 2007; Levi et al., 2009). اولین رقم متحمل به خشکی برنج که با روش تجزیه QTL تهیه شده با نام Birsā Vikas Dhan 111 اخیراً معرفی شده است (Steele et al., 2013). تجزیه QTL در چغندرقد منجر به شناسایی QTL های مربوط به عملکرد و عیار قند و مقاومت به بیماری های مهم از جمله ریزومانیا و پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه شده است، اما این روش تاکنون برای تنش های غیرزیستی در چغندرقد به کار گرفته نشده است. هدف از این تحقیق، مکان یابی QTL های کنترل کننده عملکرد ریشه و برخی از صفات برگ چغندرقد در دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی و شناسایی نشانگرهای پیوسته با آنها به منظور انتخاب به کمک نشانگر است.

## مواد و روش ها

در این تحقیق، ۱۴۲ فامیل  $F_{2:3}$  به همراه دو والد اولیه R49 (متحمل) و S501 (حساس) که در آزمایش های قبلی واکنش های متفاوتی به تنش خشکی از لحاظ مصرف آب، WUE، میزان کلروفیل و  $\Delta$  نشان داده بودند (Rajabi et al., 2008) در قالب طرح لاتیس ساده  $12 \times 12$  در دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی در

ایستگاه تحقیقات مهندس مطهری کرج در سال ۱۳۸۹ مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر کرت شامل دو خط به طول ۳/۵ متر با فاصله ۵۰ سانتی متر بود که در تاریخ ۲۵ خرداد کشت شد. فاصله بین بوته‌ها روی خط بعد از تنک ۲۰ سانتی متر بود. تا مرحله تنک و وجین (استقرار بوته‌ها) آبیاری با سیستم نشتی در هر دو شرایط به طور یکسان و بر اساس ۹۰ میلی متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A صورت گرفت و بعد از آن، آبیاری گیاهان در شرایط تنش بر اساس ۲۰۰ میلی متر تبخیر ادامه یافت. در طول فصل رشد، صفاتی از قبیل تعداد برگ، میزان پوشش سبز گیاهی، میزان کلروفیل برگ، وزن ویژه برگ، ضریب آبداری برگ،  $\Delta$ ، نمره پژمردگی برگ و نمره پیری برگ یادداشت برداری شد.

برای اندازه گیری میزان کلروفیل برگ از دستگاه کلروفیل سنج (SPAD, Minolta, Japan) استفاده شد. این صفت روی پنج بوته از هر کرت و در روی چهار قسمت از برگ میانی هر بوته اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن ویژه برگ از یک برگ کاملاً توسعه یافته (برگ دوازدهم) در پنج بوته از هر کرت استفاده شد. این صفت با اندازه گیری مساحت (سانتی متر مربع)، و وزن تر و وزن خشک برگ (بر حسب گرم) محاسبه شد. نمونه‌های برگ تا رسیدن به وزن ثابت در آون (دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت حدود ۴۸ ساعت) خشک شد. وزن ویژه برگ (SLW) بر حسب گرم بر سانتی متر مربع با استفاده از نسبت وزن خشک به سطح برگ محاسبه شد (Ober et al., 2005). ضریب آبداری برگ نیز با استفاده از نسبت تفاضل وزن تر و وزن خشک برگ به سطح برگ محاسبه شد (Ober et al., 2005). ارزیابی پژمردگی و پیری برگ بر اساس مقیاس صفر تا ۵ اوبر و همکاران (Ober et al., 2005) صورت گرفت.

$$\delta^{13}C = [(R_{Crop} - R_{Standard}) / R_{Standard}] \times 1000 \quad (1)$$

در این رابطه R (Ratio) نسبت  $^{13}C/^{12}C$  [بر حسب قسمت در هزار (ppm)] است. ترکیب ایزوتوپی مواد گیاهی با توجه به یک استاندارد بین‌المللی به نام (Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB) با دقت یک دهم در هزار تعیین شد. با توجه به اینکه مقدار R برای هوا و بافت‌های گیاهی کمتر از VPDB می‌باشد، بنابراین ترکیب ایزوتوپی هوا ( $\delta^{13}Ca$ ) و مواد گیاهی ( $\delta^{13}Cp$ ) همواره دارای مقادیر منفی می‌باشند (Farquhar and Richards, 1984).

تفاوت‌های ایزوتوپی بین دی‌اکسید کربن هوا و دی‌اکسید کربن تثبیت شده در مواد گیاهی دارای مقدار مثبتی بنام دلتا ( $\Delta$ ) است که بر اساس رابطه ۲ محاسبه می‌شود:

$$\Delta = (\delta^{13}Ca - \delta^{13}Cp) / (1 + \delta^{13}Cp) \quad (2)$$

در این تحقیق، مبنای مقایسه ژنوتیپ‌های چغندر قند از نظر ایزوتوپ‌های کربن، مقادیر محاسبه شده  $\Delta$  بود. تعیین ژنوتیپ افراد در شرکت بذر KWS آلمان انجام شد. برای این منظور، نمونه برگ‌گی از ۱۰ بوته از هر لاین و والدین برداشت و DNA به روش CTAB (Saghai Maroof et al., 1984) استخراج و کمیت و کیفیت نمونه‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتر تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل واسرشته سازی اولیه به مدت چهار دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۵ چرخه با واسرشته سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه و بسط در

برای اندازه گیری  $\Delta$  ابتدا نمونه‌های برگ خشک شده با یک آسیاب ساچمه‌ای

بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از تنوع کمی و پیوسته آنها بود. همه صفات مورد بررسی از تنوع کمی زیادی برخوردار بوده و توزیع فراوانی نرمالی را در هر دو شرایط بدون تنش (شکل ۱) و تنش خشکی (شکل ۲) نشان دادند. دو لاین والدینی برای همه صفات به ویژه دلتا به طور واضحی از یکدیگر متمایز شدند. تنش خشکی مقدار دلتا را در S501 بیشتر از R49 کاهش داد. همچنین، لاین R49 دارای میزان کلروفیل برگ بیشتر (۷۳/۸۸) نسبت به لاین S501 (۶۱/۸۴) در شرایط تنش بود. در همین شرایط و به علاوه در شرایط بدون تنش، مقدار ضریب آبداری برگ نیز در لاین R49 (۵۵/۹۸ گرم بر سانتی متر مربع) بیشتر از لاین S501 (۳۴/۵۸ گرم بر سانتی متر مربع) بود. در این آزمایش، در هر دو شرایط برای اغلب صفات تفکیک متجاوز (تفرق برتر از والدین) مشاهده گردید که بیانگر ماهیت کمی صفات است (شکل های ۱ و ۲). به عنوان مثال، در شرایط تنش میزان کلروفیل برگ از ۴۸/۶۸ تا ۷۶/۵۶ و مقدار دلتا از ۱۸/۱۵ ppm تا ۲۰/۶۵ متغیر بود. وجود تفکیک متجاوز در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (Zeng, 1994).

