

نقشه‌یابی نواحی ژنومی کنترل‌کننده ویژگی‌های زراعی جمعیت‌های هاپلوئید مضاعف‌جو تحت شرایط نرمال و تنش شوری

موسی خمیری^۱، محمود سلوکی^{۲*}، براتعلی فاخری^۲، رضا اقنوم^۳، نفیسه مهدی نژاد^۲، لیلا مهرآوران^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

* مسئول مکاتبه: mahmood.solouki@uoz.ac.ir

DOI: 10.22034/CSRAR.2023.319546.1166

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۱

چکیده

به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات آگرومورفولوژیک و نشانگرهای مرتبط با آن‌ها تحت شرایط نرمال و تنش شوری، آزمایشی با ۱۳۶ لاین هاپلوئید مضاعف‌جو و والدین آن‌ها (Nure و Tremois) در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در مرکز تحقیقات کشاورزی زابل انجام شد. صفات تعداد پنجه در بوته، تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، طول ریشک، طول میانگره، تعداد گره، ارتفاع بوته، وزن هزار دانه و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند. تأثیر ژنوتیپ برای همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود و بیشترین همبستگی بین عملکرد دانه با تعداد پنجه و تعداد سنبله در بوته مشاهده شد. تجزیه QTL به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب برای شرایط نرمال و تنش و میانگین آن‌ها به صورت جداگانه انجام گرفت. در مجموع ۲۴ جایگاه واجد QTL شناسایی شد که ۸ تا ۱۶ درصد از واریانس فنوتیپی (R^2) را توجیه نمودند. بالاترین مقدار LOD برای صفت تعداد دانه در سنبله و روی کروموزوم 2H در شرایط تنش شوری بود. از ۷ QTL بزرگ اثر شناسایی شده در این مطالعه، واضح‌ترین QTL مربوط به تعداد سنبله در بوته (*Qng2Hma*) روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر E42M38_235-2H بود که ۱۶ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. تنها یک QTL (*Qtgw1H*) برای وزن هزار دانه متصل به مارکر *WMCIE8* به‌عنوان QTL پایدار شناخته شد. این مناطق ژنومی شناسایی شده پس از اعتبار سنجی در شرایط محیطی و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی انتخاب به کمک مارکر برای تحمل به شوری در جو مورد استفاده قرار گیرند. **واژه‌های کلیدی:** تحمل به شوری، عملکرد دانه، اجزای عملکرد، نقشه‌یابی QTL

مقدمه

در گیاه می‌شود. یک تنش ناشی از فشار اسمزی مرتبط با عوامل غیر یونی، و دیگری تنش یونی ناشی از یون‌های Na^+ و Cl^- . شوری بالای خاک باعث افزایش فشار اسمزی شده و شرایط مشابه با تنش خشکی ایجاد می‌کند (Mwando et al., 2020). شوری آب و خاک مانع از دست‌یابی به عملکرد مطلوب گیاهان زراعی می‌شوند، به‌طوری‌که در مناطق شور، کاهش ۶۰ درصدی عملکرد گیاهان زراعی گزارش شده است (FAO, 2008). در مناطق شور، زارعین با استفاده از روش‌های مختلفی مانند مصرف نهاده‌های بیشتر سعی در کاهش خسارت ناشی از تنش دارند که باعث افزایش هزینه‌های آن‌ها می‌شود. کشت گیاهان متحمل به شوری، از جمله مؤثرترین و کاراترین روش برای مقابله با مسأله شوری می‌باشد. افزایش تحمل گیاهان به شوری از یک طرف نیاز به آبسویی و هزینه برنامه آبیاری را کاهش

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین غلات دنیا است که به‌عنوان جایگزین برنج و گندم در تغذیه رژیم‌های نیز نقش مهمی ایفا می‌کند و از نظر میزان تولید، بعد از گندم، ذرت و برنج، رتبه چهارم را در جهان به خود اختصاص داده است. از نظر کشت و زرع در شرایط مختلف آب و هوایی، این گیاه مقام اول را به خود اختصاص داده است (FAO, 2013). جو حدود ۸ تا ۱۲ درصد پروتئین و ۶۴ درصد نشاسته دارد و کیفیت مالت آن نیز مطلوب است (Wolfe et al., 2008). قیمت این غله به نسبت کم بوده و یک منبع تغذیه مناسب برای انسان و دام به‌شمار می‌آید (Wolfe et al., 2008).

شوری یک عامل محیطی بسیار مهمی است که رشد و بهره‌وری گیاه را محدود می‌کند. شوری باعث ایجاد دو نوع تنش

می‌دهد (Pitman and Lauchli, 2002) و از طرف دیگر با تأثیر بر ثبات عملکرد موجب افزایش عملکرد گیاهان در خاک‌های شور و قلیایی می‌شود. گیاهان متحمل به شوری آب بیشتری را از خاک‌های تحت‌الارضی جذب می‌نمایند؛ بنابراین، میزان آب مصرفی برای کشت و زرع و در نتیجه میزان افزایش خاک‌های شور را کاهش می‌دهند (Munns *et al.*, 2006). امروزه، با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک ارقام متحمل به تنش شوری تولید و معرفی شده‌اند (Munns and Tester, 2008).

جو یکی از گیاهان متحمل به شوری است و اغلب به عنوان گیاه مدل برای درک مکانیسم‌های سازگاری با شوری در گیاهان استفاده می‌شود. سازگاری با شوری در بین ژنوتیپ‌ها و مراحل رشدی جو متفاوت است (Saade *et al.*, 2018). از آن‌جا که تحمل به شوری یک صفت پیچیده ژنتیکی است. اکثر فرآیندهای گیاهی مؤثر در تحمل به شوری دارای توارث کمی هستند و تنوع پیوسته دارند. صفات کمی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Hosseinirad *et al.*, 2021). با کمک روش‌های مرسوم اصلاحی، می‌توان صفات زراعی را بهبود بخشید ولی برای انتخاب لاین‌های برتر نیاز به خلوص جوامع و دسترسی به نسل‌های پیشرفته اصلاحی می‌باشد. با استفاده از نشانگرهای مولکولی، تهیه نقشه لینکازی با چگالی بالا در بسیاری از گیاهان امکان‌پذیر شده است. با رشد سریع تهیه نقشه‌های لینکازی مترکم بر اساس نشانگرهای مولکولی و یافتن جایگاه صفت مسئول تنوع کمی (QTL) و استفاده از آن برای گزینش به کمک نشانگر (MAS)، انتخاب در نسل‌های اولیه برنامه‌های اصلاحی امکان‌پذیر شده و کارایی آن بهبود یافته است (Mahdinejad *et al.*, 2014).

ارتباطی، بین مکانیزم‌های توارثی ناشی از تنوع ژنتیکی مکان‌های تک‌ژنی منفرد و تنوع پیوسته فنوتیپی صفات کمی، رابطه برقرار می‌سازد (Phillipa, 1998). وقتی نشانگر یا نشانگرهایی با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی لینکاژ (پیوستگی) داشته باشند، گزینش به کمک نشانگر، گزینش بر اساس ژنوتیپ (نه فنوتیپ) خواهد بود و عوامل محیطی تأثیری در گزینش نخواهند داشت. در نتیجه، پاسخ به گزینش به بیشترین مقدار خود خواهد رسید (Dudley, 1997). نقشه‌یابی QTL‌ها ابزاری مفید و در دسترس برای اصلاح‌کنندگان نبات در ارتباط با مشخص شدن اساس ژنتیکی صفات مربوط به تحمل به تنش است (Rabiei *et al.*, 2014).

از مهم‌ترین اهداف اصلاح‌گران، دستیابی به ژنوتیپ‌های برتر است که در محیط‌های مختلف از پایداری لازم برخوردار باشند. دو روش برای دستیابی به پایداری وجود دارد. یکی شناسایی و استفاده از QTL‌های پایدار یا QTL‌های دارای حداقل اثر متقابل با محیط است که در گزینش به کمک نشانگر مفیدند و دیگری اصلاح ارقام با سازگاری وسیع از طریق هرمی کردن QTL‌های متفاوتی که هر یک به شرایط محیطی متفاوتی سازگار باشند. پایداری QTL‌ها در زمان‌ها، محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی مختلف، مهم‌ترین شرط گزینش به کمک نشانگر است (Fakheri and Mehravar, 2014). مزیت‌های گزینش به کمک نشانگرها عبارتند از: ارزیابی صفات در مرحله گیاهچه، سرعت بیشتر نسبت به ارزیابی فنوتیپی، امکان انتخاب همزمان صفات متعدد با یک نمونه DNA، شناسایی ژن‌های فرعی در حضور ژن‌های اصلی و تشخیص ژن‌های مطلوب و نامطلوب (Fakheri and Mehravar, 2013).

مطالعات زیادی در جهت شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده عملکرد دانه جو و صفات مرتبط با آن در شرایط محیطی مختلف مانند تنش خشکی و شوری انجام شده است (Fakheri and Mehravar, 2013; Mohammadi and Baom, 2008; Baghizadeh *et al.*, 2007; Peighambari *et al.*, 2005).

