

کارایی انتخاب به کمک نشانگر برای ژن مقاومت به شته روسی در گندم Efficiency of Marker-Assisted Selection for a Russian Wheat Aphid Resistance Gene in Wheat

احمد ارزانی

دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۴/۵/۲۳

چکیده

ارزانی، ا. ۱۳۸۶. کارایی انتخاب به کمک نشانگر برای ژن مقاومت به شته روسی در گندم. نهال و بذر ۲۳: ۱۱۲-۱۰۱.

نشانگرهای مولکولی ابزار ارزشمندی برای به‌نژادی گیاهان و به ویژه شناسایی ژرم پلاسما و انتخاب غیرمستقیم هستند. انتخاب به کمک نشانگر (Marker-Assisted Selection: MAS) برای مقاومت به آفات و بیماری‌ها و صفات مرتبط با کیفیت برخی گیاهان زراعی به عنوان بارزترین مثال به کارگیری روتین MAS در طرح‌های به‌نژادی مطرح است. با این حال کاربرد عملی نشانگر مولکولی معلوم کرده است که موفقیت در MAS به عواملی از جمله اساس ژنتیکی صفت مورد نظر، تعداد افراد (بوته‌ها) مورد تجزیه و تحلیل و زمینه‌ی ژنتیکی که ژن هدف به آن انتقال خواهد یافت، بستگی دارد. در این مطالعه با بهره‌گیری از داده‌های واقعی، کارایی (A_{MAS}) و دقت (E_{MAS}) انتخاب به کمک نشانگر با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره (SSR) پیوسته به ژن مقاومت به شته روسی (Dn_4) و رنگ گلوم (Rg_2) در گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. دو نشانگر $Xgwm337$ و $Xgwm106$ احاطه‌کننده ژن Dn_4 مستقر بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 1D گندم با فاصله ۵/۹cm و ۹/۲cm قرار دارند. دقت و کارایی انتخاب به کمک نشانگر برای ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت برای ژن Dn_4 در نسل F_2 محاسبه شد. E_{MAS} برای نشانگر $Xgwm337$ برابر با ۱۰۰٪ و A_{MAS} برای نشانگرهای احاطه‌کننده $Xgwm337-Xgwm106$ و $Xgwm337-Rg_2$ و نشانگرهای غیر احاطه‌کننده $Xgwm106-Rg_2$ برابر با ۱۰۰٪ به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: گندم، شته روسی، نشانگر مولکولی، نقشه ژنتیکی، انتخاب به کمک نشانگر، به‌نژادی گیاهان زراعی.

مقدمه

به‌نژادی به صورت متداول آن، بر پایه انتخاب فنوتیپی ژنوتیپ‌های برتر در داخل جمعیت‌های نتاج در حال تفکیک حاصل از تلاقی‌ها استوار است. گزینش در این روش اصولاً با معضل اثر متقابل ژنوتیپ با محیط ($G \times E$) مواجه است. ضمن این که برخی روش‌های گزینش فنوتیپی برای بعضی صفات زمان بر، پرهزینه و گاهی غیرقابل اعتماد هستند. پیشرفت در ژنتیک مولکولی به ایجاد DNA نشاندار شده (DNA tags) انجامیده است که برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) به کار می‌رود (Dubcovsky, 2004). بدین منوال به کارگیری نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA، اصلاح‌کنندگان را قادر می‌سازد تا به جای انتخاب در کرت مزرعه‌ای در محیط آزمایشگاهی گزینش کنند (Koebner and Summers, 2003). سودمندی نشانگرهای مولکولی به توانایی آن‌ها در آشکارسازی چندشکلی (Polymorphism) در توالی‌های نوکلئوتیدی بستگی دارد. انواع مختلفی از نشانگرهای مبتنی بر DNA و راه‌کارهای به‌نژادی مولکولی به منظور کمک به اصلاح‌کنندگان گیاهی موجود است و نشانگرهای با چندشکلی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) با توجه به سهولت استفاده ارجحیت دارند. مهم‌ترین نشانگرهای مبتنی بر PCR مشتمل بر RAPD (توالی‌های چندشکل با تکثیر تصادفی)، SCAR (نواحی

تکثیر یافته با توالی مشخص)، ریزماهواره (Microsatellite) یا توالی‌های تکراری کوتاه (SSR)، AFLP (چندشکلی قطعات برشی تکثیر یافته)، توالی‌های مکان اختصاصی (نشانه)، CAP (توالی‌های تکثیری چندشکل قابل برش)، ISSR (توالی تکثیر یافته میان توالی‌های تکراری ساده) و SNP (چندشکلی تک نوکلئوتیدی) هستند (Rafalski, 2002؛ Kumar, 1999).

در انتخاب به کمک نشانگر (Marker-Assisted Selection: MAS) به منظور اجتناب از مشکلات روش‌های به‌نژادی متداول، به جای انتخاب فنوتیپی انتخاب مستقیم و یا غیرمستقیم ژن انجام می‌شود (Francia *et al.*, 2005). با ایجاد نقشه‌های لینکاژ اشباع شده که با استفاده از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR تسهیل شده است، امکان نقشه‌یابی و نشاندار کردن تقریباً هر صفت مندلی فراهم گردیده است (Brar, 2002). در آمریکا از نشانگرهای موجود به منظور MAS برای ۲۲ ژن مقاومت به قارچ‌ها، ویروس‌ها و حشرات و ۲۱ ژن مختلف مرتبط با کیفیت نانوائی، پاستا (ماکارونی و اسپاگتی) و ندول‌ها به داخل ۷۵ والد دوره‌ای (۳۴ رقم گندم دانه قرمز، ۳۳ رقم گندم دانه سفید و ۸ رقم گندم دوروم) استفاده شده است (Knight, 2003؛ Dubcovsky, 2004).