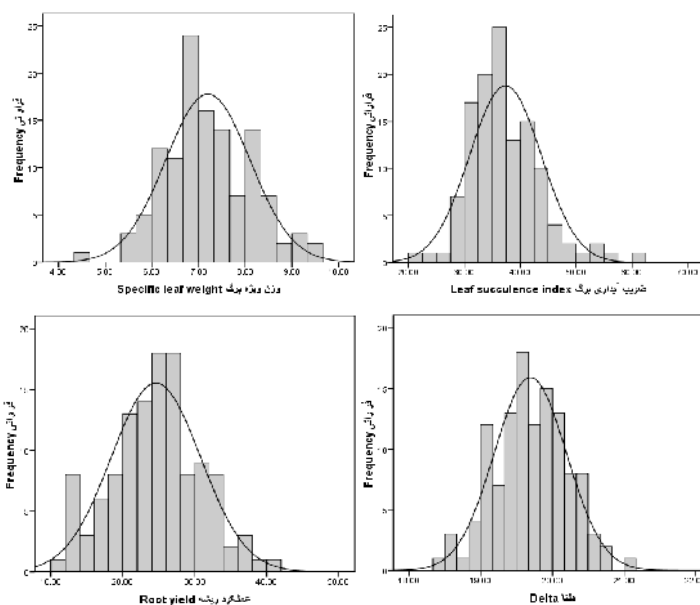
با توجه به نقشه پیوستگی، نشانگرها توزیع یکنواختی داشتند (شکل ۳). نقشه پیوستگی حاصل، در آزمایش حاضر، تعداد معدودی از نواحی کروموزومی، به ویژه در کروموزوم های ۸ و ۹، با نشانگرها پوشش داده نشدند. بنابراین، هنگام تفسیر نتایج QTL این آزمایش باید به این فواصل خالی توجه داشت. چنین فواصلی در چغندر قند توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (Schneider et al., 2002; Reif et al., 2010).

در شرایط بدون تنش، یک QTL برای هر یک از صفات ضریب آبداری برگ (*qSI6n*) با اثر افزایشی ۲/۴۱- روی کروموزوم ۶، وزن ویژه برگ (*qSLW6n*) با اثر افزایشی ۰/۴۸- روی کروموزوم ۶،

دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد بود. محصولات تکثیر با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید چهار درصد در دستگاه ژل اسکن تفکیک شدند. پس از استخراج و تکثیر DNA، انجام الکتروفورز و نمره دهی لاین ها، نقشه لینکاژی با استفاده از ۷۵۹ نشانگر ریزماهواره (SSR) و چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) و با استفاده از نرم افزار 4 JoinMap تهیه شد. گروه های لینکاژی با در نظر گرفتن حداقل  $LOD=2/5$  و با استفاده از تابع کوزامبی جهت تبدیل فراوانی نوترکیبی به فاصله ژنتیکی برحسب سانتی مورگان تعیین شد. داده های ژنوتیپینگ و نقشه های لینکاژی از داده های تحقیق دیگری بر روی همین جمعیت بدست آمده و نقشه پایه توسط شرکت KWS تهیه شده است (بورچارد، داده های منتشر نشده). تجزیه و تحلیل مولکولی داده ها با استفاده از نشانگرهای چندشکل که در جمعیت  $F_2$  آزمون شدند، صورت گرفت. نقشه گرافیکی کروموزوم ها با استفاده از نرم افزار MapChart v. 2.1 (Voorrips, 2002) ایجاد شد. تعیین QTL ها و برآورد اندازه اثرات آنها با روش مکان یابی فاصله ای مرکب (Zeng, 1994) و با استفاده از نرم افزار PlabMQTL (Utz, 2011) برای شرایط بدون تنش و تنش کم آبی بطور جداگانه انجام شد. نشانگرهای پس زمینه (cofactor) از طریق رگرسیون گام به گام تعیین شد. برای تعیین آستانه معنی دار شناسایی QTL ها از آزمون جایگشت یا چرخش داده ها (permutation test) با ۱۰۰۰ بار چرخش در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. براین اساس، مقادیر LOD بالای ۲/۵ به عنوان معیار وجود QTL در نظر گرفته شد. برای QTL های شناسایی شده، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت محاسبه شد.

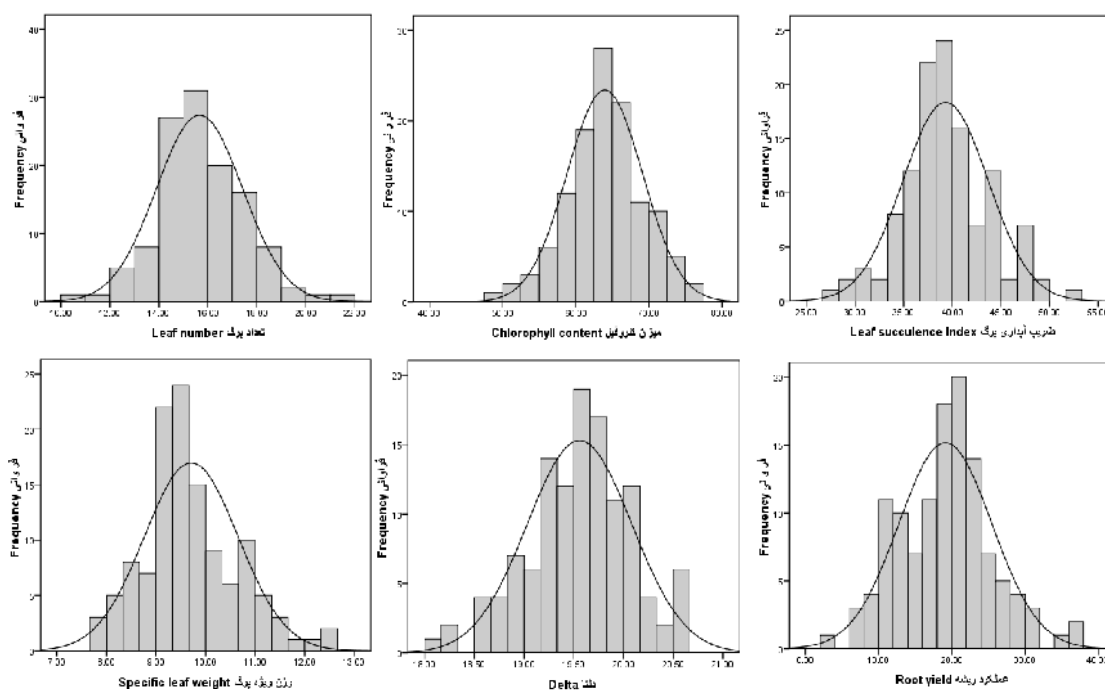
## نتایج و بحث

" مکان یابی QTL های کنترل کننده... "