در ارتباط با تحمل به شوری در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو، تعداد ۱۱۱ QTL شناسایی شد که بین ۷/۹۹ تا ۳۳/۴۱ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کردند (Aminfar *et al.*, 2011). در پژوهشی جمعیت ۱۶۲ لاین خالص نوترکیب (RILs) مشتق‌شده از نسل F8, Arigashar, Igr1 (یک گیاه جو شش ردیف ایرانی بسیار متحمل به نمک) با Igr1 (جو دو ردیفه حساس به نمک) مورد ارزیابی قرار گرفتند. از مجموع بیست و شش QTL شناسایی شده، هفده QTL برای تحمل نمک در ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار NaCl شناسایی شدند که بر روی کروموزوم‌های 2H, 3H, 4H, 6H و 7H و گروه لینکازی L1 قرار داشتند. با توجه به QTL‌های همپوشان بر روی پدیده پلیوتروپی، در کل ۹ QTL متمایز بر روی کروموزوم‌های 2H, 4H و 6H قرار داشتند که به طور مؤثری تحمل به شوری را در جمعیت Igr1×Arigashar کنترل می‌کردند. یک QTL (QTWg4Hc) روی کروموزوم 4H در کنار

می‌دهد (Pitman and Lauchli, 2002) و از طرف دیگر با تأثیر بر ثبات عملکرد موجب افزایش عملکرد گیاهان در خاک‌های شور و قلیایی می‌شود. گیاهان متحمل به شوری آب بیشتری را از خاک‌های تحت‌الارضی جذب می‌نمایند؛ بنابراین، میزان آب مصرفی برای کشت و زرع و در نتیجه میزان افزایش خاک‌های شور را کاهش می‌دهند (Munns *et al.*, 2006). امروزه، با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک ارقام متحمل به تنش شوری تولید و معرفی شده‌اند (Munns and Tester, 2008).

جو یکی از گیاهان متحمل به شوری است و اغلب به عنوان گیاه مدل برای درک مکانیسم‌های سازگاری با شوری در گیاهان استفاده می‌شود. سازگاری با شوری در بین ژنوتیپ‌ها و مراحل رشدی جو متفاوت است (Saade *et al.*, 2018). از آن‌جا که تحمل به شوری یک صفت پیچیده ژنتیکی است. اکثر فرآیندهای گیاهی مؤثر در تحمل به شوری دارای توارث کمی هستند و تنوع پیوسته دارند. صفات کمی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Hosseinirad *et al.*, 2021). با کمک روش‌های مرسوم اصلاحی، می‌توان صفات زراعی را بهبود بخشید ولی برای انتخاب لاین‌های برتر نیاز به خلوص جوامع و دسترسی به نسل‌های پیشرفته اصلاحی می‌باشد. با استفاده از نشانگرهای مولکولی، تهیه نقشه لینکازی با چگالی بالا در بسیاری از گیاهان امکان‌پذیر شده است. با رشد سریع تهیه نقشه‌های لینکازی مترکم بر اساس نشانگرهای مولکولی و یافتن جایگاه صفت مسئول تنوع کمی (QTL) و استفاده از آن برای گزینش به کمک نشانگر (MAS)، انتخاب در نسل‌های اولیه برنامه‌های اصلاحی امکان‌پذیر شده و کارایی آن بهبود یافته است (Mahdinejad *et al.*, 2014).

ارتباطی، بین مکانیزم‌های توارثی ناشی از تنوع ژنتیکی مکان‌های تک‌ژنی منفرد و تنوع پیوسته فنوتیپی صفات کمی، رابطه برقرار می‌سازد (Phillipa, 1998). وقتی نشانگر یا نشانگرهایی با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی لینکاژ (پیوستگی) داشته باشند، گزینش به کمک نشانگر، گزینش بر اساس ژنوتیپ (نه فنوتیپ) خواهد بود و عوامل محیطی تأثیری در گزینش نخواهند داشت. در نتیجه، پاسخ به گزینش به بیشترین مقدار خود خواهد رسید (Dudley, 1997). نقشه‌یابی QTL‌ها ابزاری مفید و در دسترس برای اصلاح‌کنندگان نبات در ارتباط با مشخص شدن اساس ژنتیکی صفات مربوط به تحمل به تنش است (Rabiei *et al.*, 2014).

نشانگرهای مولکولی مرتبط با آن‌ها برای پیشنهاد در زمینه انتخاب به کمک مارکر برای تحمل به تنش شوری در جو است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، ۱۳۶ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام "Nure" و "Tremois" به همراه والدین آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. این جمعیت از دانشگاه واگنینگن^۱ (هلند) دریافت شدند. لاین‌های هاپلوئید مضاعف، با روش کشت بساک از نتاج F1 حاصل از تلاقی "Nure" و "Tremois" در Saaten-Union Resistenzlabor GmbH، آلمان استخراج شده‌اند (Francia *et al.*, 2004). والد زمستانه "Nure" [Fior40×Alpha²]× Barakal Istituto در ردفه با عملکرد بالا است که توسط بخش Sperimentale per la Cerealicoltura در Fiorenzuola، ایتالیا منتشر شده است. این رقم دارای طیف گسترده‌ای از سازگاری‌ها و جزو لیست مواد آزمایشی توصیه‌شده (RTL) ایتالیایی می‌باشد. والد بهاره "Tremois" [Dram×Aramir×Berar] یک رقم جو دو ردفه مدرن فرانسوی با عملکرد و کیفیت مالت بالا و جزو RTL می‌باشد (Francia *et al.*, 2004).

لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو به همراه والدین آن‌ها، در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار در ۱۲ بلوک ناقص در آبان‌ماه سال ۱۳۹۹، در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان زابل کشت شدند. این منطقه با طول جغرافیایی ۶۰ درجه و ۱۵ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۴۸۰ متر از سطح دریای آزاد دارای اقلیم بیابانی با تابستان بسیار خشک و زمستان ملایم می‌باشد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه در عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری خاک در جدول ۱ آورده شده است.

نشانگر XE41-M61 قرار داشت که چندین ویژگی از جمله طول جوله و کولتوپتیل و زیست‌توده جوله را کنترل می‌نمود (Ahmadi-Ochtapeh *et al.*, 2015). در پژوهشی دیگر، نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به شوری در جمعیت ۱۰۷ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی CM72 (متحمل به نمک) و Gairdner (حساس به شوری) مورد بررسی قرار گرفتند. برای ۱۰ صفت زراعی و سه صفت فیزیولوژیک، ۱۷ QTL تحت شرایط نرمال و ۱۳ QTL تحت شرایط تنش شوری شناسایی شدند (Xue *et al.*, 2009a). در مطالعاتی که بر روی لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Nure × Tremois صورت گرفته، نقشه‌یابی صفات پیچیده مانند تحمل به سرما (Tondelli *et al.*, 2006; Francia *et al.*, 2007)، پایداری عملکرد (Tondelli *et al.*, 2014; Francia *et al.*, 2011) و کیفیت مالت (Laidò *et al.*, 2009) انجام شده است. همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی دابل هاپلوئیدهای حاصل از این تلاقی، یک QTL اصلی روی کروموزوم 7H برای تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای شناسایی شد (Xue *et al.*, 2017). در این جمعیت در زمینه تأثیر شوری بر عملکرد و اجزای عملکرد مطالعات چندانی صورت نگرفته است و شاید بتوان گفت این اولین گزارش در این زمینه است.

به دلیل نقش و اهمیت استراتژیک جو در تغلیف دام، تولید مللت، تأمین پروتئین، تولید آن در دنیا و ایران و با توجه به نیاز شدید انسان‌ها به این غله چندمنظوره و نیز با توجه به این که آب و هوای خشک و نیمه‌خشک اکثر نقاط کشور ایران را در بر گرفته است و سطح وسیعی از اراضی آن دارای خاک‌های شور و قلیایی می‌باشد، شناسایی و اصلاح ارقام جو دارای تحمل به تنش شوری لازم و ضروری به نظر می‌رسد؛ لذا هدف از پژوهش حاضر، مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات آگرومورفولوژیک، برآورد میزان تأثیر هر یک و شناسایی

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه قبل از آزمایش

Table 1- Physical and chemical properties of the soil of the area before the experiment

نسبت کربن به نیتروژن	پتاسیم کل	فسفر کل	کربن آلی	ماده آلی	نیتروژن	هدایت الکتریکی	اسیدیته	بافت خاک
C/N	Total K	Total P	Organic carbon	Organic matter	Nitrogen	EC (ds/m)	pH	Soil texture
		(ppm)	(%)	(%)				
24.5	401.66	32.47	1.755	2.79	0.127	0.71	7.68	لومی رسی Clay loam

بر تعیین جایگاه و میزان اثر هر QTL، واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTLها در یک مدل رگرسیون چندگانه توجیه می‌شود، محاسبه گردید. اثرات QTL در قله موقعیت QTL و حدود اعتماد ۹۵ درصد QTLها به دست آمد. مکان‌یابی QTLها با نسخه ۲/۵ نرم‌افزار WinQTL Cartographer (Wang *et al.*, 2007) انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب ۱۳۶ لاین هاپلوئید مضاعف جو و ولدین آن‌ها، اثر ژنوتیپ بر کلیه صفات مورد بررسی بسیار معنی‌دار بود. این نشان‌دهنده تنوع بسیار بالا در این جمعیت می‌باشد. هم‌چنین با توجه به این که این‌ها جامعه لاین‌های دابل هاپلوئید می‌باشند بنابراین تنوع مشاهده شده در این جمعیت، غالباً ناشی از اثرات افزایشی می‌باشد. هم‌چنین اثر محیط بر تمامی صفات به جز وزن هزار دانه و طول ریشک بسیار معنی‌دار بود. اثر محیط بر صفت وزن هزار دانه معنی‌دار و بر صفت طول ریشک غیرمعنی‌دار بود. معنی‌دار بودن اثر محیط بر صفات مورد بررسی نشان‌دهنده این است که صفات مختلف بروز متفاوتی در دو شرایط نرمال و تنش شوری داشته‌اند. اثر متقابل ژنوتیپ در محیط بر صفات طول ریشک و وزن هزار دانه غیرمعنی‌دار و بر سایر صفات بسیار معنی‌دار بود (جدول ۲). بنابراین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در محیط نرمال و تنش عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان دادند.