یکی از مهم‌ترین کاربردهای MAS در به‌نژادی برای مقاومت به آفات و بیماری‌ها است

در به‌نژادی گیاهی، ژنوتیپ‌های غالب هموزیگوت را نمی‌توان از طریق انتخاب فنوتیپی مرسوم برای ژن غالب هدف در نسل F_2 انتخاب کرد. علاوه بر این برای برخی از صفات مندلی نظیر مقاومت به شته روسی گندم (RWA)، انتخاب بر پایه فنوتیپ از نظر ارثی با اثر محیطی بر روی بروز علائم محدود می‌شود (Anderson *et al.*, 2003). انتخاب به کمک نشانگر مولکولی برای مقاومت میزبان (Melchinger, 1990) نسبت به RWA با شناسایی و نقشه‌یابی ژن‌های جدید مقاومت به RWA در گندم قابل اجرا است. مزایای نشانگرهای ریز ماهواره (SSRs) از جمله هم بارزی، پلی مورفیسم زیاد، قابل خودکار شدن در به‌نژادی به کمک نشانگر جایگاه ویژه‌ای به خود اختصاص داده است. روش مرسوم اصلاح برای مقاومت به شته روسی گندم به مقیاس وسیع مزرعه‌ای به آزمایش‌های گلخانه‌ای متکی است، در حالی که انتخاب براساس فنوتیپی برای ژن مقاومت به RWA از نظر ارثی به لحاظ تأثیر محیط بر روی بروز علائم محدود است. همچنین به استفاده از تسهیلات کنترل محیطی (گلخانه) در طی فصل سرما نیز نیاز است. ضمن این که در صورت تثبیت مقاومت به RWA در نسل اولیه F_2 از طریق انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت (RR) بدون اجرای آلودگی مصنوعی و آزمون فنوتیپی، عملیات به‌نژادی تسهیل می‌یابد. بنابراین می‌توان از نشانگرهای مولکولی مرتبط با

که از مزایای تسریع در ایجاد مقاومت، ادغام همزمان و سریع چند ژن از ژرم‌پلاسم متنوع، هرم‌سازی ژن‌ها و گزینش نو ترکیب‌های نادر بین ژن‌های با پیوستگی شدید برخوردار است (Michelmore, 2003). انتخاب به کمک نشانگر در صفات مهم اقتصادی که توسط ژن‌های اصلی اداره می‌شوند در گوجه‌فرنگی برای ژن $Tm-2$ و ژن مقاومت به نماتد $Gro1$ اجرا شده است (Ballvora *et al.*, 1995؛ Young and Tanksley, 1989). با این وجود، با توجه به تعداد بسیار زیاد ژن‌هایی که توسط نشانگرهای مولکولی نشاندار شده‌اند، آگاهی اندکی در مورد کارایی این نشانگرها در به‌نژادی واقعی موجود است (Langridge and Chalme, 1998). دقت انتخاب به کمک نشانگر (Accuracy of A_{MAS} : marker-assisted selection Efficiency E_{MAS}) و کارایی انتخاب به کمک نشانگر (of marker-assisted selection) مکان‌های ژنی صفت کمی (QTL) تنها از طریق داده‌های کامپیوتری به جای داده‌های واقعی آزمایشی پیشنهاد شده و مورد ارزیابی قرار گرفته است (Moreau *et al.*, 1998؛ Ollivier, 1998؛ Liu *et al.*, 2004). برای اولین بار پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2000) A_{MAS} و E_{MAS} را برای ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوس ژن $YrH52$ در نسل F_2 گندم وحشی ایمر مورد ارزیابی قرار دادند.

کلرادو کاشته و با شته روسی گندم آلوده شدند. ارزیابی فنوتیپی مقاومت به شته روسی به صورت پیچش برگ و کلروز برگ براساس گزارش نکونگولو و همکاران (Nkongolo *et al.*, 1991) نمره‌گذاری و ثبت شد.

برای تعیین و ثبت رنگ گلوم، یکصدوده فامیل F_{2:3} در گلخانه عاری از شته نیز کاشته شدند. رنگ گلوم فامیل‌ها در مرحله بلوغ بسته به این که به صورت قهوه‌ای یا سفید باشند، ثبت گردید. سپس فامیل‌ها به کلاس‌های رنگ قهوه‌ای هموزیگوس، هتروزیگوس و رنگ سفید هموزیگوس طبقه‌بندی شدند.

از نشانگرها ریزماهواره که در DNA-والدین و بالک حساس و مقاوم (روش BSA) چندشکلی نشان داده بودند و مشتمل بر *Xgwm106*, *Xgwm337*, *Xpsp2999*, *Xpsp3000* در این مطالعه استفاده شد. برای استخراج DNA، PCR، الکتروفورز و تهیه نقشه ژنتیکی روش پیشنهاد شده توسط ارزانی و همکاران (Arzani *et al.*, 2004) به کار برده شد.