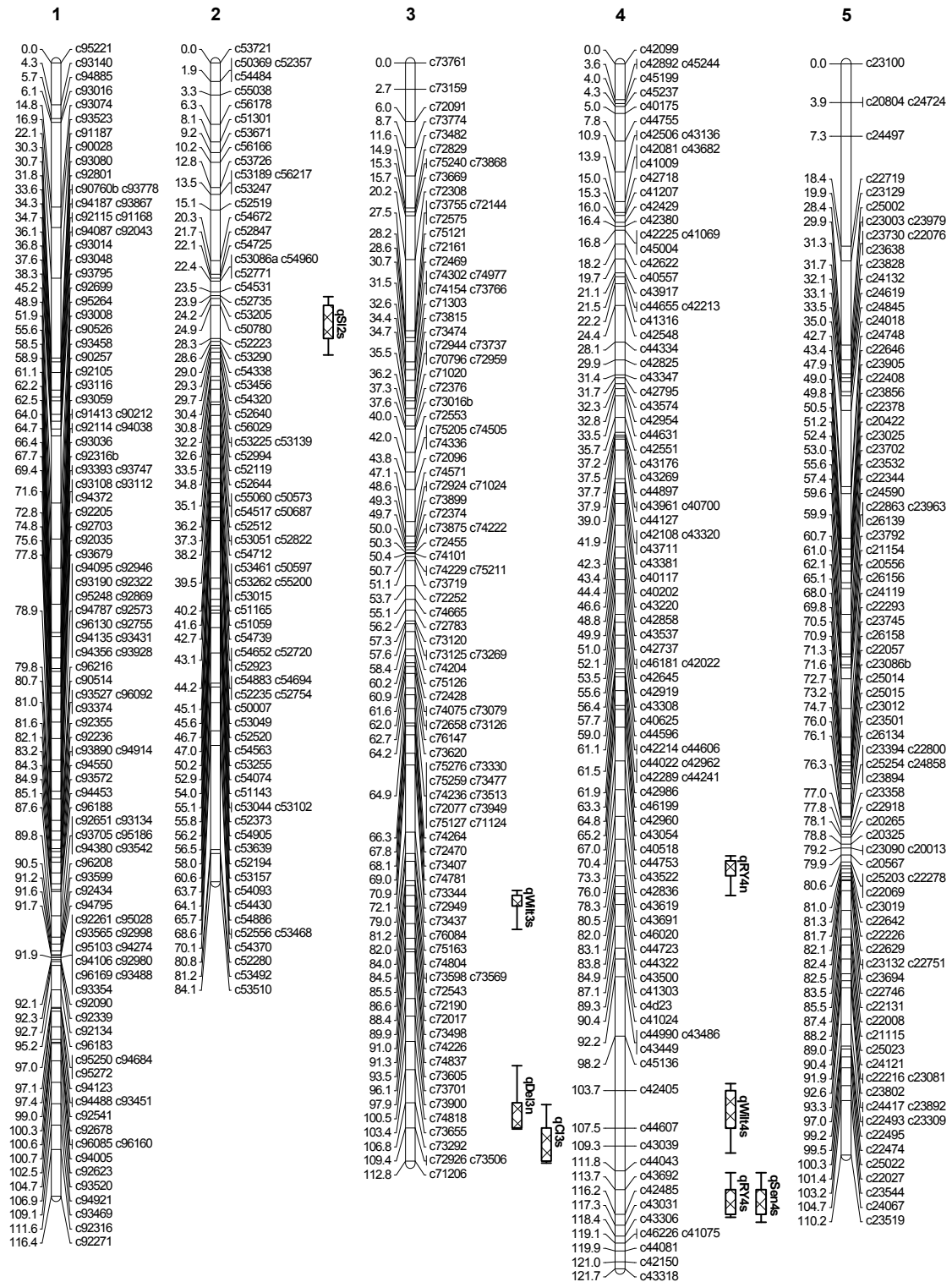
شکل ۱- فراوانی صفات گیاهی مورد ارزیابی در توده  $F_{2:3}$  و لاین های والدینی R49 و S501 چغندر قند در شرایط بدون تنش

Fig. 1. Frequency distribution of plant traits in  $F_{2:3}$  families and the parental lines R49 and S501 of sugar beet in non-stress condition



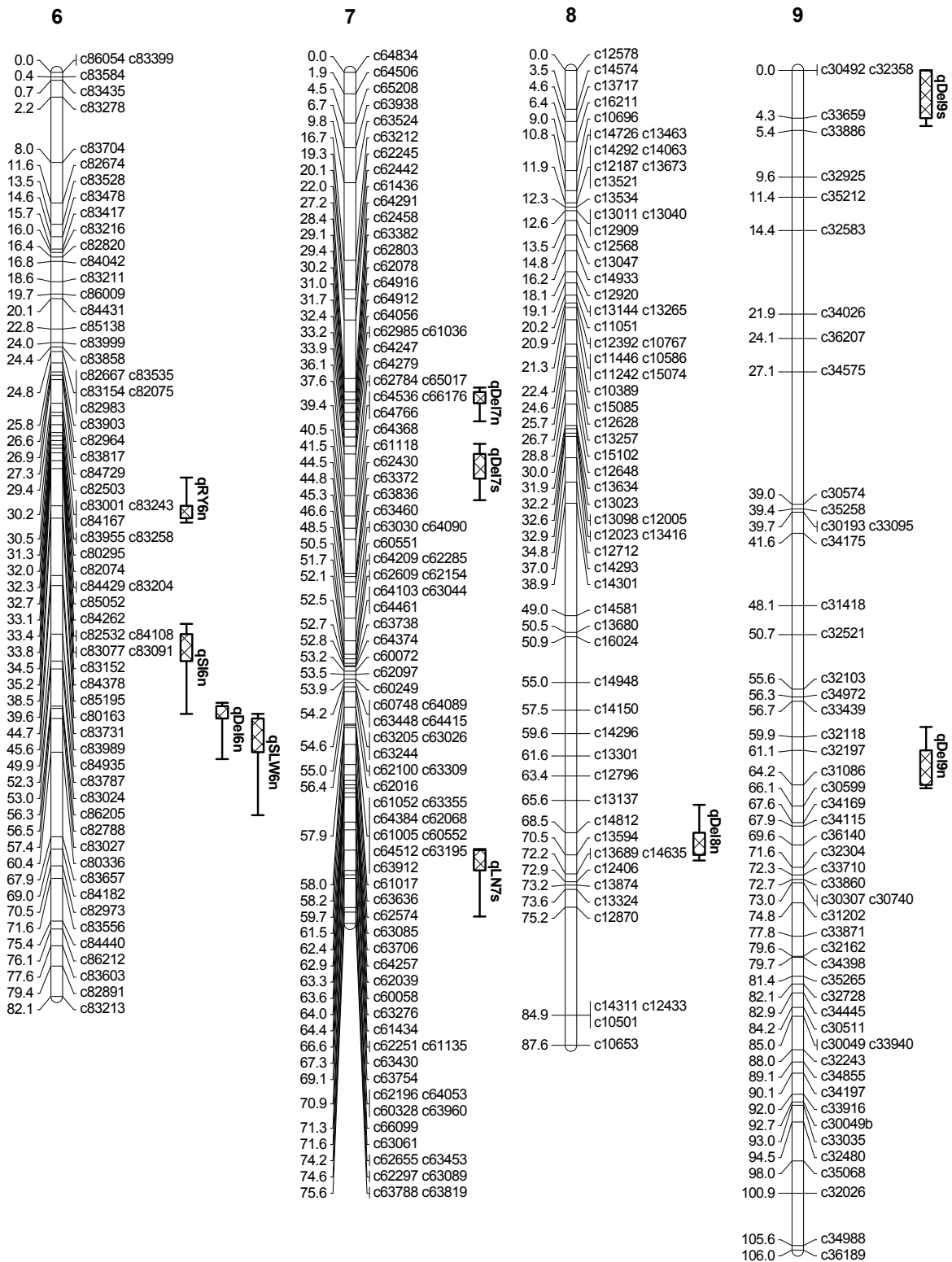
شکل ۲- فراوانی صفات گیاهی مورد ارزیابی در توده  $F_{2:3}$  و لاین های والدینی R49 و S501 چغندر قند در شرایط تنش خشکی