همبستگی‌های ساده فنوتیپی ۱۳۶ لاین هاپلوئید مضاعف جو به همراه والدین آن‌ها برای صفات مورد بررسی در دو شرایط نرمال و تنش شوری در جدول ۳ نشان داده شده است. همبستگی فنوتیپی مثبت و بالایی بین عملکرد دانه با کلیه صفات مورد مطالعه مشاهده شد به جز در مورد صفت تعداد گره در بوته که دارای همبستگی منفی با عملکرد در شرایط نرمال و تنش (به ترتیب $-0/08$ و $-0/02$) بود. بیشترین میزان همبستگی در شرایط نرمال و بین تعداد پنجه در بوته با عملکرد دانه ($0/54$) و تعداد سنبله در بوته با عملکرد دانه ($0/54$) مشاهده گردید. در شرایط تنش نیز بین تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته با عملکرد دانه همبستگی بالایی ($0/19$) وجود داشت. بین وزن هزار دانه و عملکرد دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (به ترتیب در شرایط نرمال و تنش

لاین‌ها در پلات‌های چهار ردیفی به طول ۳ متر و فاصله بین خطوط ۲۵ سانتی‌متر کشت شدند. ابتدا بذور روی هر خط با تراکم متوسط کشت شدند پس از سبزشدن، عملیات تنک‌کاری به نحوی که فاصله دو بوته روی یک خط از هم سه سانتی‌متر باشد انجام گرفت. عملیات کاشت به صورت هیرم‌کاری و روش آبیاری مزرعه، به صورت جوی و پشته بود. برای آبیاری مزرعه، در محیط تنش شوری از آب با هدایت الکتریکی ۳۵۰ میلی‌مولار NaCl و در محیط نرمال از آب شیرین منطقه استفاده گردید. کلیه عملیات زراعی مورد نیاز در طول دوره رشد و نمو بوته‌ها در شرایط تنش و نرمال به طور یکسان انجام شد. پس از حذف اثر حاشیه، اندازه‌گیری صفات براساس میانگین ۱۰ بوته تصادفی از هر کرت انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تعداد گره، طول میانگره (سانتی‌متر)، تعداد پنجه در بوته، تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، طول ریشک (سانتی‌متر)، وزن هزار دانه (گرم) و عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) بود. اندازه‌گیری عملکرد بوته، با برداشت تمام بوته‌های هر کرت صورت گرفت. تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه برای دو شرایط نرمال و تنش شوری، همبستگی ساده فنوتیپی بین صفات و آماره‌های توصیفی برای شرایط نرمال و تنش به صورت جداگانه محاسبه شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ صورت گرفت.

نقشه نشانگری برخی از لاین‌های هاپلوئید مضاعف جوی مورد بررسی تهیه نشده است به همین جهت، تجزیه و تحلیل QTL با به‌کاربردن نقشه مربوط به نشانگرهای مولکولی حاصل از ۱۱۸ لاین هاپلوئید مضاعف جو انجام شد. این نقشه مرکب از ۵۴۳ نشانگر DArT، STS-SNP و SSR با طول ۱۱۴۱ و متوسط فاصله ۲/۸ سانتی‌مورگان بود (Aghnoum *et al.*, 2010; Francia *et al.*, 2004).

تجزیه QTL به طور مجزا برای هر یک از دو شرایط نرمال و تنش و میانگین آن‌ها انجام شد. جهت تعیین QTLها و برآورد اندازه اثر آن‌ها، از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) استفاده شد. حداقل LOD برای شناسایی QTLها ۲/۵ و حداقل فاصله پویس ۲ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. نشانگرهای پس زمینه (Cofactor) با رگرسیون پیش‌رو-پس‌رو (Forward and backward regression) تعیین شدند. علاوه

برای بهبود صفات مختلف همبسته با عملکرد کمک می کند (Koochakpour *et al.*, 2021).

در مطالعه حاضر، همبستگی منفی معنی داری بین تعداد پنجه در بوته و وزن هزار دانه (در شرایط نرمال و تنش به ترتیب $-0/29$ و $-0/24$) مشاهده شد و نشان دهنده این است که با افزایش تعداد پنجه، وزن هزار دانه کاهش می یابد. همبستگی منفی معنی دار بین تعداد سنبله در بوته و تعداد دانه در سنبله (در شرایط نرمال و تنش به ترتیب $-0/57$ و $-0/77$) احتمالاً به دلیل تقسیم مواد فتوسنتزی گیاه بین تعداد بیشتری سنبله است بنابراین تعداد دانه های تشکیل شده در هر سنبله کاهش می یابد. به همین ترتیب همبستگی منفی معنی دار بین تعداد سنبله در بوته و وزن هزار دانه نیز قابل توجه است.

۰/۱۶ و ۰/۲۵). بالاترین میزان همبستگی بین تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته در هر دو شرایط (۱) بود. یعنی با افزایش یا کاهش تعداد پنجه در بوته، تعداد سنبله نیز افزایش یا کاهش می یابد. در بررسی دابل هاپلوئیدهای جو بین عملکرد دانه و اجزای آن (تعداد سنبله در بوته و تعداد دانه در سنبله) همبستگی مثبت بسیار معنی داری گزارش شده است (Mohammadi and Baom, 2008). همبستگی بالای بین صفات ممکن است به دلیل مکان یکسان QTL های کنترل کننده یا به دلیل پیوستگی میان آن ها باشد. هم چنین تنوع یک صفت می تواند تنوع سایر صفات (پلیوتروپی) را تشریح کند (Siahsar *et al.*, 2008). اطلاعات مربوط به ماهیت و مقدار ضرایب همبستگی به نه‌زادگران در تعیین معیارهای انتخاب

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب لاین های هاپلوئید مضاعف جو به همراه والدین آن ها (Nure×Tremois) برای صفات زراعی

Table 2- Combined analysis of variance of barley double haploid lines and their parents (Nure×Tremois) for the agronomic traits

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	ارتفاع بوته Plant height	تعداد گره No. of node	طول میانگره Internode length	تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	طول ریشک Awn length	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield
محیط Environment	1	2.7**	10681**	1.6**	374**	2.7**	475**	0.71 ^{ns}	9.38*	116892**
تکرار (محیط) Rep (ENV)	2	0.03 ^{ns}	5.04 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.035 ^{ns}	15.7*	65.66**	3.44 ^{ns}	3544 ^{ns}
بلوک (تکرار × محیط) Block (Rep × ENV)	44	0.035 ^{ns}	5.24 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.035 ^{ns}	6.05 ^{ns}	1.004 ^{ns}	1.38 ^{ns}	2218 ^{ns}
ژنوتیپ Genotype	137	0.18**	139**	1.45**	7.79**	0.18**	21.93**	7.21**	24.33**	74421**
ژنوتیپ × محیط Genotype × ENV	137	0.05**	34.2**	0.33**	1.63**	0.05**	6.45**	0.7 ^{ns}	0.8 ^{ns}	12285**
خطا Error	230	0.029	4.5	0.06	0.31	0.028	4.49	1.06	1.53	1967
ضریب تغییرات CV (%)		5.56	2.26	4.03	3.76	7.37	8.59	7.26	3.31	2.17
ضریب تبیین R ²		86.8	97	94	96	87	84	0.84	92	97

ns, * و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Non-significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۳- همبستگی‌های ساده فنوتیپی صفات مورد بررسی در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) برای شرایط نرمال (پایین قطر) و تنش شوری (بالای قطر)

Table 3- Phenotypic correlations of the studied traits in barley double haploid lines and their parents (Nure×Tremois) for normal (above diagonal) and salt stress conditions (below diagonal)

صفت Trait	تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	ارتفاع بوته Plant height	تعداد گره No. of node	طول میانگره Internode length	تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	طول ریشک Awn length	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield
تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	1	-0.21*	-0.06	-0.09	1.00**	-0.77**	-0.06	-0.24**	0.19*
ارتفاع بوته Height of plant	-0.017	1	0.47**	0.25**	-0.21*	0.3**	0.24**	-0.09	0.05
تعداد گره No. of node	-0.014	0.33**	1	-0.72**	-0.06	0.18*	0.16*	-0.23**	-0.02
طول میانگره Length of internode	-0.011	0.36**	-0.75**	1	-0.09	0.04	0.01	0.17*	0.06
تعداد سنبله در بوته No. of spike/plant	1.00**	-0.017	-0.014	-0.012	1	-0.77**	-0.06	-0.24**	0.19*
تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	-0.57**	0.2*	0.12	0.03	-0.57**	1	0.16*	-0.06	0.29**
طول ریشک Awn length	0.048	0.16*	0.05	0.07	0.05	0.04	1	-0.02	0.16
وزن هزار دانه 1000-grain weight	-0.29**	-0.23**	-0.25**	0.09	-0.29**	-0.17*	-0.04	1	0.25**
عملکرد دانه Grain yield	0.54**	0.007	-0.08	0.08	0.54**	0.11	0.09	0.16*	1

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

تنش برای تمامی صفات در دامنه تغییرات نتاج قرار گرفتند و تفکیک متجاوز هم در جهت منفی و هم در جهت مثبت مشاهده شد و نتایج برتر و بدتر از والدین در این جمعیت مشاهده شدند. در تمامی صفات، ضریب تغییرات فنوتیپی بزرگتر از ضریب تغییرات ژنوتیپی بود. درصد ضریب تغییرات ژنتیکی (GCV) در دو محیط بین ۶/۶۲ تا ۱۱/۹ درصد متغیر بود. و درصد ضریب تغییرات فنوتیپی (PCV) بین ۷/۳ تا ۱۵/۶ درصد قرار داشت. بیشترین و کمترین ضریب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی در شرایط تنش به دست آمد. با توجه به تنوع موجود به نظر می‌رسد انتخاب برای بهبود آن‌ها مؤثر باشد. با این وجود کارآیی انتخاب بستگی به میزان توارث‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی دارد. میزان پیشرفت ژنتیکی و قابلیت توارث صفات مورد بررسی در جداول ۴ و ۵ آورده شده است. بالا بودن میزان قابلیت توارث نشان‌دهنده نقش کمتر محیط در کنترل صفات و تنوع ژنتیکی بالای صفات در لاین‌های مورد مطالعه است (Feizi *et al.*,

بر اساس جداول آماره‌های توصیفی (جداول ۴ و ۵)، شرایط نرمال، والد Tremois نسبت به والد Nure برای صفاتی مانند ارتفاع بوته، طول میانگره، تعداد دانه در سنبله، طول ریشک، وزن هزار دانه و عملکرد دانه مقادیر بیشتر و برای صفات تعداد پنجه در بوته، تعداد گره و تعداد سنبله در بوته مقادیر کمتری را نشان داد. این در حالی است که تحت شرایط تنش شوری، والد Tremois از نظر تمامی صفات بر والد Nure برتری داشت. اختلاف بین والدین برای صفت تعداد دانه در سنبله در هر دو شرایط نرمال و تنش، معنی‌دار و برای سایر صفات غیر معنی‌دار بود. اختلاف بین میانگین هاپلوئیدهای مضاعف و میانگین والدین آن‌ها برای کلیه صفات مورد بررسی غیر معنی‌دار بود. در نتیجه، هاپلوئیدهای مضاعف مورد بررسی، نماینده کل هاپلوئیدهای مضاعف ممکن حاصل از تلاقی Tremois و Nure بوده و صفات مورد بررسی با اثرات جمع‌پذیر زن‌ها کنترل می‌شوند. میانگین والدین در هر دو شرایط نرمال و

2019). صفاتی که دارای توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالا هستند ممکن است تحت کنترل عمل جمع پذیر ژن ها باشند و انتخاب برای آن ها مفید باشد.