دقت انتخاب به کمک نشانگر (AMAS) و کارآئی انتخاب به کمک نشانگر (EMAS) مطابق با روشی که پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2000) برای ژن مقاومت به زنگ زرد (*YrH52*) به کار بردند، برآورد گردید. در حالت تک نشانگر برای ارزیابی MAS از فرمول‌های زیر استفاده شد:

مقاومت به RWA به منظور دستیابی به هدف مورد نظر نسل‌های اولیه استفاده کرد. در شرایطی که امکان‌پذیر باشد می‌توان از ترکیبی از نشانگرهای مولکولی با مورفولوژیکی برای انتخاب در نسل‌های اولیه استفاده کرد. در حال حاضر تنها یک گزارش از مطالعه نشانگرهای مورفولوژیک و RAPD مرتبط با بیماری پوسیدگی ریشه جو وجود دارد (Kutcher *et al.*, 1996). تا کنون نشانگر مولکولی برای نه ژن مقاومت به شته روسی ایجاد شده است. این ژن‌های مقاومت مشتمل بر *Dn1*, *Dn2*, *Dn4*, *Dn5*, *Dn6*, *Dn8*, *Dn9* و *Dnx* هستند (Arzani *et al.*, 2004). ارزانی و همکاران (Arzani *et al.*, 2004) ریزماهواره‌های پیوسته با ژن‌های مقاومت به شته روسی (*Dn4*) و رنگ قرمز گلوم (*Rg2*) در گندم را گزارش کردند. در این بررسی ارزیابی این نشانگرهای ریزماهواره و نشانگر مورفولوژیک رنگ قرمز گلوم برای انتخاب به کمک نشانگر نسبت به مقاومت به شته روسی گزارش می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی: تعداد یکصد و ده فامیل F₃ حاصل از F₂ (F_{2:3}) از تلاقی بین لاین حساس [synthetic hexaploid-11 (*T. turgidum*-*Aegilops tauschii*) و رقم D_{67.2}/P_{66.270}] مقاوم (Halt) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. نتاج خودگشن شده هر تک بوته F₂ (فامیل F_{2:3}) در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ایالتی

همچنین فاصله نقشه بین دو نشانگر احاطه کننده و ژن مورد هدف با استفاده از تجزیه رگرسیون ساده تعیین شد.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل لینکاژی نشان داد که ژنهای $Dn4$ و $Rg2$ در فاصله $27/1cM$ به حالت انفصال (ریپالشن) بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 1D گندم قرار دارند. نشانگر ریزماهواره $Xgwn106$ به صورت نشانگر غالب و سایر نشانگرهای ریزماهواره ($Xgwn3000$ ، $Xgwn2999$ و $Xgwn337$) به صورت نشانگرهای هم بارز در محاسبه A_{MAS} و E_{MAS} مورد استفاده قرار گرفتند. قابل ذکر است که نشانگر غالب $Xgwn106$ که با ژن $Dn4$ به اندازه $5/4cM$ فاصله داشت تنها در ترکیب سایر نشانگرها برای برآورد A_{MAS} و E_{MAS} به کار گرفته شد، در حالی که سایر نشانگرها هم به صورت تکی و هم به صورت دوتائی احاطه کننده و یا غیراحاطه کننده مورد استفاده قرار گرفتند. در حالت استفاده از نشانگر تکی، بالاترین $A_{MAS} = 7/85\%$ و $E_{MAS} = 100\%$ برای $Xgwm377$ که به فاصله $9/2cM$ از ژن مقاومت به شته روی $Dn4$ قرار داشت به دست آمد. A_{MAS} برابر 100% و E_{MAS} برابر $91/7\%$ برای دو نشانگر احاطه کننده $Xgwn337-Xgwn106$ و دونشانگر غیراحاطه کننده $Xgum106-Rg2$ به دست آمد. دو نشانگر احاطه کننده $Xgwn337-Xgwn2999$ ارزش های A_{MAS} و E_{MAS} به

$$A_{MAS} = \frac{N_{RRM}}{N_M} \times 100$$

$$E_{MAS} = \frac{N_{RRM}}{N_{RRT}} \times 100$$

که در این جا N_M کل تعداد ژنوتیپ های (بوته ها) نشانگر همانند $Dn4$ هموزیگوت، N_{RRM} برابر با تعداد ژنوتیپ های مقاوم هموزیگوت $Dn4$ از میان ژنوتیپ های نشانگری که همانند $Dn4$ هموزیگوت بودند و N_{RRT} تعداد کل ژنوتیپ های $Dn4$ مقاوم هموزیگوت بودند.

به طوری که $N_{RRM} \leq N_M$ و $N_{RRM} \leq N_{RRT}$ بودند.

در حالت استفاده از دو نشانگر برای ارزیابی A_{MAS} از فرمول های زیر استفاده گردید:

$$A_{MAS} = \frac{N_{RRMc}}{N_{Mc}} \times 100$$

$$E_{MAS} = \frac{N_{RRMc}}{N_{RRT}} \times 100$$

در این جا N_{Mc} برابر با تعداد کل ژنوتیپ های هموزیگوت $Dn4$ مانند در دو مکان ژنی نشانگر، N_c برابر با تعداد ژنوتیپ های مقاوم هموزیگوت $Dn4$ از میان ژنوتیپ های هموزیگوت $Dn4$ مانند نشانگر هموزیگوت در دو مکان ژنی نشانگر بود به طوری که روابط زیر برقرار بود:

$$N_{RRMc} \leq N_{Mc} \text{ و } N_{RRMc} \leq N_{RRT}$$

روابط بین A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه تک نشانگر و ژن مورد مطالعه ($Dn4$) و

وجود دارد. در انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت یک ژن غالب در نسل F_2 ، نشانگرهای هم بارز بهترین گزینه هستند. نشانگرهای غالب دارای پیوستگی با ژن هدف تنها در حالتی که دارای پیوستگی از نوع انفصال [Repulsion (trans)] باشد به عنوان تک نشانگر مورد استفاده در MAS قابل استفاده هستند. زیرا وقتی که انتخاب برای ژنوتیپ مغلوب هموزیگوت با استفاده از این نوع نشانگر صورت گیرد، امکان هدف قرار دادن ژن مورد نظر که به صورت غالب است وجود دارد (Peng et al., 2000).