Fig. 2. Frequency distribution of plant traits in  $F_{2:3}$  families and the parental lines R49 and S501 of sugar beet in drought stress condition



شکل ۳. QTL های صفات گیاهی مورد ارزیابی در شرایط بدون تنش و تنش خشکی و موقعیت آنها در روی نقشه ییوستگی ژنتیکی. نقشه براساس ۷۵۹ نشانگر SSR و SNP در جمعیت نقشه یابی مورد استفاده تهیه شده است.

Fig. 3. QTLs of plant traits of sugar beet in non-stress and water-deficit stress condition. The map was developed based on 759 SSR and SNP markers in the studied mapping population



شکل ۳- ادامه

Fig. 3. Continued.

افزایشی ۳/۲۱ روی کروموزوم ۴ و qRY6n با اثر  
افزایشی ۳/۱۵ روی کروموزوم ۶ و پنج QTL برای

ترتیب با اثر افزایشی ۰/۲۸، ۰/۱۶، ۰/۳۵، ۰/۲۱ و  
دو ۰/۲۱ QTL برای عملکرد ریشه qRY4n با اثر

برای بعضی از QTL ها نشان می‌دهد که احتمالاً QTL های انفرادی دیگری برای این صفات وجود دارند که با توجه به اثر کم هر یک از این QTL ها شناسایی نشده‌اند (Rezaeizad et al., 2011).

با مقایسه دو شرایط ملاحظه می‌شود که تعداد QTL های صفات بویژه صفت دلتا در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش کاهش پیدا کرده است. این نتیجه با نتایج سایر محققین مطابقت دارد (Rezaeizad et al., 2011; Adirejo et al., 2014). یکی از دلایل احتمالی این موضوع آن است که این صفت از نظر ژنتیکی پیچیده است (Condon et al., 1992) و بیان آن در برگ ها و سایر بافت های گیاهی بستگی به میزان آب قابل دسترس گیاه دارد. ربتزکه و همکاران (Rebetzke et al., 2008) گزارش کردند که کمتر بودن میزان آب قابل استفاده خاک، هدایت روزنه‌ای را کاهش می‌دهد که می‌تواند واریانس ژنتیکی و وراثت پذیری دلتا را کاهش دهد. هر یک از QTL های دلتا در هر دو شرایط بطور متوسط بیش از ۱۰ درصد واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کردند (جدول ۱). ربتزکه و همکاران (Rebetzke et al., 2008) با مطالعه سه توده در حال تفرق گندم، تعداد ۹ تا ۱۳ عدد QTL برای دلتا شناسایی کردند که سهم آنها در توجیه تغییرات این صفت بین یک تا ۱۰ درصد بود.

در آزمایش حاضر یک QTL در شرایط بدون تنش و یک QTL در شرایط تنش برای عملکرد ریشه مشاهده شد که هر دو روی کروموزوم ۴ قرار داشتند (جدول ۱). اشنایدر و همکاران (Schneider et al., 2002) تعداد ۲۱ QTL برای عملکرد و صفات کیفی چغندر قند شناسایی کردند که دو QTL مربوط به عملکرد ریشه بوده و در روی کروموزوم ۴ قرار داشت. استیج و همکاران (Stich et al., 2008) چهار نشانگر پیوسته با QTL های عملکرد ریشه چغندر قند پیدا کردند. ریف و همکاران (Reif et al., 2010) با استفاده از نتایج تست کراس،

صفت دلتا (*qDel8n*, *qDel7n*, *qDel6n*, *qDel3n*) و *qDel9n* به روی کروموزوم های ۳، ۶، ۷، ۸ و ۹ شناسایی شدند. محدوده LOD برای QTL های دلتا از ۳/۳۹ تا ۸/۹۶ متغیر بود. مجموع سهم واریانس فنوتیپی تبیین شده بوسیله QTL های مربوط به عملکرد ریشه ۳۰/۹۱ درصد و دلتا ۸۹/۲۳ درصد بود (جدول ۱).

در شرایط تنش، یک QTL برای هر یک از صفات تعداد برگ (*qLN7s*) با اثر افزایشی ۰/۸۳- روی کروموزوم ۷)، میزان کلروفیل برگ (*qCl3s*) با اثر افزایشی ۲/۶۳ روی کروموزوم ۳)، ضریب آبداری برگ (*qSI2s*) با اثر افزایشی ۱/۹۶- روی کروموزوم ۲)، نمره پیری برگ (*qSen4s*) با اثر افزایشی ۰/۴۰- روی کروموزوم ۴) و عملکرد ریشه (*qRY4s*) با اثر افزایشی ۴/۲۶ روی کروموزوم ۴)، و دو QTL برای هر یک از صفات دلتا (*qDel7s*) با اثر افزایشی ۰/۲۸ و *qDel9s* با اثر افزایشی ۰/۲۳ به ترتیب روی کروموزوم های ۷ و ۹) و نمره پژمردگی برگ (*qWilt3s*) با اثر افزایشی ۰/۳۲- و *qWilt4s* با اثر افزایشی ۰/۵۱- به ترتیب روی کروموزوم های ۳ و ۴) مشاهده شدند. میزان LOD برای دو QTL دلتا برابر ۳/۳۸ و ۳/۵۱ بود. مجموع سهم واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله QTL های مربوط به دلتا ۲۱/۵۸ درصد و برای نمره پژمردگی برگ ۳۰/۴۹ درصد بود (جدول ۱).