جدول ۴- آماره های توصیفی صفات زراعی در لاین های هاپلوئید مضاعف جو و والدین آن ها (Nure×Tremois) در شرایط نرمال

Table 4- Descriptive statistics of agronomic traits in barley double haploid lines and their parents (Nure×Tremois) for normal condition

	تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	ارتفاع بوته Plant height	تعداد گره No. of node	طول میانگره Internode length	تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	طول ریشک Awn length	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield
Nure (P1)	3.23	101.17	6.16	16.4	2.48	24.5	11.7	36.8	2194.68
Tremois (P2)	3.08	103.25	5.74	18.02	2.3	27.5	14.01	38.68	2385.28
P ₁ -P ₂	0.14	2.07	0.41	1.6	0.14	3**	2.25	1.88	190.59
$= (P_1+P_2)/2\bar{x}_p$	3.15	102.2	5.95	17.2	2.4	26	12.9	37.74	2289.98
W _{DHs}	2.36	78.5	4.88	11.87	1.6	20	10.8	31.2	1653.78
B _{DHs}	3.47	116.3	8.7	20.45	2.7	33	18.2	45.5	2526.9
Range	1.11	37.87	3.8	8.57	1.1	13	7.3	14.3	873.14
\bar{x}_{DHs}	2.97	98.45	6.3	15.7	2.2	25.6	14.25	37.5	2055.1
SD _{DHs}	0.24	7.12	0.67	1.66	0.24	2.4	1.4	2.7	164.1
CV _{DHs}	8.05	7.23	10.65	10.56	10.7	9.5	9.7	7.2	7.98
$-\bar{x}_p\bar{x}_{DHs}$	-0.18	-3.75	0.35	-1.5	-0.2	-0.4	1.35	-0.24	-234.88
GG _N =W _{DH} -W _P	-0.72	-22.67	-0.86	-4.53	-0.7	-4.5	-0.9	-5.6	-540.9
GG _P =B _{DH} -B _P	0.24	13.05	2.54	2.43	0.22	5.5	4.19	6.82	141.62
GCV(%)	7.28	7.01	10.2	10.23	9.73	7.79	8.57	6.8	7.91
PCV(%)	8.68	7.3	10.97	10.83	11.6	9.34	10.9	7.54	8.18
GC (5%)	0.37	13.56	1.23	3.13	0.37	3.44	1.98	4.76	325.06
h ²	70.4	90.6	86.19	88.8	70.4	69.7	62.1	81.6	93.4

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. W_{DHs} بدترین لاین هاپلوئید مضاعف؛ B_{DHs} بهترین لاین هاپلوئید مضاعف؛ W_P بدترین والد؛ B_P بهترین والد؛ GG_N، پیشرفت ژنتیکی در جهت منفی؛ GG_P، پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت؛ GCV، ضریب تنوع ژنتیکی؛ PCV، ضریب تنوع فنوتیپی؛ GC5%، بازده ژنتیکی برای ۵ درصد گزینش؛ h²، توارث پذیری خصوصی.

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. W_{DHs}, DH with minimum trait value; B_{DHs}, DH with maximum trait value; W_P, parent with lower trait value; B_P, parent with higher trait value; GG_N, downward genetic gain; GG_P, upward genetic gain; GCV, genotypic coefficient of variation; PCV, phenotypic coefficient of variation; GC5%, genetic gain for 5% selection index; h², narrow sense heritability.

صفات مورد بررسی، ۲۴ جایگاه واجد QTL شناسایی شد به طوری که در شرایط نرمال ۹ عدد QTL (برای کلیه صفات به جز ارتفاع بوته، تعداد گره و طول ریشک)، در شرایط تنش ۸

QTL های صفات مختلف زراعی مربوط به جمعیت هاپلوئید مضاعف جو برای شرایط نرمال، تنش خشکی و میانگین دو شرایط در جداول ۶ و ۷ نشان داده شده است. در مجموع برای

نمودند. بالاترین واریانس فنوتیپی تبیین شده مربوط به تعداد دلنه در سنبله در میانگین دو شرایط، و پایین‌ترین واریانس فنوتیپی تبیین شده مربوط به صفات تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته و طول ریشک در شرایط نرمال بود. مقدار LOD در دامنه ۵/۰۴ - ۲/۵ قرار داشت. بیشترین و کمترین مقدار LOD مربوط به QTL‌های تعداد دانه در سنبله و تعداد گره هر دو در شرایط تنش بود.

عدد QTL (برای تمامی صفات به جز تعداد پنجه و تعداد سنبله در بوته) و در میانگین دو شرایط ۷ عدد QTL (برای کلیه صفات به جز تعداد سنبله در بوته، طول ریشک و عملکرد دانه) به دست آمد. برای صفت طول میانگره در دو شرایط نرمال و تنش هیچ QTL یافت نشد در حالی که در میانگین دو شرایط برای این صفت، یک عدد QTL شناسایی شد (جدول ۶ و ۷). این QTL‌ها، واریانس فنوتیپی بین ۸ تا ۱۶ درصد را تبیین

جدول ۵- آماره‌های توصیفی صفات زراعی در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) در شرایط تنش شوری

Table 5- Descriptive statistics of agronomic traits in barley double haploid lines and their parents (Nure×Tremois) for salt stress condition

	تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	ارتفاع بوته Plant height	تعداد گره No. of node	طول میانگره Internode length	تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	طول ریشک Awn length	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield
Nure (P1)	3.022	88.4	6.2	14.27	2.27	25	12	36.16	2048.02
Tremois (P2)	3.056	95.3	6.4	14.9	2.3	26	12.38	37.95	2203.85
P1-P2	0.034	6.87	0.2	0.65	0.034	1.0**	0.39	1.78	155.8
$=(P_1+P_2)/2\bar{x}_p$	3.04	91.88	6.3	14.6	2.29	25.5	12.19	37.06	2125.94
W _{DHs}	2.5	67.12	4.47	10.3	1.7	16	9.6	31.7	1694.6
B _{DHs}	3.9	104.7	8.67	19.4	3.2	32	17.8	45.5	2391.7
Range	1.45	37.6	4.2	9.05	1.45	16	8.2	13.7	697.1
\bar{x}_{DHs}	3.13	89.2	6.4	14.05	2.38	23.65	14.1	37.2	2025.5
SD _{DHs}	0.29	7.2	0.7	1.5	0.29	3.3	1.53	2.6	157.8
CV _{DHs}	9.4	8.13	11.4	11	12.3	13.97	10.8	7.08	7.8
$-\bar{x}_p\bar{x}_{DHs}$	0.09	-2.68	-0.1	-0.55	0.09	-1.85	1.91	0.14	-100.44
GG _N =W _{DH} -W _P	-0.52	-21.28	-1.73	-3.97	-0.57	-9	-2.4	-4.46	-353.42
GG _P =B _{DH} -B _P	0.84	9.4	2.27	4.5	0.9	6	5.42	7.55	187.85
GCV(%)	8.14	7.9	10.99	10.6	10.71	11.9	9.3	6.62	7.59
PCV(%)	10.35	8.26	11.7	11.25	13.6	15.6	12.08	7.42	7.9
GC (5%)	0.414	14.01	1.36	2.89	0.41	4.43	2.1	4.54	304.39
h ²	61.9	92.09	88.2	88.7	61.9	58	59.6	79.7	91.7

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. W_{DHs} بدترین لاین هاپلوئید مضاعف؛ B_{DHs} بهترین لاین هاپلوئید مضاعف؛ W_P بدترین والد؛ B_P بهترین والد؛ GG_N، پیشرفت ژنتیکی در جهت منفی؛ GG_P، پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت؛ GCV، ضریب تنوع ژنتیکی؛ PCV، ضریب تنوع فنوتیپی؛ GC5%، بازده ژنتیکی برای ۵ درصد گزینش؛ h²، توارث پذیری خصوصی.

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. W_{DHs}, DH with minimum trait value; B_{DHs}, DH with maximum trait value; W_P, parent with lower trait value; B_P, parent with higher trait value; GG_N, downward genetic gain; GG_P, upward genetic gain; GCV, genotypic coefficient of variation; PCV, phenotypic coefficient of variation; GC5%, genetic gain for 5% selection index; h², narrow sense heritability.