در مطالعه حاضر با توجه به این که نشانگر $Xgwm106$ به صورت اتصال [Coupling (cis)] با ژن مورد نظر (Dn_4) پیوسته است، به عنوان تک نشانگر در ارزیابی MAS قابل استفاده نبود، در حالی که رنگ گلوب قرمز برای ارزیابی MAS به عنوان تک مارکر قابل استفاده بود، زیرا با ژن مورد نظر به صورت انفصال (ریپالشن) پیوستگی دارد.

بر اساس آزمون فنوتیپی. حداکثر دقت و کارایی انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت برای ژن Dn_4 در نسل F_2 برابر با $33/33\%$ بود زیرا تنها یک سوم ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت و دو سوم بقیه هتروزیگوت بودند $(\frac{2}{3}Rr : \frac{1}{3}RR)$ ، در حالی که براساس تک لوکوس نشانگر $Xgwm337$ ، A_{MAS} و E_{MAS} برای ژنوتیپ‌های Dn_4 هموزیگوت به ترتیب برابر با $85/7\%$ و 100% بود. A_{MAS} و E_{MAS} حتی

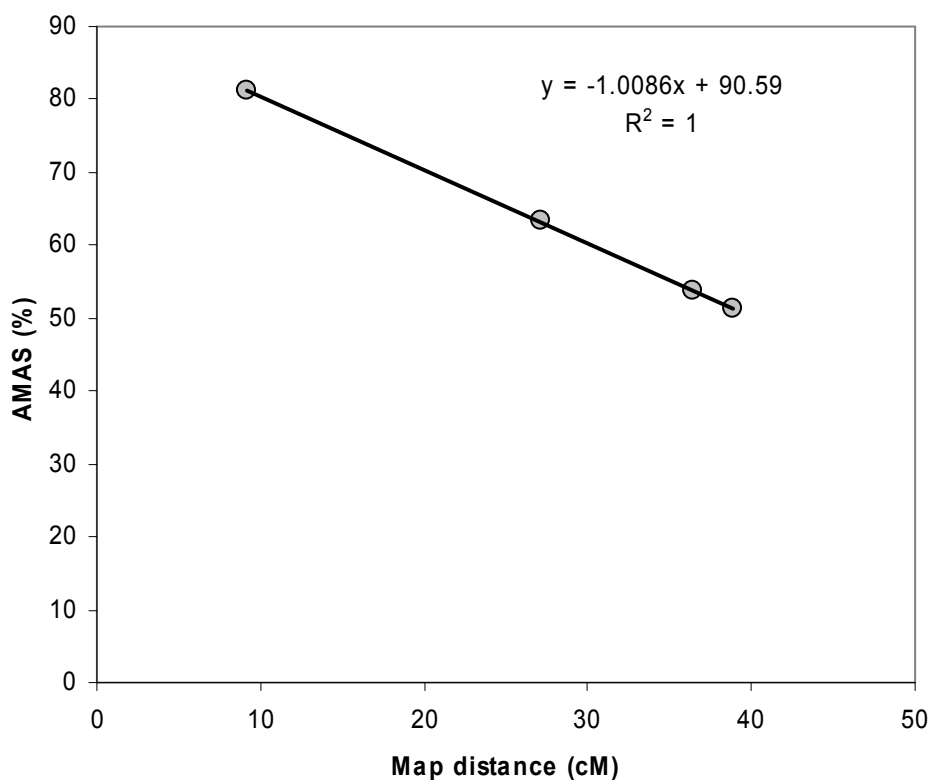
ترتیب برابر با 91% و $83/3\%$ را داشتند. دو مارکر احاطه کننده $Xgwm337-Rg2$ ارزش‌های A_{MAS} و E_{MAS} برابر با به ترتیب 100% و 75% را داشتند.

روابط بین A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه تک نشانگر و ژن مورد مطالعه (Dn_4) با استفاده از تجزیه رگرسیون ساده مورد ارزیابی قرار گرفت که در شکل‌های ۱ تا ۶ ارائه شده است. هر دو A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه، همبستگی منفی و معنی‌داری داشتند. به همین ترتیب تجزیه رگرسیون همبستگی منفی و معنی‌داری برای A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه بین دو نشانگر احاطه کننده ژن Dn_4 را نشان داد، در حالی که همبستگی مثبت معنی‌دار برای A_{MAS} و همبستگی مثبت غیرمعنی‌دار برای E_{MAS} با فاصله نقشه بین دو مارکر غیراحاطه کننده ژن Dn_4 به دست آمد.