چنانچه مبنای توصیف یک QTL به عنوان یک QTL "بزرگ اثر" (Major QTL) را توجیه بیش از ۱۰ درصد واریانس فنوتیپی صفت مربوطه در نظر گرفته شود (Reif et al., 2010)، از بین هیجده QTL که در دو شرایط بدون تنش و تنش شناسایی شدند، هفده QTL از نوع بزرگ اثر و یک QTL از نوع کوچک اثر (Minor QTL) (توجیه کمتر از ۱۰ درصد واریانس فنوتیپی) بودند. میزان ضریب تبیین یا واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله هر QTL از ۱۰/۶۳ تا ۲۵/۷۰ درصد در شرایط بدون تنش و از ۹/۱۲ تا ۲۱/۸۸ درصد در شرایط تنش متغیر بود. پایین بودن میزان ضریب تبیین

این صفت را توجیه می‌کرد (جدول ۱). جون و همکاران (Jun *et al.*, 2014) نیز با مکان یابی صفات برگی در سویا، یک QTL برای وزن ویژه برگ شناسایی کردند که ۱۲ درصد تنوع فنوتیپی را توجیه می‌کرد. در مطالعه حاضر، دو QTL نیز برای نمره پژمردگی مشاهده شد که در مجموع حدود ۳۰ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کردند. چارلسون و همکاران (Charlson *et al.*, 2009) با انجام نقشه یابی در لاین‌های اینبرد نو ترکیب سویا، تعداد پنج QTL برای نمره پژمردگی پیدا کردند که در مجموع ۴۷ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کرد و اظهار داشتند که این صفت پلی ژنیک و حساس به محیط است.

در آزمایش حاضر، یک QTL بزرگ اثر برای پیری برگ با سهم حدود ۲۲ درصد تغییرات فنوتیپی در شرایط تنش مشاهده شد (جدول ۱). فاروق و همکاران (Farouk *et al.*, 2005) نیز با انجام تجزیه QTL برای پیری برگ و سایر صفات مرتبط در برنج، یک QTL در روی کروموزوم ۶ و دو QTL در روی کروموزوم ۹ برای پیری برگ گزارش کردند.

از آنجایی که در آزمایش حاضر از یک نقشه ژنتیکی متراکم، استفاده شد، بنابراین اغلب QTL ها در مجاورت یک یا دو نشانگر قرار داشتند. فاصله QTL ها از نشانگرها در جدول ۱ ارائه شده است. با وجود نقشه پیوستگی اشباع شده در این پژوهش، همه QTL ها شناسایی نشدند. وقتی که برای نقشه یابی QTL ها فقط از دو والد استفاده می‌شود، برخی از نشانگرها و QTL های بالقوه احتمالاً مونومورف (فاقد چندشکلی) خواهند بود، حتی اگر لاین‌های والدینی برای صفت مورد نظر به دقت انتخاب شده باشند. از آنجایی که QTL را فقط می‌توان در مکان‌های ژنی پلی مورف در داخل ژنوم پیدا کرد، تعداد QTL هایی که انتظار می‌رود از طریق تلاقی دو والدی شناسایی شوند کمتر از تعدادی خواهد بود که از تجزیه چندین تلاقی بطور

تعداد ۳۸ QTL برای ۸ صفت زراعی و فیزیولوژیک چغندر قند گزارش کردند که فقط دو صفت و آنهم به مقدار ناچیز، اثرات ایستاتیک نشان دادند. اثرات ایستاتیک زمانی اهمیت پیدا می‌کند که مواد ژنتیکی مورد بررسی از نوع هیبرید (مانند نتاج تست کراس حاصل از تلاقی هر یک از فامیل‌های  $F_{2:3}$  با یک سینگل کراس مشترک) باشند، در حالی که در تحقیق حاضر، فامیل‌های  $F_{2:3}$  و نه ترکیبات هیبریدی آنها مورد بررسی قرار گرفتند، بنابراین فقط مدل افزایشی در نظر گرفته شد. حتی در حالتی که برای شناسایی QTL ها از نتاج تست کراس استفاده می‌شود نیز توانایی تشخیص ایستازی براساس وضعیت تست کراس‌ها زیاد نیست که علت آن اثرات پوشاندگی تستر می‌باشد (Schneider *et al.*, 2002). این وضعیت در سایر گیاهان دگرگشن از جمله ذرت نیز مشاهده شده است (Mihaljevic *et al.*, 2005). بنابراین، می‌توان ایستازی در چغندر قند را نادیده گرفت (Reif *et al.*, 2010). وبر و همکاران (Weber *et al.*, 1999) با انجام تجزیه QTL برای عملکرد و کیفیت چغندر قند بر روی دو جمعیت در حال تفرق، جایگاه‌های کروموزومی متفاوتی را برای صفات مذکور در دو جمعیت بدست آوردند و فقط محدودی از QTL ها بطور پایدار در یک جمعیت در محیط‌های مختلف بیان شدند. این موضوع نشان دهنده نقش مواد ژنتیکی مختلف و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط در شکل‌گیری عملکرد در چغندر قند می‌باشد.

آدیرجو و همکاران (Adiredjo *et al.*, 2014) تعداد نه QTL برای کارایی مصرف آب و هشت QTL برای دلتا در دو شرایط تنش و بدون تنش کم آبی در آفتابگردان گزارش کردند و دریافتند که این دو صفت دارای همبستگی زیادی با یکدیگر بوده و از کنترل ژنتیکی مشترکی برخوردار هستند.

در تحقیق حاضر، یک QTL برای وزن ویژه برگ مشاهده شد که حدود ۱۸ درصد از واریانس فنوتیپی

که در شرایط بدون تنش با نشانگر c43691 و در شرایط تنش با نشانگر c43692 پیوستگی داشت و شاید بتوان آن را جزء QTL های پایدار در نظر گرفت. رضایی زاد و همکاران (Rezaiezed *et al.*, 2011) نیز QTL های پایدار، QTL هایی که بیان آنها تحت تأثیر تنش قرار نگرفته بود را برای عملکرد دانه و برخی صفات دیگر کلزا گزارش کردند.

در میان QTL های بزرگ اثر در شرایط تنش، سه QTL از اهمیت بالاتری برخوردارند: الف) یکی از QTL های عملکرد ریشه (*qRY4s*) که بیشترین سهم را در توجیه تغییرات این صفت (۲۰/۲۱ درصد) دارد، ب) یکی از QTL های پژمردگی برگ (*qWilt4s*) که بیشترین سهم را در توجیه تغییرات پژمردگی (۱۹/۷۴ درصد) به خود اختصاص داده است و ج) QTL پیری برگ (*qSen4s*) که با توجیه ۲۱/۸۸ درصد از تغییرات پیری برگ، بالاترین سهم را دارد. این QTL ها احتمالاً برای انتخاب ژنوتیپها براساس نشانگر، مناسب خواهند بود، اما لازم است وجود این QTL ها در نسل های بعدی نیز تأیید شود.

در پژوهش حاضر، در شرایط تنش QTL عملکرد ریشه (*qRY4s*) و QTL پیری برگ (*qSen4s*) کاملاً هم مکان بودند، با این تفاوت که QTL اول دارای اثر افزایشی مثبت و QTL دوم دارای اثر افزایشی منفی بود، اما به هر حال، آلل های هر دو QTL از والد متحمل (R49) منتقل شده اند. این اثر افزایشی ناهمسو با همبستگی منفی و معنی دار بین دو صفت مذکور ( $r = -0.54$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 144$ ) مطابقت دارد. وجود ارتباط منفی و معنی دار بین دو صفت یاد شده قبلاً نیز در چغندر قند گزارش شده است ( $r = -0.72$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 12$ ). Ober *et al.*, 2005). این هم مکانی QTL ها توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Schneider *et al.*, 2002; Adiredjo *et al.*, 2014). نشانگرهای پیوسته با این QTL ها (c42485 و c43692) می توانند در برنامه های انتخاب به کمک نشانگر مورد

همزمان، انتظار می رود (Crepieux *et al.*, 2004). یکی دیگر از دلایل احتمالی پایین بودن تعداد QTL های شناسایی شده برای برخی صفات در این پژوهش، تأکید بر گزینش لاین های والدینی بر مبنای تفرق آنها برای صفت دلتا می باشد. از طرف دیگر، تحمل به خشکی ناشی از یک صفت خاص نمی باشد و بنابراین انتخاب لاین های والدینی بر مبنای تفرق همزمان آنها برای چندین صفت مرتبط با تحمل به خشکی، مشکل است.