جدول ۶- QTL‌های صفات مورد بررسی در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) تحت شرایط نرمال و تنش شوری
 Table 6- QTLs of the studied traits in double haploid lines of barley and their parents (Nure×Tremois) under normal and salt stress conditions

صفات Traits	QTL	گروه لینکازی Linkage Group	نزدیکترین نشانگر Nearest marker	موقعیت QTL QTL position	LOD		اثر آلی (افزایشی) Allelic effect (additive)		ضریب تبیین (%) R ² %	
					تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال
					Stress	Normal	Stress	Normal	Stress	Normal
تعداد پنجه در بوته No. of tiller/plant	<i>Qnt1Hna</i>	1H	bPb-4813-1H	31	-	2.8	-	-0.09	-	9
	<i>Qnt1Hnb</i>	1H	E41M38_206-1H	46.2	-	2.7	-	0.1	-	8
ارتفاع بوته Plant height	<i>Qpht2Hs</i>	2H	bPb-1154-2H	147.2	2.9	-	-2.72	-	9.8	-
تعداد گره No. of node	<i>Qnn7Hs</i>	7H	bPb-1209-7H	46.5	2.5	-	-0.22	-	8	-
تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	<i>Qns1Hna</i>	1H	bPb-4813-1H	31	-	2.84	-	-0.09	-	9
	<i>Qns1Hnb</i>	1H	E41M38_206-1H	46.2	-	2.77	-	0.1	-	8
تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	<i>Qng2H</i>	2H	bPb-8737-2H	110.8	5.04	4.02	-1.32	-0.92	15	12
	<i>Qng5Hn</i>	5H	bPb-9147-5H	168.7	-	3.57	-	0.89	-	10
طول ریشک Awn length	<i>Qal1Hs</i>	1H	bPb-1541-1H	55.1	2.8	-	-0.48	-	9	-
عملکرد دانه Grain yield	<i>Qgy2Hsa</i>	2H	bPb-5942-2H	142.8	2.79	-	-50.3	-	9	-
	<i>Qgy2Hsb</i>	2H	HvCSG-2H	152.3	3.75	-	-54.88	-	11	-
	<i>Qgy2Hsc</i>	2H	bPb-4092-2H	154.6	2.75	-	-49.48	-	9	-
	<i>Qgy3Hn</i>	3H	bPb-2324-3H	52.1	-	2.87	-	-49.2	-	9
وزن هزار دانه 1000-grain weight	<i>Qtgw1H</i>	1H	WMC1E8-1H	112.6	4.02	4.18	1.01	1.02	12	13
	<i>Qtgw3Hn</i>	3H	bPb-9207-3H	179.5	-	2.9	-	1.1	-	8

LOD: احتمال درست‌نمایی؛ اثر افزایشی مثبت نشان می‌دهد که آلل Nure مقدار صفت را افزایش داده است. ($R^2(\%) =$ درصد واریانس فنوتیپی که توسط هر QTL توجیه می‌شود؛

LOD: The likelihood of odds; Positive value indicate that the "Nure" allele increases the trait value; $R^2(\%) =$ Percentage of phenotypic variance explained by the QTLs.

شناسایی شده، روی کروموزوم 2H و در موقعیت ۱۴۷/۲ سانتی‌مورگان و در نزدیکی نشانگر bPb-1154-2H قرار داشتند. واریانس فنوتیپی تبیین شده به وسیله آن‌ها ۹/۸ و ۱۱ درصد به ترتیب در شرایط تنش و میانگین دو شرایط بود. برای صفت طول میانگره، در شرایط نرمال و تنش شوری، QTLی یافت نشد ولی در میانگین دو شرایط، یک QTL (*Qil1Hm*) بر روی کروموزوم 1H در موقعیت ۷۳/۲ سانتی‌مورگان و در نزدیکی نشانگر E39M61_247-1H شناسایی شد که ۹ درصد از تنوع فنوتیپی کل را توجیه می‌کرد. این QTL دارای اثر افزایشی ۰/۴۳- بود. برای صفت تعداد گره در شرایط تنش یک QTL شناسایی

QTL‌های مکان‌یابی شده در مجموع ۱۷ درصد از تنوع کل تعداد پنجه در بوته را در شرایط نرمال تبیین نمودند. در شرایط نرمال برای این صفت دو QTL شناسایی شد، در حالی که در شرایط تنش و میانگین دو شرایط هیچ QTLی برای این صفت یافت نشد. QTL‌های *Qnt1Hna* و *Qnt1Hnb* هر دو بر روی کروموزوم 1H در جایگاه‌های ۳۱ و ۴۶/۲ سانتی‌مورگان نزدیک نشانگرهای bPb-4813-1H و E41M38_206-1H نقشه‌یابی شدند. برای صفت ارتفاع بوته در مجموع دو QTL در شرایط تنش (*Qpht2Hs*) و میانگین دو شرایط (*Qpht2Hm*) شناسایی شد در حالی که در شرایط نرمال، QTLی یافت نشد. هر دو QTL

کروموزوم 1H قرار داشتند و در مجموع ۱۷ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند. این QTLها در موقعیت‌های ۳۱ و ۴۶/۲ سانتی‌مورگان و به ترتیب در مجاورت نشانگرهای bPb-4813-1H و E41M38_206-1H قرار داشتند. QTLهای شناسایی شده دارای اثرات افزایشی به ترتیب ۰/۱ و ۰/۰۹ بودند. در مطالعه جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی CM72 و Gairdner تحت تنش شوری، برای صفت تعداد سنبله در بوته ۳ QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 5H و 7H شناسایی شدند (Xue et al., 2009b). تفاوت نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج ما احتمالاً به دلیل تفاوت جمعیت‌های مورد استفاده می‌باشد.

شد که بر روی کروموزوم 7H در موقعیت ۴۶/۵ سانتی‌مورگان و در مجاورت نشانگر bPb-1209-7H قرار داشت قرار داشت این QTL دارای اثر افزایشی ۰/۲۲- بود و ۸ درصد از تنوع فنوتیپی کل را توجیه نمود. در شرایط نرمال برای این صفت QTLی شناسایی نشد. در حالی که در میانگین دو شرایط یک QTL روی کروموزوم 6H در موقعیت ۵۷/۸ سانتی‌مورگان در مجاورت نشانگر bPb-unk3-6H تعیین مکان گردید که ۹ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه نمود. این QTL دارای اثر افزایشی ۰/۲۹ بود. دو QTL (*Qns1Hnb* و *Qns1Hna*) برای صفت تعداد سنبله در بوته در شرایط نرمال شناسایی شد در شرایط تنش و میانگین دو شرایط برای این صفت، هیچ QTLی یافت نشد. QTLهای شناسایی شده در شرایط نرمال هر دو بر روی

جدول ۷- QTLهای صفات مورد بررسی در لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) برای میانگین دو شرایط

Table 7- QTLs of the studied traits in double haploid lines of barley and their parents (Nure×Tremois) for the mean of two conditions

صفت Traits	QTL	گروه لینکاژی Linkage Group	نزدیکترین نشانگر Nearest marker	موقعیت QTL QTL position	LOD	اثر آلی (افزایشی) Allelic effect (additive)	R ² %	R ² کل Total R ² %
ارتفاع بوته Plant height	<i>Qpht2Hm</i>	2H	bPb-1154-2H	147.2	3.378	-2.66	11	11
طول میانگره Internode length	<i>Qil1Hm</i>	1H	E39M61_247-1H	73.2	2.8	-0.43	9	9
تعداد گره No. of node	<i>Qnm6Hm</i>	6H	bPb-unk3-6H	57.8	3.2	0.29	9	9
تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	<i>Qng2Hma</i>	2H	E42M38_235-2H	109.6	4.9	-1.06	16	25
	<i>Qng2Hmb</i>	2H	E42M38_210-2H	118.3	2.7	-0.7	9	
وزن هزار دانه 1000-grain weight	<i>Qtgw1Hm</i>	1H	WMC1E8-1H	112.6	4.12	0.98	12	21
	<i>Qtgw3Hm</i>	3H	bPb-5864-3H	180.5	2.9	1.09	9	

LOD: احتمال درست‌نمایی؛ اثر افزایشی مثبت نشان می‌دهد که آلل Nure مقدار صفت را افزایش داده است. (R²(%) = درصد واریانس فنوتیپی که توسط هر QTL توجیه می‌شود؛

LOD: The likelihood of odds; Positive value indicate that the "Nure" allele increases the trait value; R² (%) = Percentage of phenotypic variance explained by the QTLs.

و دو QTL در میانگین دو شرایط (*Qng2Hmb* و *Qng2Hma*) شناسایی شدند. در شرایط نرمال QTLها به ترتیب روی کروموزوم‌های 2H و 5H در مکان‌های ۱۱۰/۸ و ۱۶۸/۷ سانتی‌مورگان نزدیک نشانگرهای bPb-8737-2H و bPb-

QTLهای صفت تعداد دانه در سنبله حدود ۲۲، ۱۵ و ۲۵ درصد از تنوع کل را به ترتیب در شرایط نرمال، تنش شوری و میانگین دو شرایط تشریح نمودند. دو QTL در شرایط نرمال (*Qng2H* و *Qng5Hn*)، یک QTL در شرایط تنش (*Qng2H*)

سه QTL (*Qgy2Hsa*، *Qgy2Hsb* و *Qgy2Hsc*) نقشه‌یابی شدند که در مجموع به ترتیب ۲۹ و ۹ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند. در شرایط تنش شوری، هر سه QTL روی کروموزوم 2H و در جایگاه‌های ۱۴۲/۸، ۱۵۲/۳ و ۱۵۴/۶ سانتی‌مورگان و به ترتیب در نزدیکی نشانگرهای bPb-5942-2H، HvCSG-2H و bPb-4092-2H قرار داشتند. این QTLها به ترتیب ۹، ۱۱ و ۹ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را تبیین نمودند. QTL شناسایی شده در شرایط نرمال روی کروموزوم 3H و در موقعیت مکانی ۵۲/۱ سانتی‌مورگان و در مجاورت نشانگر bPb-2324-3H قرار داشت. در میانگین دو شرایط برای صفت عملکرد دانه QTLی مشاهده نشد. در مطالعه همین جمعیت (Nure×Tremoise) در مناطق مدیترانه‌ای، QTLهای مربوط به عملکرد دانه بر روی کروموزوم‌های 2H، 5H و 1H و برای اجزای عملکرد، QTLهایی بر روی کروموزوم 4H شناسایی شدند. در این مطالعه بیشترین تعداد QTLهای شناسایی شده برای عملکرد، روی کروموزوم 2H قرار داشت (Tondelli *et al.*, 2014). مطالعه ما نیز اکثر QTLهای صفات مورد بررسی روی کروموزوم 2H قرار دارند؛ بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً ژن‌های کنترل‌کننده عملکرد روی کروموزوم 2H قرار دارند.