یکی از مزایای مطالعه حاضر ترکیب نمودن نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیک برای ارزیابی MAS در انتخاب برای ژن مقاومت به RWA است. علاوه بر آن مقاومت به RWA و رنگ گلوب (مارکر مورفولوژیک) در فامیل‌های F_3 تعیین فنوتیپی شدند. امکان تعیین سه نوع ژنوتیپ از Dn_4 (rr , Rr , RR) را برای تک Rg_2 ($RgRg$, $Rrgg$, $rgrg$) را برای تک بوته‌های F_2 مطابقشان را فراهم می‌سازد. بدین منوال با توجه به مزایای ذکر شده ارزیابی دقت و کارایی MAS برای ژنوتیپ‌های Dn_4 مقاوم هموزیگوت براساس داده‌های آزمایشی واقعی

جمعت (نو ترکیب + والدی) است، در حالی که برای محاسبه A_{MAS} و E_{MAS} فقط بخشی از اندازه جمعیت (حدود یک چهارم) مد نظر قرار می گیرد. در رابطه با E_{MAS} برابر با ۱۰۰٪ برای تک نشانگر $Xgwm337$ ، تعداد ژنوتیپ‌های Dn_4 مقاوم هموزیگوت از میان تعداد ژنوتیپ‌های نشانگر Dn_4 معادل تعداد کل ژنوتیپ‌های Dn_4 مقاوم هموزیگوت در جمعیت بوده است. به عبارت دیگر، در این آزمایش تمامی ژنوتیپ‌های Dn_4 (RR) دقیقاً توسط

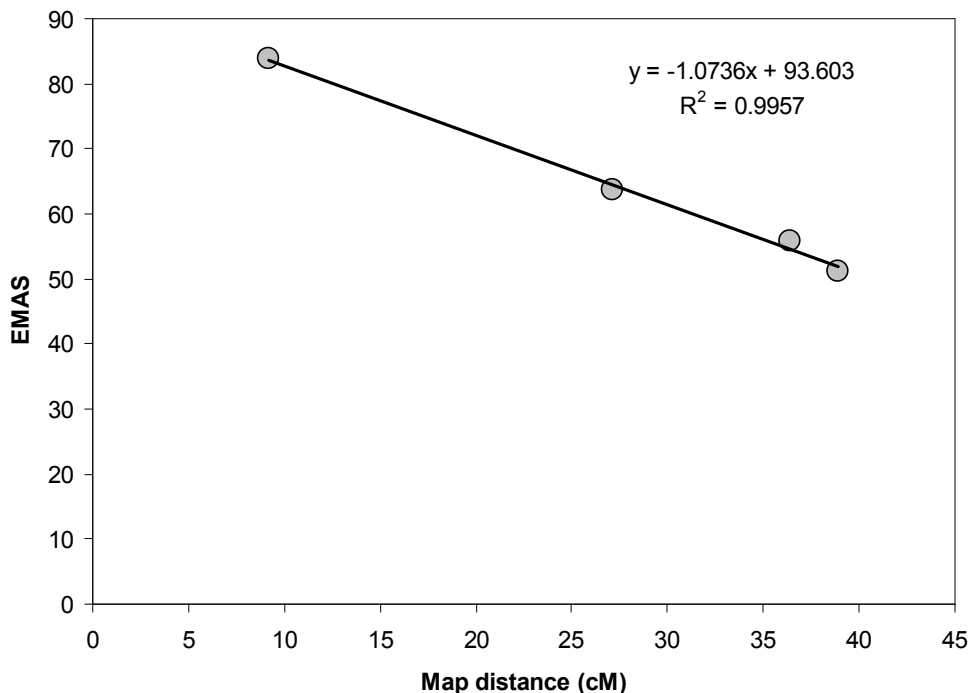
برای نشانگر مورفولوژیک (Rg_2) که $27/1cM$ فاصله نقشه با ژن هدف Dn_4 داشت نیز نسبتاً بالا بود (به ترتیب برابر با ۵۰٪ و ۸۳/۳٪). این نتایج با گزارش پنگ و همکاران (Peng et al., 2000) که برای ژن هدف $YrH52$ ، ارزش‌های $>90\%$ را برای A_{MAS} و E_{MAS} برای فاصله نقشه $2cM$ و $>40\%$ برای فاصله نقشه $48/3cM$ مشاهده نمودند، هماهنگی دارد. ارزش نو ترکیبی براساس تعداد ژنوتیپ‌های نو ترکیب تقسیم بر کل اندازه



شکل ۱- رگرسیون دقت انتخاب به کمک نشانگر (AMAS) بر روی فاصله نقشه تک نشانگر به

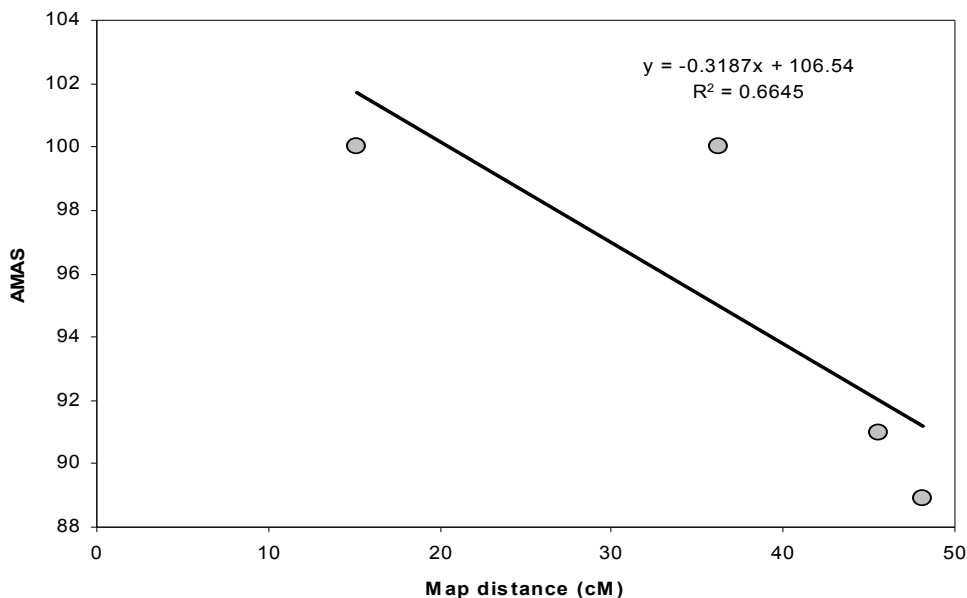
ژن مقاومت به شته روسی Dn_4

Fig.1. Regression of accuracy of marker-assisted selection (AMAS) on map distance of a single marker for the RWA Dn_4 gene