در آزمایش حاضر، QTL های دلتا در شرایط بدون تنش بر روی کروموزوم های ۳، ۶، ۷، ۸ و ۹ و در شرایط تنش بر روی کروموزوم های ۷ و ۹ مشاهده شدند. QTL های ضریب آبداری برگ نیز در شرایط بدون تنش بر روی کروموزوم ۶ و در شرایط تنش بر روی کروموزوم ۲ مشاهده شدند. این موضوع نشان می دهد که موقعیت QTL ممکن است تحت تأثیر مرحله رشدی و یا تغییرات محیطی قرار گیرد (Laza *et al.*, 2007). این موضوع با یافته های سایر محققین از جمله آدی رجو و همکاران (Adiredjo *et al.*, 2014) مطابقت دارد.

زمانی که تعیین فنوتیپ یک جمعیت نقشه یابی در محیط های مختلف صورت می گیرد، برخی QTL ها را می توان در یک محیط (و نه در محیط های دیگر) پیدا کرد (Xu, 2002). در آزمایش حاضر، دو QTL مربوط به دلتا در شرایط تنش (*qDel7s* و *qDel9s*) و دو QTL در شرایط بدون تنش (*qDel7n* و *qDel9n*) بر روی کروموزوم های ۷ و ۹ مشاهده شد. مطالعات دیگر نیز حضور چندین QTL دلتا مربوط به رژیم های مختلف آبیاری بر روی یک کروموزوم را نشان داده است (Teulat *et al.*, 2002; Adiredjo *et al.*, 2014). بنابراین، اگرچه در تحقیق حاضر QTL های مذکور برای دلتا بر روی کروموزوم های مشابهی در دو شرایط قرار گرفته اند، اما چون موقعیت آنها متفاوت است، نمی توان آنها را به عنوان QTL "ساختاری" یا پایدار در نظر گرفت، اما برای عملکرد ریشه، یک QTL بر روی کروموزوم ۴ در شرایط تنش و بدون تنش مشاهده شد

جدول ۱- جایگاه ژنومی صفات گیاهی مورد ارزیابی و نشانگرهای مولکولی پیوسته با آنها در چغندر قند در شرایط بدون تنش و تنش خشکی

Table 1. Genomic position of plant traits and their associated markers in sugar beet for both non-stress and drought stress conditions

صفات گیاهی Plant characteristics	QTL <sup>a</sup>	کروموزوم <sup>b</sup> Chromosome	نشانگر چپ Left marker	نشانگر راست Right marker	موقعیت QTL position (cM) QTL	فاصله از نشانگر چپ Distance from left marker (cM)	فاصله از نشانگر راست Distance from right marker (cM)	LOD <sup>c</sup>	اثر افزایشی <sup>d</sup> Additive effect	واریانس فنوتیپی <sup>e</sup> (درصد) Phenotypic variance (%)	سطح احتمال P-value
بدون تنش Normal condition											
عملکرد ریشه Root yield	<i>qRY4n</i>	4	c43691	c46020	82	2	2	4.25	3.21	14.60	0.00001
عملکرد ریشه Root yield	<i>qRY6n</i>	6	c85195	c80163	39	3	1	4.79	3.15	16.31	0.000004
ضریب آبداری برگ succulence index	<i>qSl6n</i>	6	c84935	c83787	52	3	5	3.34	-2.417	11.67	0.0001
وزن ویژه برگ Specific leaf weight	<i>qSLW6n</i>	6	c83027	c80336	60	3	6	5.29	-0.488	17.84	0.000001
دلتا Delta	<i>qDel3n</i>	3	c73292	c72926	107	4	2	7.35	0.286	21.62	0.0000001
دلتا Delta	<i>qDel6n</i>	6	c86205	c83027	57	1	4	3.39	0.164	10.63	0.00010
دلتا Delta	<i>qDel7n</i>	7	c62458	c62803	29	1	2	8.96	0.350	25.70	0.0000001
دلتا Delta	<i>qDel8n</i>	8	c14812	c13594	69	3	2	5.30	0.217	16.10	0.000001
دلتا Delta	<i>qDel9n</i>	9	c32197	c31086	62	3	2	4.97	0.211	15.18	0.000003

8: هر QTL با مخفف اسم صفت مربوطه و شماره کروموزوم بصورت اینتالیک نشان داده شده است، حرف S در انتهای نام QTL نشان دهنده شرایط تنش و حرف n نشان دهنده شرایط بدون تنش است، a: شماره کروموزوم یا گروه لینکازی، c: لگاریتم نسبت احتمال برای QTL محاسبه شده براساس برنامه PlabMQTL (مقادیر LOD بالاتر از ۲/۵ معنی دار اعلام می شود)، d: اثر افزایشی (مقادیر مثبت یا منفی این اثر نشان می دهد که آлл های والد P1 (R49) یا P2 (S501) ارزش صفت مورد نظر را به ترتیب افزایش یا کاهش می دهند)، e: درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده بوسیله QTL مورد نظر.

جدول ۱-ادامه

Table 1. Continued.

صفات گیاهی Plant characteristics	QTL <sup>a</sup>	کروموزوم <sup>b</sup> Chromosome	نشانگر چپ Left marker	نشانگر راست Right marker	موقعیت QTL position (cM) QTL	فاصله از نشانگر چپ Distance from left marker (cM)	فاصله از نشانگر راست Distance from right marker (cM)	LOD <sup>c</sup>	اثر افزایشی <sup>d</sup> Additive effect	واریانس فنوتیپی <sup>e</sup> (درصد) Phenotypic variance (%)	سطح احتمال P-value
تنش خشکی Drought stress											
عملکرد ریشه Root yield	<i>qRY4s</i>	4	c43692	c42485	114	2	2	6.08	4.26	20.21	0.0001
تعداد برگ Leaf number	<i>qLN7s</i>	7	c63754	c62196	70	1	5	2.94	-0.833	10.34	0.0003
میزان کلروفیل برگ Chlorophyll	<i>qCl3s</i>	3	c72926	c71206	112	5	0	2.77	2.639	10.26	0.0002
ضریب آبداری برگ succulence index	<i>qSI2s</i>	2	c50780	c52223	27	3	3	2.58	-1.968	9.12	0.0006
دلتا Delta	<i>qDel7s</i>	7	c64247	c64279	36	3	2	3.51	0.284	10.98	0.0001
دلتا Delta	<i>qDel9s</i>	9	c30492	c33659	1	1	5	3.38	0.235	10.60	0.0001
نمره پژمردگی Wilting score	<i>qWilt3s</i>	3	c72543	c72190	86	1	3	3.06	-0.322	10.75	0.0002
نمره پژمردگی Wilting score	<i>qWilt4s</i>	4	c42405	c44607	107	4	3	5.92	-0.511	19.74	0.000001
نمره پیری برگ Senescence score	<i>qSen4s</i>	4	c43692	c42485	115	3	2	6.65	-0.406	21.88	0.000001