QTLهای وزن هزار دانه در مجموع ۲۱، ۱۲ و ۲۱ درصد از تغییرات فنوتیپی کل این صفت را به ترتیب در شرایط نرمال، تنش شوری و میانگین دو شرایط تبیین نمودند. دو جایگاه واجد QTL برای صفت وزن هزار دانه در شرایط نرمال (*Qtgw1H* و *Qtgw3Hn*)، یک جایگاه واجد QTL در شرایط تنش (*Qtgw1H*) و دو جایگاه واجد QTL برای میانگین دو شرایط (*Qtgw1Hm* و *Qtgw3Hm*) شناسایی شدند. در شرایط نرمال این QTLها به ترتیب روی کروموزوم‌های 1H و 3H در مکان‌های ۱۱۲/۶ و ۱۷۹/۵ سانتی‌مورگان، نزدیک نشانگرهای WMC1E8-1H و bPb-9207-3H قرار داشتند و به ترتیب ۱۳ و ۸ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را تبیین نمودند. در شرایط تنش، QTL شناسایی شده روی کروموزوم 1H، در موقعیت ۱۱۲/۶ سانتی‌مورگان در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H قرار داشت و ۱۲ درصد از تنوع این صفت را تبیین نمود. برای میانگین دو شرایط، QTLهای نقشه‌یابی شده روی کروموزوم‌های 1H و 3H به ترتیب در مکان‌های ۱۱۲/۶ و

5H-9147 قرار داشتند. در شرایط تنش، QTL شناسایی شده روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر bPb-8737-2H نقشه‌یابی گردید. در میانگین دو شرایط هر دو QTL نقشه‌یابی شده روی کروموزوم 2H و به ترتیب در مکان‌های ۱۰۹/۶ و ۱۱۸/۳ در مجاورت نشانگرهای E42M38_235-2H و E42M38_210-2H قرار داشتند. QTL بزرگ اثر و پایدار *Qng2H* در هر دو شرایط نرمال و تنش در مجاورت نشانگر bPb-8737-2H با LOD برابر ۴/۰۲ و ۵/۰۴ قرار داشتند که نشان‌دهنده غیر حساس بودن این QTL به شرایط محیطی متفاوت است.

در مطالعه‌ای بر روی جمعیت ژنوتیپ‌های جو، برای صفت تعداد دانه در سنبله در شرایط نرمال، QTLهایی بر روی کروموزوم‌های 5H، و در شرایط تنش خشکی، QTLهایی بر روی کروموزوم‌های 3H، 5H و 6H شناسایی شدند (Jabbari *et al.*, 2018). در پژوهشی جهت مکان‌یابی QTLهای تحمل به شوری، در جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی Clipper و Sahara 3771 برای صفت تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه یک QTL مشترک روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر Vrs1 شناسایی شد (Barati *et al.*, 2017). طبق برخی گزارشات، تفاوت در QTLهای شناسایی شده به دلیل اختلافات ژنوتیپی جمعیت‌های جو در تحمل به شوری است (Xue *et al.*, 2009b).

تنها یک جایگاه واجد QTL برای صفت طول ریشک در شرایط تنش شوری (*QalHs*) شناسایی شد در حالی که در شرایط نرمال و میانگین دو شرایط هیچ QTLی برای این صفت یافت نگردید. QTL شناسایی شده روی کروموزوم 1H در موقعیت ۵۵/۱ سانتی‌مورگان و در مجاورت نشانگر bPb-1541-1H قرار داشت و ۹ درصد از تنوع فنوتیپی کل را توجیه نمود. برای صفت طول ریشک تحت تنش در مطالعات قبلی، QTLهایی بر روی کروموزوم‌های 2H و 4H در جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی Steptoe و Morex شناسایی شد (Fakheri and Mehravaran, 2013). تفاوت در جایگاه‌های شناسایی شده احتمالاً به دلیل تفاوت جمعیت‌های مورد مطالعه است.

برای صفت عملکرد دانه در مجموع چهار QTL شناسایی شد. در شرایط نرمال یک QTL (*Qgy2Hn*) و در شرایط تنش

شکسته نمی‌شود. چرا که پلیوتروپی اجزای فرعی صفات را کنترل می‌کند. در پلیوتروپی انتخاب یک صفت باعث کاهش یا افزایش صفات همبسته می‌شود. اثر بزرگ QTL‌های جایگاه ۳۱ سانتی‌مورگان در نزدیکی نشانگر bPb-4813-1H روی کروموزوم 1H بر صفات تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته و نیز اثر بزرگ QTL‌های جایگاه ۴۶/۲ سانتی‌مورگان در نزدیکی نشانگر E41M38_206-1H روی کروموزوم 1H نشان‌دهنده این است که احتمالاً ژن‌های خوشه‌ای کنترل‌کننده اجزای عملکرد دانه در این نواحی از کروموزوم قرار گرفته است. QTL‌ها معمولاً شامل تعداد زیادی ژن یا مکان‌های ژنی می‌باشند که همه یا بعضی یا حتی گاهی یکی از آن‌ها به صفت کمی مربوط می‌شوند. بیشتر QTL‌ها دارای اثرات کوچک‌اند فقط تعدادی از آن‌ها اثرات قوی نشان می‌دهند، بنابراین شناسایی QTL‌های با اثر بزرگ بر روی فنوتیپ امکان‌پذیر می‌شود (Khalili and Mohammadian, 2016). در اینجا QTL‌های دارای R^2 بالاتر از ۱۰ و LOD بیشتر از ۳ به عنوان QTL‌های قوی و بزرگ اثر معرفی می‌شوند. در این تحقیق در مجموع دو شرایط و میانگین آن‌ها، ۷ عدد QTL قوی و بزرگ اثر شناسایی شد. برای صفت تعداد دانه در سنبله، در شرایط نرمال و تنش، یک QTL روی کروموزوم 2H (*Qng2H*) در مجاورت نشانگر bPb-8737-2H و هم‌چنین QTL دیگری در شرایط نرمال، روی کروموزوم 5H (*Qng5Hn*) در مجاورت نشانگر bPb-9147-5H، QTL‌های قوی و بزرگ اثر بودند. هم‌چنین برای صفت عملکرد دانه در شرایط تنش، یک QTL (*Qgy2Hsb*) در مجاورت نشانگر HvCSG-2H و برای صفت وزن هزار دانه در شرایط نرمال، یک QTL (*Qtgw1H*) در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H، QTL‌های قوی و بزرگ اثر بودند. در میانگین دو شرایط، برای صفت ارتفاع بوته یک QTL (*Qpht2Hm*) در مجاورت نشانگر bPb-1154-2H، برای صفت تعداد دانه در سنبله یک QTL (*Qng2Hma*) در مجاورت نشانگر E42M38_235-2H، و برای صفت وزن هزار دانه، یک QTL (*Qtgw1Hm*) در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H، QTL‌های قوی و بزرگ اثری بودند. واضح‌ترین QTL بزرگ اثر در این مطالعه، مربوط به تعداد سنبله در بوته (*Qng2Hma*) در میانگین دو شرایط روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر E42M38_235-2H با LOD برابر با ۴/۹ بود که بیش از ۱۶

۱۸/۵ سانتی‌مورگان و در نزدیکی نشانگرهای WMC1E8-1H و bPb-5864-3H قرار داشتند. این QTL‌ها به ترتیب ۱۲ و ۹ درصد از تغییرات فنوتیپی کل را توجیه نمودند. QTL‌های شناسایی شده روی کروموزوم 1H (*Qtgw1H*) در شرایط نرمال و تنش در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H هم مکان بودند که نشان از تظاهر این QTL در شرایط محیطی متفاوت دارد. این در حالیست که در مطالعه‌ای جهت بررسی جایگاه‌های ژنومی کنترل‌کننده صفت وزن هزار دانه در جمعیت جوی بهاره، یک QTL بر روی کروموزوم 2H در فاصله ۱۰/۸۷ سانتی‌مورگان و یک QTL روی کروموزوم 4H در فاصله ۱۲۵/۰۸ سانتی‌مورگان شناسایی شده است (Koochakpour *et al.*, 2021).

اجزای عملکرد دانه صفات پیچیده چند ژنی هستند که تحت تأثیر محیط و عوامل ژنتیکی و تعامل بین آن‌ها قرار می‌گیرند (Farokhzadeh *et al.*, 2019). هم‌مکانی یا هم‌پوشانی دو QTL بر روی یک کروموزوم، همبستگی فنوتیپی معنی‌دار بین دو صفت را نشان می‌دهد. نوع اثرات افزایشی مربوط به این QTL‌ها توجیه‌کننده همبستگی مثبت و منفی بین صفات است. QTL‌های هم‌مکانی که دارای اثرات افزایشی مشابه هستند، دارای همبستگی مثبت و QTL‌های هم‌مکانی که دارای اثرات افزایشی متفاوتند دارای همبستگی منفی می‌باشند (Farokhzadeh *et al.*, 2019). هم‌مکانی چند QTL باعث همبستگی بالای صفات می‌شود از طرفی همبستگی‌های ضعیف بین صفات به دلیل عدم وجود QTL مشترک بین آن‌ها می‌باشد (Fakheri and Mehravar, 2013). در این تحقیق برای صفات تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته QTL‌های هم‌مکان *Qnt1Hna* و *Qns1Hna* در جایگاه ۳۱ سانتی‌مورگان و *Qnt1Hnb* و *Qns1Hnb* در جایگاه ۴۶/۲ سانتی‌مورگان، بر روی کروموزوم 1H مشاهده شد از طرفی اثرات افزایشی آن‌ها مشابه بود که نشان‌دهنده همبستگی بالای بین این دو صفت می‌باشد. در تحقیقی دیگر در بررسی صفات مورفولوژیکی در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Steptoe×Morex، هم‌مکانی QTL‌های این دو صفت مشاهده شده است (Fakheri and Mehravar, 2013).