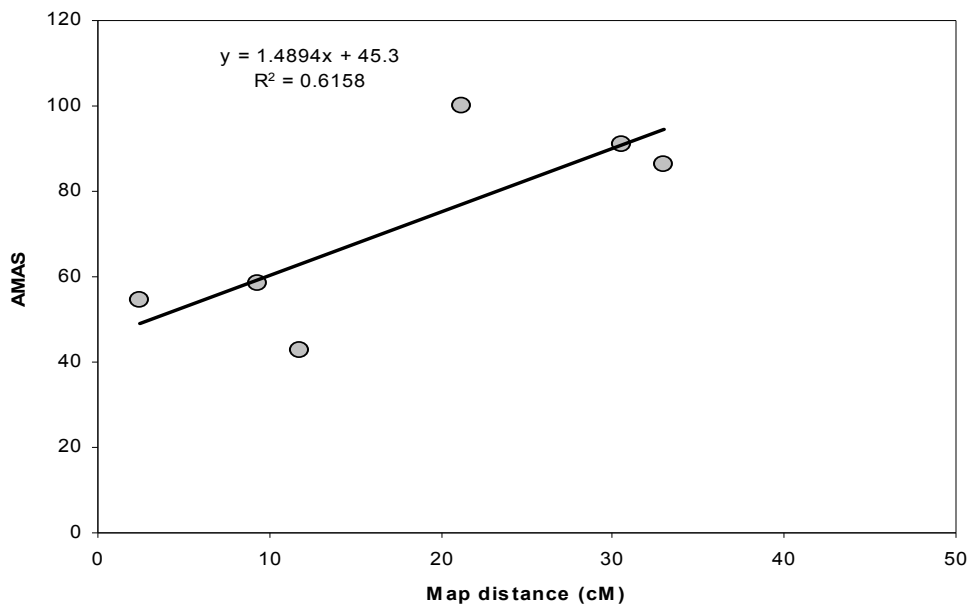
شکل ۲- رگرسیون کارایی انتخاب به کمک نشانگر (EMAS) بر روی فاصله نقشه تک نشانگر به ژن مقاومت به شته روسی *Dn4*

Fig. 2. Regression of efficiency of marker-assisted selection on map distance of a single marker for the RWA *Dn4* gene



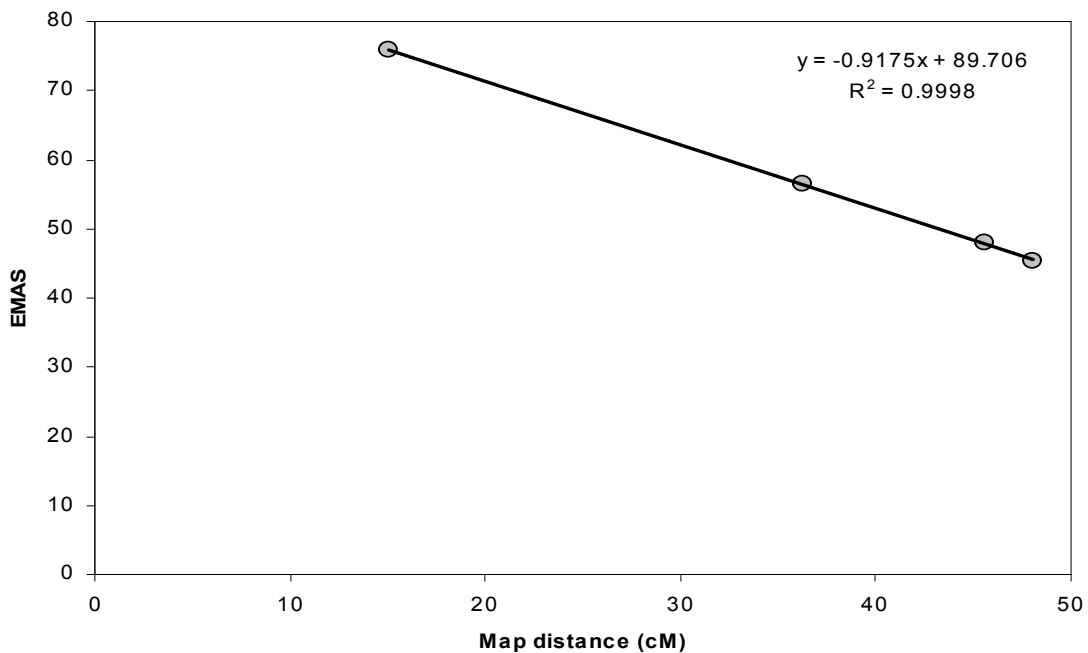
شکل ۳- رگرسیون دقت انتخاب به کمک نشانگر (AMAS) بر روی فاصله نقشه بین دو نشانگر احاطه کننده برای ژن *Dn4*