c72926 و c71206 مشاهده شد. برای پیری برگ، یک QTL بزرگ اثر روی کروموزوم شماره ۴ در حد فاصل نشانگرهای c43692 و c42485 شناسایی شد که بیش از ۲۱ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه نمود. مکان های شناسایی شده برای دلتا روی کروموزوم های شماره ۷ و ۹ قرار داشتند که اثر افزایشی آنها به ترتیب معادل ۰/۲۸۴ و ۰/۲۳۵ بود. برای نمره پژمردگی، دو QTL روی کروموزوم های ۳ و ۴ مشاهده شدند که از بین آنها *qWilt4s* تقریباً دو برابر *qWilt3s* توانست تغییرات این صفت را توجیه نماید.

برخی از QTL های شناسایی شده (*qDel3n*، *qRY4s*، *qSen4s*، *qDel7n* و *qWilt4s*) با تبیین درصد بالاتری از تغییرات فنوتیپی صفات مورد مطالعه به عنوان QTL بزرگ اثر شناخته شدند که نشانگرهای پیوسته با این QTL ها به ویژه QTL های *qRY4s*، *qSen4s* و *qWilt4s* می توانند در برنامه های اصلاح به کمک نشانگر جهت گزینش لاین های برتر و انتقال آلل های مطلوب مورد استفاده قرار گیرند. با وجود این، QTL های شناسایی شده در این تحقیق باید در توده های در حال تفرق یا جمعیت های نقشه یابی دیگر نیز مورد بررسی قرار گیرند تا اثر زمینه ژنتیکی در بیان QTL ها مشخص شود. همچنین، با توجه به احتمال وجود اثر متقابل بین QTL و محیط، پیشنهاد می شود تجزیه QTL در چند سال و مکان صورت گیرد تا اثرات QTL قویتری بدست آید.

### سپاسگزاری

از آقایان دکتر سید ابوالقاسم محمدی استاد محترم دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و دکتر مجتبی نورآئین استاد محترم دانشگاه مراغه بخاطر ارائه نظرات سازنده در تهیه نقشه ژنتیکی سپاسگزاری می شود.

استفاده قرار گیرند. این همپوشانی QTL های صفات مختلف می تواند دو علت داشته باشد: ۱) یک ژن ساده با اثرات پلیوتروپیک می تواند همپوشانی QTL های صفات مختلف را توجیه کند، و ۲) چندین ژن با پیوستگی شدید که به علت اندازه کوچک، فقط به عنوان یک مکان ژنی واحد تشخیص داده می شوند، می توانند یک صفت ساده را تحت تأثیر قرار دهند (Schneider *et al.*, 2002). یکی از روش های تشخیص این دو عامل از یکدیگر، تجزیه ارتباط (association mapping) است که توسط ریف و همکاران (Reif *et al.*, 2010) در چغندر قند انجام شده است.

### نتیجه گیری

آزمایش حاضر برای اولین بار QTL های عملکرد ریشه و برخی صفات برگ چغندر قند در شرایط تنش و بدون تنش کم آبی را شناسایی نمود. بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه حاکی از وجود تنوع کمی و پیوسته بود. در این پژوهش، ۷۵۹ نشانگر بررسی شده توزیع نسبتاً یکنواختی در ۹ گروه پیوستگی داشتند. در مجموع، هیجده QTL مرتبط با صفات ارزیابی شده شناسایی شد. در شرایط بدون تنش، حداقل یکی از QTL های هر چهار صفت مورد ارزیابی بر روی کروموزوم شماره ۶ قرار داشت. در شرایط تنش، برای عملکرد ریشه یک QTL روی کروموزوم ۴ در حد فاصل نشانگرهای c43692 و c42485 شناسایی شد که اثر افزایشی آن ۴/۲۶ بود. برای تعداد برگ، یک QTL روی کروموزوم ۷ شناسایی شد که اثر افزایشی آن ۰/۸۳۳- بود. برای ضریب آبداری برگ، یک QTL روی کروموزوم ۲ شناسایی شد که اثر افزایشی آن ۰/۹۶۸- بود. برای میزان کلروفیل برگ، یک QTL روی کروموزوم شماره ۳ در حد فاصل نشانگرهای

## References

## منابع مورد استفاده

- Adiredjo, L. A., O. Navaud, S. Muños, N. B. Langlade, T. Lamaze, P. Grieu .2014.** Genetic control of water use efficiency and leaf carbon isotope discrimination in sunflower (*Helianthus annuus* L.) subjected to two drought scenarios. PLoS ONE 9(7): 1-15.
- Bidinger, F. R., T. Nepolean, C. T. Hash, R. S. Yadav and C. J. Howarth. 2007.** Quantitative trait loci for grain yield in pearl millet under variable post-flowering moisture conditions. Crop Sci. 47: 969–980.
- Charlson, D. V., S. Bhatnagar, C. A. King, J. D. Ray, C. H. Sneller , T. E. J. Carter and L. C. Purcell. 2009.** Polygenic inheritance of canopy wilting in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. Theor. Appl. Genet. 119:587-94.
- Condon, A. G., R. A. Richards and G. D. Farquhar. 1992.** The effect of variation in soil water availability, vapor pressure deficit and nitrogen nutrition on carbon isotope discrimination in wheat. Aust. J. Agric. Res. 43: 935–947.
- Condon, A. G., R. A. Richards, G. J. Rebetzke and G. D. Farquhar. 2004.** Breeding for high water use efficiency. J. Exp. Bot. 55: 2447-2460.
- Crepieux, S., C. Lebreton, B. Servin, and G. Charmet. 2004.** Quantitative Trait Loci (QTL) detection in multicross inbred designs: recovering QTL Identical-by-Descent status information from marker Data. Genetics, 168: 1737–1749.
- Farouk, A., R. Shishido, K. Nomura and H. Ikehashi. 2005.** QTL-based analysis of leaf senescence in an indica/japonica in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 110: 1226–1235.
- Farquhar, G. D. and R. A. Richards. 1984.** Isotopic composition of plant carbon correlates with water use efficiency of wheat genotypes, Aust. J. Plant Physiol. 11: 539–552.
- Grimmer, M. K., T. Kraft, S. A. Francis and M. J. C. Asher. 2008.** QTL mapping of BNYVV resistance from the WB258 source in sugar beet. Plant Breed. 127: 650-652.
- Jun, T. H., K. Freewalt, A. P. Michel and R. Mian. 2014.** Identification of novel QTL for leaf traits in soybean. Plant Breed. 133: 61–66.
- Laza, M. R., M. Kondo, O. Ideta, E. Barlaan and T. Imbe. 2007.** Identification of Quantitative Trait Loci for  $\delta^{13}C$  and productivity in irrigated Lowland rice. Crop Sci. 46: 763-773.
- Levi, A., L. Ovnat, A. H. Paterson and Y. Saranga. 2009.** Photosynthesis of cotton near-isogenic lines introgressed with QTLs for productivity and drought related traits. Plant Sci. 177: 88-96.
- Ludlow, M. and R. C. Muchow. 1990.** A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments, Advan. Agron. 4: 107-151.
- Mihaljevic, R., H. F. Utz and A. E. Melchinger. 2005.** No evidence for epistasis in hybrid and per se performance of elite European flint maize inbreds from generation means and QTL analyses. Crop Sci. 45:2605–2613.