هم‌مکانی QTL‌ها به دلیل لینکاژ بین دو ژن، یا اثر پلیوتروپی یک ژن است (Farokhzadeh *et al.*, 2020). در هم‌مکانی ناشی از اثرات پلیوتروپی همبستگی بین صفات هرگز

درصد از واریانس فنوتیپی کل را توجیه نمود.

از مهم‌ترین اهداف به‌نژادی گیاهی، اصلاح ژنوتیپ‌های دارای عملکرد و کیفیت بالا است به‌طوری‌که در محیط‌های مختلف از پایداری لازم برخوردار باشند (Yadav *et al.*, 2003). برای دست‌یابی به پایداری یک رقم، یک راه شناسایی QTL‌های پایدار یا QTL‌های دارای حداقل اثر متقابل QTL در محیط ($Q \times E$) است که در گزینش به کمک نشانگر برای دست‌ورزی صفات مفید باشند. راه دیگر، دست‌یابی به ارقام دارای سازگاری وسیع از طریق هرمی کردن QTL‌های متفاوت مربوط به اقلیم‌های گوناگون در یک رقم است. بنابراین برای اهداف به‌نژادی، اولین موضوع پایداری در ظهور QTL‌های نقشه‌یابی شده‌ای است که ممکن است کاندیدای گزینش به کمک نشانگر باشند. QTL‌های پایدار، باعث پایداری نسبی کنترل ژنتیکی می‌شوند و بر اثر متقابل $Q \times E$ فائق می‌آیند. برای دست‌یابی به QTL‌های پایدار لازم است آزمایش در چند محیط مختلف تکرار شود تا QTL‌های محیط اختصاصی شناسایی شوند (Farokhzadeh *et al.*, 2020; Mahdinejad *et al.*, 2014). پایداری QTL‌ها در محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی مختلف، به دلیل کنترل صفات توسط تعداد اندکی مکان ژنی با اثرات زیاد است. این موضوع، مهم‌ترین بخش گزینش به کمک نشانگر است (Fakheri and Mehravaran, 2014). در بین ۲۴ عدد QTL شناسایی شده تنها یک QTL در دو شرایط و میانگین دو شرایط دارای ثبات و پایداری بود. سایر صفات از پایداری لازم برخوردار نبودند و QTL‌های متنوعی برای آن‌ها شناسایی شد. QTL پایدار شناسایی شده (*Qtgw1H*) مربوط به صفت وزن هزار دانه بود که از آن می‌توان در انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود. نشانگرهای شناسایی شده برای این صفت، علاوه بر لینکاژ نزدیک با ژن مربوط به صفت وزن هزار دانه، دارای وراثت‌پذیری بالایی بوده و به آسانی قابل مشاهده است. از

نشانگرهای شناسایی شده مربوط به QTL‌های پایدار می‌توان در مطالعات بعدی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش، بین کلیه ژنوتیپ‌ها اختلافات آماری معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین اثر ژنوتیپ در محیط بر کلیه صفات به جز وزن هزار دانه و طول ریشک معنی‌دار بود یعنی وزن هزار دانه و طول ریشک در ژنوتیپ‌ها، تحت تأثیر محیط قرار نگرفتند. QTL‌های مربوط به دو صفت تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته دارای جایگاه یکسانی بودند که نشان‌دهنده لینکاژ و همبستگی بین این صفات می‌باشد. در این تحقیق از ۲۴ عدد QTL شناسایی شده فقط یک QTL مربوط به صفت وزن هزار دانه (*Qtgw1H*)، در هر سه شرایط پایدار بود و گزینه مناسبی در گزینش به کمک نشانگر است. با این حال، تکرار آزمایش در سال‌ها و مکان‌های بیشتر و متفاوت جهت بررسی پایداری QTL‌ها باید صورت گیرد چرا که دست‌یابی به QTL‌های پایدار در محیط‌های مختلف، باعث غلبه بر اثر متقابل ژنوتیپ در محیط می‌شود. هم‌چنین در این تحقیق، ۷ QTL بزرگ اثر و قوی شامل *Qng5Hn*، *Qng2H* و *Qtgw1H*، *Qng2Hma*، *Qphi2Hm*، *Qgy2Hsb* و *Qtgw1Hm* شناسایی شد که دارای R^2 بالاتر از ۱۰ و بالاتر از ۳ بودند. واضح‌ترین QTL بزرگ اثر در این مطالعه، مربوط به تعداد سنبله در بوته (*Qng2Hma*) در میانگین دو شرایط روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر E42M38_235-2H با LOD برابر با ۴/۹ بود که بیش از ۱۶ درصد از واریانس فنوتیپی کل را توجیه نمود. QTL‌های تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته، QTL‌های هم مکان بودند هم مکانی آن‌ها نشان‌دهنده این است که این دو صفت دارای همبستگی شدید با هم می‌باشند.

References

- Aghnoum, R., Marcel, T.C., Johrde, A., Pecchioni, N., Schweizer, P. and Niks, R.E. 2010. Basal host resistance of barley to powdery mildew: Connecting quantitative trait loci and candidate genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23, pp.91-10. doi: 10.1094/mpmi-23-1-0091
- Ahmadi-Ochtapeh, H., Soltanloo, H., Ramazanpour, S.S., Naghavi, M.R., Nikkhah, H.R. and Yoosefi Rad, S. 2015. QTL mapping for salt tolerance in barley at seedling growth stage. *Biologia Plantarum*, 59(2), pp.283-

290. doi: 10.1007/s10535-015-0496-z

- Aminfar, Z., Dadmehr, M., Korouzhdehi, B., Siahisar, B.A. and Heidari, M. 2011. Determination of chromosomes that control physiological traits associated with salt tolerance in barley at the seedling stage. *African Journal of Biotechnology*, 10(44), pp.8794-8799. doi: 10.5897/ajb10.1538
- Baghizadeh, A., Taei, A.R. and Naghavi, M.R. 2007. QTL analysis for some agronomic traits in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agriculture and Biology*, 2, pp.372-374.
- Barati, A., Moghadam, M., Mohammadi, S.A., Ghazvini, H.A. and Sadeghzadeh, B. 2017. Identification of QTLs associated with agronomic and physiological traits under salinity stress in barley. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19, pp.185-200.
- Dudley, J.W. 1997. Quantitative genetic and plant breeding. *Advanced Agronomy*, 59, pp.1-23.
- Fakheri, B.A. and Mehravaran, L. 2013. Locating QTLs Controlling Agronomic Traits of "Steptoe×Morex" Derived Double Haploid Population of Barley under Drought Stress Conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 44(1), pp.47-57. [In Persian]. doi: 10.22059/ijfcs.2013.30483
- Fakheri, B.A. and Mehravaran, L. 2014. QTLs mapping of physiological and biochemical traits of barley under drought stress condition. *Iranian Journal of Sciences*, 4(60), pp.367-386. [In Persian].
- FAO. 2008. FAOSTAT. Land and plant nutrition management service. Available at <http://www.fao.org/ag/Agl/agll/spuch>.
- FAO. 2013. FAOSTAT. The state of food and agriculture, Food system for better nutrition. <http://faostat.fao.org/site>.
- Farokhzadeh, S., Fakheri, B.A., Mahdinejad, N., Tahmasebi, S. and Mirsoleimani, A. 2019. Mapping QTLs of flag leaf morphological and physiological traits related to aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(4), pp. 975-990. doi: 10.1007/s12298-019-00670-8
- Farokhzadeh, S., Fakheri, B.A., Mahdinejad, N., Tahmasebi, S., Mirsoleimani, A. and Heidari, B. 2020. Mapping QTLs associated with grain yield and yield-related traits under aluminum stress in bread wheat. *Crop and Pasture Science*, 71(5), pp.429-444. doi: 10.1071/cp19511
- Feizi, M., Solouki, M., Sadeghzadeh, B., Fakheri, B. and Mohammadi, S.A. 2019. QTL Mapping for Higher Seed Zn Concentration and Content in Barley using SSR Markers. *Journal of Crop Breeding*, 11(30), pp.58-67. [In Persian].
- Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A., Galiba, G., Toth, B., Hayes, P., Skinner, J. and Pecchioni, N. 2004. Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure'(winter)×'Tremois'(spring) barley map. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, pp.670-680. doi: 10.1007/s00122-003-1468-9
- Francia, E., Barabaschi, D., Tondelli, A., Laidò, G., Rizza, F., Stanca, A.M. and Pecchioni, N. 2007. Fine mapping of a HvCBF gene cluster at the frost resistance locus Fr-H2 in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 115(8), pp.1083-1091. doi: 10.1007/s00122-007-0634-x
- Francia, E., Tondelli, A., Rizza, F., Badeck, F.W., Nicosia, O.L.D., Akar, T. and Pecchioni, N. 2011. Determinants of barley grain yield in a wide range of Mediterranean environments. *Field Crops Research*, 120(1), pp.169-