Fig.3. Regression of accuracy of marker-assisted selection (AMAS) on map distance of a two flanking markers for the *Dn4* gene



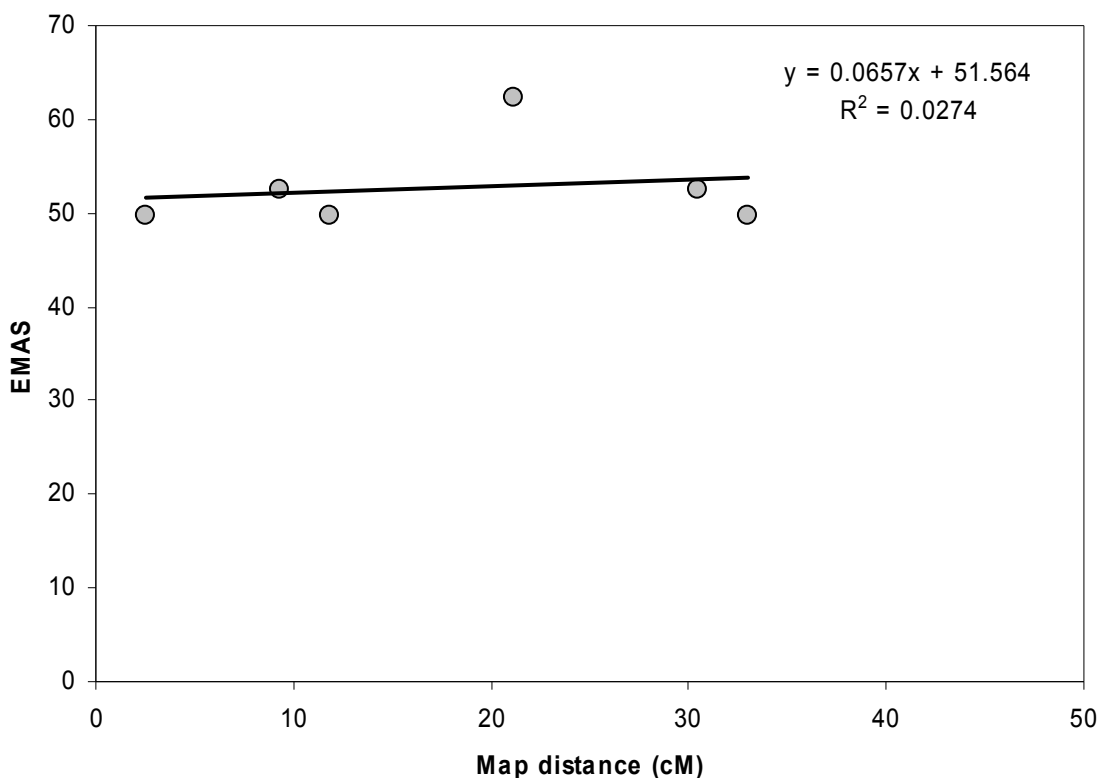
شکل ۴- رگرسیون دقت انتخاب به کمک نشانگر (AMAS) بر روی فاصله نقشه بین دو نشانگر غیراحاطه کننده برای ژن *Dn4*

Fig. 4. Regression of accuracy of marker-assisted selection (AMAS) on map distance of a two non-flanking markers for the *Dn4* gene.



شکل ۵- رگرسیون کارایی انتخاب به کمک نشانگر (EMAS) بر روی فاصله نقشه بین دو نشانگر احاطه کننده برای ژن *Dn4*

Fig. 5. Regression of efficiency of marker-assisted selection (EMAS) on map distance of a two flanking markers for the *Dn4* gene



شکل ۶- رگرسیون کارایی انتخاب به کمک نشانگر (EMAS) بر روی فاصله نقشه بین دو نشانگر غیر احاطه کننده برای ژن *Dn4*

Fig. 6. Regression of efficiency of marker-assisted selection (EMAS) on map distance of a two non-flanking markers for the *Dn4* gene

$$A_{MAS} = 90.59 - 1.009 \times MD$$

$$E_{MAS} = 93.603 - 1.07 \times MD$$

بدین ترتیب هنگامی که فاصله نقشه (MD) برابر ۵ cM باشد هر دوی A_{MAS} و E_{MAS} بیش از ۸۵٪ خواهند بود، بنابراین هر دو دقت و کارایی انتخاب به کمک نشانگر برای ژنوتیپ هموزیگوت غالب یک ژن غالب بر اساس تک نشانگر به طور بسیار بارزی بیشتر از انتخاب بر پایه فنوتیپی است.

نشانگر پیوسته کوپلینگ *Xgwn337* انتخاب شده‌اند. این وضعیت علیرغم این حقیقت است که سایر ژنوتیپ‌های نشانگر هموزیگوت *Dn4* ممکن است یا با ژنوتیپ مقاوم هتروزیگوت (Rr) یا ژنوتیپ حساس هموزیگوت (rr) مطابقت داشته باشند.

روابط بین A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه (MD) تک نشانگر و ژن مورد مطالعه (*Dn4*) به صورت معادله زیر با استفاده از تجزیه رگرسیون خطی برآورد گردید:

(Peng *et al.*, 2000) که استفاده از نشانگرهای A_{MAS} احاطه کننده ژن مورد نظر را در بهبود A_{MAS} برای گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم هموزیگوت $YrH52$ در نسل F_2 بسیار سودمند ذکر نموده‌اند، هماهنگی دارد.