- Ober, E.S., M. L. Bloa, C. J. A. Clark, A. Royal, K. W. Jaggard and J. D. Pidgeon. 2005.** Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. *Field Crops Res.* 9: 231-249.
- Ober, E. and A. Rajabi. 2011.** Abiotic stress in sugar beet. *Sugar Tech.* 12: 294-298.
- Rajabi, A. and E. Ober. 2012.** Breeding for improved drought tolerance. In: Ashraf, M., M. Öztürk, M. S. A. Ahmad and A. Aksoy (Eds.) *Crop Production for Agricultural Improvement.* Springer.
- Rajabi, A., H. Griffiths, E. S. Ober, W. Kromdijk and J. D. Pidgeon. 2008.** Genetic characteristics of water use related traits in sugar beet. *Euphytica.* 160: 175-187.
- Rajabi, A., E. Ober and E. Griffiths. 2009.** Genotypic variation for water use efficiency, carbon isotope discrimination, and potential surrogate measures in sugar beet. *Field Crops Res.* 112: 172-181.
- Rebetzke, G. J., A. G. Condon, G. D. Farquhar, R. Appels and R. A. Richards. 2008.** Quantitative trait loci for carbon isotope discrimination are repeatable across environments and wheat mapping populations. *Theor. Appl. Genet.* 118: 123-137.
- Reif, J. C., L. Wenxin, G. Manje, P. M. Hans, M. Jens, F. Sandra, S. Axel and W. Tobias. 2010.** Genetic basis of agronomically important traits in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) investigated with joint linkage association mapping. *Theor. Appl. Genet.* 121:1489-1499.
- Rezaiezd, A., V. Mohammadi, A. Zali, H. Zeinali and M. Mardi. 2011.** Mapping QTLs controlling yield and yield components of oilseed rape under normal irrigation and drought stress conditions. *J. Seed Plant Improv.* 27(1): 199-218.
- Saghai Maroof, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen and R. W. Allard. 1984.** Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 8014-8018.
- Schneider, K., R. Schäfer-Pregl, D. Borchardt and F. Salamini. 2002.** Mapping QTLs for sucrose content, yield and quality in a sugar beet population fingerprinted by EST-related markers. *Theor. Appl. Genet.* 104:1107-1113.
- Steele, K. A., A. H. Price, J. R. Witcombe, R. Shrestha, B. N. Singh, J. M. Gibbons and D. S. Virk. 2013.** QTLs associated with root traits increase yield in upland rice when transferred through marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.* 126:101-108.
- Stich, B., H. P. Piepho, B. Schulz and A. E. Melchinger. 2008.** Multi-trait association mapping in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.* 117:947-954.
- Teulat, B., O. Merah, X. Sirault, C. Borries, R. Waugh and D. This. .2002.** QTLs for grain carbon isotope discrimination in field-grown barley. *Theor. Appl. Genet.* 106: 118-126.
- Utz, H.F. 2011.** PlabMQTL - Software for meta-QTL analysis with composite interval mapping. Version 0.9. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.

- Voorrips, R.E. 2002.** MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Heredity*. 93:77-78.
- Weber, W., D. Borchardt and G. Koch. 1999.** Combined linkage maps and QTLs in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) from divergent populations. *Plant Breed.* 118:193-204.
- Xu, Y. 2002.** Global view of QTL: Rice as a model. In: Kang, M.S. (ed.) *Quantitative genetics, genomics and plant breeding*. Wallingford, UK. CAB International, 109-134.
- Zeng, Z. B. 1994.** Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*. 136:1457-1468.

## QTL mapping for root yield and leaf traits in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under drought stress condition

Rajabi, A.<sup>1</sup> and D. Borchardt<sup>2</sup>

### ABSTRACT

Rajabi, A. and D. Borchardt. 2015. QTL mapping for root yield and leaf traits in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under drought stress condition. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 17(1): 46 -62. (In Persian).

Drought stress is one of the most important environmental factors limiting sugar beet production in arid and semi-arid regions of the world including Iran. Development of drought tolerant varieties is a sustainable approach to mitigate the effect of this limitation. To develop drought tolerant varieties, it is necessary to understand the genetic basis and to map the genomic positions (QTLs) of the traits associated with drought tolerance. To identify the genomic regions of root yield and some leaf traits such as leaf number, leaf chlorophyll content, specific leaf weight, percent green crop cover, carbon isotope discrimination ( $\Delta$ ), leaf succulence index, leaf wilt score and leaf senescence score, 142 F<sub>2,3</sub> families derived from crosses between two parental lines (R49 as tolerant and S501 as sensitive) were studied using simple lattice design under non-stress and water-deficit stress conditions at Kamalabad Research Station, Karaj, Iran, in 2010. Linkage analysis was carried out using 759 simple sequence repeat (SSR) and single nucleotide polymorphism (SNP) markers with a minimum LOD value of 2.5. Eighteen QTLs were identified in the two moisture regime environments. The highest number of QTLs was found on chromosomes 4 and 6 indicating that these chromosomes play an important role in genetic control of the traits studied. In non-stress condition, one QTL was found for specific leaf weight and leaf succulence index, two QTLs for root yield and five QTLs for  $\Delta$ . In stress condition, one QTL was identified for root yield, leaf number, leaf chlorophyll content, leaf succulence index and leaf senescence score, and two QTLs for  $\Delta$  and leaf wilt score. The proportion of variance explained by each QTL ranged from 10.63 to 25.70% in non-stress and from 9.12 to 21.78% in stress conditions, respectively. In stress condition, the QTL of root yield was co-located with that of leaf senescence score. Markers tightly linked with the major QTLs, especially the QTLs of root yield (*qRY4s*), leaf senescence (*qSen4s*) and leaf wilt (*qWilt4s*), which could be exploited in marker-assisted selection programs for selection of superior drought tolerant lines and transfer of desirable alleles into improved varieties.

**Keywords:** Carbon isotope discrimination, Drought stress, Linkage analysis, Specific leaf weight and Sugar beet.

Received: August, 2014

Accepted: February, 2015

1-Assistant Prof., Sugar Beet Seed Institute (SBSI), Karaj, Iran (Corresponding author)(Email: rajabi@sbsi.ir)

2- Associate Prof., of KWS SAAT AG, Einbeck, Germany