178. doi: **10.1016/j.fcr.2010.09.010**
- Hosseini-rad, F., Jorjani, E., Sabouri, H. and Gholamalipor Alamdari, E. 2021. Detection of quantitative genes controlling of metabolic in rice seedling under salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 13(4), pp.1271-1280. [In Persian]. doi: **10.22077/escs.2020.2344.1607**
- Jabbari, M., Fakheri, B.A., Aghnoum, R., Mahdi Nezhad, N. and Ataei, R. 2018. GWAS analysis in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits exposed to drought. *PloS one*, 13(9), e0204952. doi: **10.1371/journal.pone.0204952**
- Khalili, M. and Mohammadian, R. 2016. Identifying QTLs associated with salinity tolerance in early stages of barley germination. *Crop Biotechnology*, 13, pp. 41-55. doi: **20.1001.1.22520783.1395.6.13.4.6**
- Koochakpour, Z., Solouki, M., Fakheri, B.A., Aghnoum, R., Mahdi Nezhad, N. and Jabbari, M. 2021. Identification of genomic loci controlling phenologic and morphologic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using association analysis. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 22(4), pp.291-304. [In Persian]. doi: **10.52547/abj.22.4.291**
- Laidò, G., Barabaschi, D., Tondelli, A., Gianinetti, A., Stanca, A.M., Li Destri Nicosia, O. and Pecchioni, N. 2009. QTL alleles from a winter feed type can improve malting quality in barley. *Plant Breeding*, 128(6), pp.598-605. doi: **10.1111/j.1439-0523.2009.01636.x**
- Mahdinejad, N., Omidi, M., Jalalkamali, M.R., Naghavi, M.R. and Fakheri, B.A. 2014. QTL analysis of some phenological and morphological traits in Babax and Seri M82 recombinant inbred line population of wheat during salinity stress. *Modern Genetics Journal*, 9(2), pp.207-218. [In Persian].
- 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), pp.111-120. [In Persian].
- Munns, R., James, R.A. and Lauchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57, pp.1025-1043. doi: **10.1093/jxb/erj100**
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- Mwando, E., Han, Y., Angessa, T.T., Zhou, G., Hill, C.B., Zhang, X.Q. and Li, C. 2020. Genome-wide association study of salinity tolerance during germination in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Frontiers in Plant Science*, 11, p.118. doi: **10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911**
- 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, pp.1008-1013. doi: **10.1016/j.plantsci.2005.05.018**
- Phillipa, P.C. 1998. The language of gene interaction. *Genetics*, 149, pp.1171-1167. doi: **10.1093/genetics/149.3.1167**
- Pitman, M.G. and Lauchli, A. 2002. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Lauchli A, Luttge U (eds.). *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Dordrecht: Kluwer, pp.3-20. doi: **10.1007/0-306-48155-3**
- Rabiei, B., Mardani, K.H., Sabouri, H. and Sabouri, A. 2014. The effect of rice chromosome 1 on

- traits associated with drought and salinity tolerance at germination and seedling stages. *Seed and Plant Improve Journal*, 30, pp.1-16. [In Persian]. doi: **10.22092/spij.2017.111197**
- Saade, S., Negrão, S., Plett, D., Garnett, T. and Tester, M. 2018. Genomic and genetic studies of abiotic stress tolerance in barley. *In The barley genome*. Springer, Cham. pp. 259-286. doi: **10.1007/978-3-319-92528-8_15**
- Siahsar B.A., Taleii, A.R., Peighambari, S.A. and Naghavi, M.R. 2008. Mapping QTL of forage quality-related traits of barley. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40, pp.35-45. [In Persian]. doi: **10.1007/978-3-642-10616-3_8**
- Tondelli, A., Francia, E., Barabaschi, D., Aprile, A., Skinner, J.S., Stockinger, E.J. and Pecchioni, N. 2006. Mapping regulatory genes as candidates for cold and drought stress tolerance in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 112(3), pp.445-454. doi: **10.1007/s00122-005-0144-7**
- Tondelli, A., Francia, E., Visioni, A., Comadran, J., Mastrangelo, A.M., Akar, T. and Pecchioni, N. 2014. QTLs for barley yield adaptation to Mediterranean environments in the 'Nure'×'Tremois' biparental population. *Euphytica*, 197(1), pp.73-86. doi: **10.1007/s10681-013-1053-5**
- Wang, S., Basten, C.J. and Zeng, Z.B. 2007. Windows QTL cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. Available at <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>.
- Wolfe, M.S., Baresel, J.P., Desclaux, D., Goldringer, I., Hoad, S., Kovacs, G., Loschenberger, F., Miedaner, H., Stergard, E. and Lammerts, T. 2008. Developments in breeding cereals for organic agriculture. *Euphytica*, 163, pp.323-346. doi: **10.1007/s10681-008-9690-9**
- Xue, D.W., Chen, M.C. and Zhang, G.P. 2009a. Mapping of QTLs associated with cadmium tolerance and accumulation during seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 165(3), pp.587-596. doi: **10.1007/s10681-008-9785-3**
- Xue, D.W., Huang, Y., Zhang, X., Wei, K., Westcott, S., Li, C., ... and Lance, R. 2009b. Identification of QTLs associated with salinity tolerance at late growth stage in barley. *Euphytica*, 169(2), pp.187-196. doi: **10.1007/s10681-009-9919-2**
- Xue, W., Yan, J., Zhao, G., Jiang, Y., Cheng, J., Cattivelli, L. and Tondelli, A. 2017. A major QTL on chromosome 7HS controls the response of barley seedling to salt stress in the Nure×Tremois population. *BMC Genetics*, 18(1), pp.1-15. doi: **10.1186/s12863-017-0545-z**
- Yadav, R.S., Bidinger, F.R., Hash, C.T., Yadav, Y.P., Yadav, O.P., Bhatnagar, S.K. and Howarth, C.J. 2003. Mapping and characterization of QTL×E interactions for traits determining grain and Stover yield in pearl millet. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, pp.512-520. doi: **10.1007/s00122-002-1081-3**

Mapping genomic regions controlling agronomic characteristics of doubled haploid population of barley under normal and salinity stress conditions

Moussa Khamari¹, Mahmoud Solouki^{*2}, Barat Ali Fakheri², Reza Aghnoum³, Nafiseh Mahdinejad², Leila Mehravaran²

¹ PhD Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

² Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

³ Field and Horticultural Crops Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

*Corresponding Author: mahmood.solouki@uoz.ac.ir

Received: 12 December 2021

Accepted: 8 January 2022

DOI: 10.22034/CSRAR.2023.319546.1166

Abstract

Introduction: Salinity is one of the main obstacles to increasing crop yield. The most severe problems in soil salinity occur in arid and semiarid regions. Barley (*Hordeum vulgare* L.) is widely planting in the arid and semiarid regions. It is the fourth most important cereal crop worldwide, and it has a long history as a model for genetic studies. It is the most salt tolerant cereal. Salt tolerance in crop plants is a genetic and physiological complex trait and is controlled by several quantitative trait loci. Both genetic diversity and the adaptation to a broad spectrum of micro-ecological conditions including water availability, temperature, soil type and altitude have strongly influenced the development of salt tolerance in barley.

Materials and Methods: In order to identify genomic regions controlling the agro-morphological characteristics and markers linked to them under normal and salinity stress conditions, an experiment with 136 double haploid lines of barley and their parents (Nure and Tremois) was conducted based on alpha lattice design with two replications at the Agricultural Research Center of Zabol, during 2020-2021 crop year. Agronomic traits were including tiller number per plant, spike number per plant, grain number per spike, awn length, internode length, node number, plant height, 1000-grain weight and grain yield. The combined analysis of variance, correlation coefficients between the traits and descriptive statistics calculated for normal and salt stress conditions. The data were analyses by the SAS (ver. 9.2) statistical software. QTL analysis was conducted by composite interval mapping (CIM) method using QTL Cartographer v2.5 for each of the normal and stress conditions and their averages separately (with threshold value (LOD) 2.5, minimum distance 2 cM between QTL).

Result and Discussion: The combined analysis of variance indicated significant differences among the genotypes for all studied traits. This indicates high levels of genetic diversity in this population. Since the population is double haploid lines, therefore, the diversity observed in this population is often caused by additive effects. Maximum correlations were observed between grain yield with tiller number, as well as spike number per plant. The high correlation between the traits may be due to the similar loci controlling QTLs or due to their linkage. According to the table of descriptive statistics, the studied double haploids are representative of all the possible double haploids resulting from the crossing of Tremois and Nure, and the studied traits are controlled by the additive effects of genes. In total, 24 QTL loci were identified for the studied traits: 9 QTLs were obtained under normal conditions, 8 QTLs were identified under stress conditions, and 7 QTLs were identified in the average of the two conditions. These QTLs explained 8 to 16% of the phenotypic variance (R^2). The LOD value ranged of 2.5 - 5.04. The highest and lowest LOD values were related to QTLs of number of seeds per spike on chromosome 2H and number of nodes under stress conditions. Regarding marker-assisted selection, the stability of QTLs across different environments and genetic backgrounds is of

utmost importance. Out of the 24 identified QTLs, only the QTL associated with the thousand seed weight trait (*Qtgw1H*) demonstrated stability, making it suitable for marker selection. The markers identified for this trait not only exhibit close linkage with the gene responsible for the thousand seed weight trait but also possess high heritability and are easily detectable. The markers associated with stable QTLs can be utilized in future studies.

Conclusion: Based on the findings of this research, significant statistical differences were observed among all genotypes. Transgressive segregation, both high and low, was evident across all traits. Two traits, namely the number of tillers per plant and the number of spikes per plant, exhibited QTLs at the same location, indicating a linkage and correlation between these traits. Among the 7 major QTLs identified in this study, the most prominent one was associated with the number of spikes per plant (*Qng2Hma*) on chromosome 2H, linked with marker E42M38_235-2H, which accounted for 16% of the phenotypic variance. Only one QTL (*Qtgw1H*) for 1000-grain weight, linked with marker WMC1E8, was identified as a stable QTL. These genomic regions, once validated across various genetic backgrounds and environments for salinity tolerance in barley, can be utilized in marker-assisted breeding.

Keywords: Grain yield, QTL mapping, Salt tolerance, Yield components