پرواضح است که دقت MAS در صورت به کارگیری دو نشانگر احاطه کننده ژن هدف به جای استفاده از تک نشانگر افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد، هنگامی که دو نشانگر احاطه کننده $Xgwm337-2999$ یا $Xgwm337-Rg2$ برای MAS به کار می‌روند، A_{MAS} به ۱۰۰٪ می‌رسد. بنابراین نشانگرهای احاطه کننده ژن مورد نظر ($Dn4$) برای بهبود A_{MAS} انتخاب ژنوتیپ‌های $Dn4$ هموزیگوت بسیار سودمند است.

روابط بین A_{MAS} و E_{MAS} با فاصله نقشه (MD) دو نشانگر احاطه کننده ژن مورد مطالعه ($Dn4$) به صورت معادله زیر با استفاده از تجزیه رگرسیون خطی تعیین گردید:

$$A_{MAS} = 106.54 - 0.3187 \times MD$$

$$E_{MAS} = 89.7 - 0.9175 \times MD$$

بنابراین دقت MAS در زمانی که انتخاب به کمک همزمان دو نشانگر احاطه کننده ژن مورد هدف قرار می‌گیرد، بسیار افزایش می‌یابد به طوری که با فاصله نقشه ۲۵ cM بین دو نشانگر احاطه کننده، دقت انتخاب ۹۸٪ > خواهد بود. این در حالیست که کارایی انتخاب با استفاده از دو نشانگر احاطه کننده ژن $Dn4$ ، به طور معنی‌داری بهبود نمی‌یابد. نتایج مطالعه حاضر با گزارش پنگ و همکاران

References

- Allard, R. W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia* 24: 235-278.
- Anderson, G. R., Papa, D., Peng, J., Tahir, M., and Lapitan, N. L. V. 2003. Genetic mapping of $Dn7$, a rye gene conferring resistance to the Russian wheat aphid in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 1297-1303.
- Arzani, A., Peng J., and Lapitan, N. L. V. 2004. DNA and morphological markers for a Russian wheat aphid resistance gene. *Euphytica* 139: 167-172.
- Ballvora, A., Hasselbach, J., Niewohner, J., Leister, D., Salamini, F., and Gebhardt, C. 1995. Marker enrichment and high-resolution map of the segment of chromosome VII harbouring the nematode resistance gene $Gro1$. *Molecular and General Genetics* 249: 82-90.
- Brar, D. S. 2002. Molecular marker assisted breeding. pp. 55-83. In: Jain, S. M., Brar, D. S., and Ahloowalia, B. S. (eds.) *Molecular Techniques in Crop Improvement*. Kluwer Academic Publications, The Netherlands.
- Dubcovsky, J. 2004. Marker-assisted selection in public breeding programs: The wheat experience. *Crop Science* 44: 1895-1898.

- Francia, E., Tacconi, G., Barabaschi, D., Bulgarelli, D., Dall'Aglio, E., and Vale, G. 2005.** Marker assisted selection in crop plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 82: 317-342.
- Knight, J. 2003.** Crop improvement: A dying breed. *Nature* 421: 568-570.
- Koebner, R. M. D., and Summers, R. W. 2003.** 21st century wheat breeding: plot selection or plate detection? *Trends in Biotechnology* 21: 59-63.
- Kumar, L. S. 1999.** DNA markers in plant improvement: An overview. *Biotechnology Advances* 17: 143-182
- Kutcher, H. R., Bailey, K. L., Rossnagel, B. G., and Franckowiak, J. D. 1996.** Linked morphological and molecular markers associated with common root rot reaction in barley. *Canadian Journal of Plant Science* 76: 879-883.
- Langridge, P., and Chalmers, K. 1998.** Techniques for marker development. pp. 139-142. In: Slinkard, A. E. (ed.) *Proceedings of the 9th International Wheat Genetics Symposium, Vol. I.* University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada. University Extension Press.
- Liu, P., Zhu, J., and Lu, Y. 2004.** Marker-assisted selection in segregating generations of self-fertilizing crops. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1432-2242.
- Melchinger, A. E. 1990.** Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breeding* 104: 1-19.
- Michelmore, R. W. 2003.** The impact zone: genomics and breeding of durable disease resistance. *Current Opinion in Plant Biology* 6: 397-404.
- Moreau, L., Charcosset, A., Hospital, F., and Gallais, A. 1998.** Marker-assisted selection efficiency in populations of finite size. *Genetics* 148: 1353-1365.
- Nkongolo, K. K., Quick, J. S., Peairs, F. B., and Meyer, W. L. 1991.** Inheritance of resistance of PI 373129 wheat to the Russian wheat aphid. *Crop Science* 31:905-906
- Ollivier, L. 1998.** The accuracy of marker-assisted selection for quantitative traits within populations in linkage equilibrium. *Genetics* 148: 1367-1372.
- Peng, J. H., Fahima, T., Röder, M. S., Li, Y. C., Grama, A., and Nevo, E. 2000.** Microsatellite high-density mapping of the stripe rust resistance gene *YrH52* region on chromosome 1B and evaluation of its marker-assisted selection in the F generation in wild emmer wheat. *New Phytologist* 146: 141-154.
- Rafalski, J. A. 2002.** Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 94-100.
- Young, N. D., and Tanksley, S. D. 1989.** RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the *Tm-2* locus of tomato during backcross breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 77: 353- 359.

آدرس نگارنده:

احمد ارزانی - گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ۸۴۱۵۶