

## نقشه‌یابی نواحی ژنومی کنترل کننده ویژگی‌های زراعی جمعیت هاپلولئید مضاعف جو تحت شرایط نرمال و تنفس شوری

موسی خمری<sup>۱</sup>، محمود سلوکی<sup>۲\*</sup>، براتعلی فاخری<sup>۳</sup>، رضا اقنوم<sup>۳</sup>، نفیسه مهدی نژاد<sup>۳</sup>، لیلا مهرآوران<sup>۲</sup>

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- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، خراسان رضوی، ایران

\* مسئول مکاتبه: [mahmood.solouki@uoz.ac.ir](mailto:mahmood.solouki@uoz.ac.ir)

DOI: 10.22034/CSRAR.2023.319546.1166

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۱

### چکیده

به منظور شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات اگرومورفولوژیک و نشانگرهای مرتبط با آن‌ها تحت شرایط نرمال و تنفس شوری، آزمایشی با ۱۳۶ لاین هاپلولئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (Tremois و Nure) در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات کشاورزی زابل انجام شد. صفات 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 ژنتیک 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 تنفس و میانگین آن‌ها به صورت جداگانه انجام گرفت. در مجموع ۲۴ جایگاه واحد 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 تنفس 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* به عنوان 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

عوامل غیر یونی، و دیگری تنفس یونی ناشی از یون‌های  $\text{Na}^+$  و  $\text{Cl}^-$ . شوری بالای خاک باعث افزایش فشار اسمزی شده و شرایط مشابه با تنفس خشکی ایجاد می‌کند (Mwando *et al.*, 2020). شوری آب و خاک مانع از دست‌یابی به عملکرد مطلوب گیاهان زراعی می‌شوند، به طوری که 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 تنفس دارند که باعث افزایش هزینه‌های آن‌ها می‌شود. کشت گیاهان متحمل به شوری، از جمله مؤثرترین و کارترین روش برای مقابله با مسئله شوری می‌باشد. افزایش تحمل گیاهان به شوری از یک طرف نیاز به آبشویی و هزینه برنامه آبیاری را کاهش می‌دهد (Pitman and Lauchli, 2002) و از طرف دیگر با تأثیر بر ثبات عملکرد موجب افزایش عملکرد گیاهان در

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین غلات دنیا است که به عنوان جایگزین برنج و گندم در تغذیه رژیمی 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 به شمار 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 تنفس در گیاه می‌شود. یک تنفس ناشی از فشار اسمزی مرتبط با

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 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 Arigashar خالص نوترکیب (RILs) مشتق‌شده از نسل F8، Igrī (یک گیاه جو شش ردیف ایرانی بسیار متحمل به نمک) با (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 میلی مولار NaCl شناسایی شدند که بر روی کروموزوم‌های ۲H، ۳H، ۴H، ۶H و ۷H و گروه لینکازی L1 قرار داشتند. با توجه به همپوشان بر اثر پدیده پلیوتروپی، در کل ۹ QTL متمایز بر روی کروموزوم‌های ۲H، ۴H و ۶H قرار داشتند که به طور مؤثری تحمل به شوری را در جمعیت Igri×Arigashar کنترل می‌کردند. یک QTL (QTwg4Hc) روی کروموزوم ۴H در کنار نشانگر XE41-M61 قرار داشت که چندین ویژگی از

خاک‌های شور و قلیابی 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 نشانگرها مولکولی، تهیه نقشه لینکازی با چگالی بالا در بسیاری از گیاهان امکان‌پذیر شده است. با رشد سریع تهیه نقشه‌های لینکازی مترکم بر اساس نشانگرها 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 کارآیی آن بهبود QTL یافته است (Mahdinejad et al., 2014). تجزیه QTL به عنوان مسیر ارتباطی، بین مکانیزم‌های توارثی ناشی از تنوع ژنتیکی مکان‌های تک‌ژنی منفرد و تنوع پیوسته فنوتیپی صفات کمی، رابطه برقرار می‌سازد (Phillinpa, 1998). وقتی نشانگر یا نشانگرهایی با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی لینکاز (پیوستگی) داشته باشند، گزینش به کمک نشانگر، گزینش بر اساس ژنوتیپ (نه فنوتیپ) خواهد بود و عوامل محیطی تأثیری در گزینش نخواهد 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 هاپلولئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام "Nure" و "Tremois" به همراه والدین آن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. این جمعیت از دانشگاه واگنینگن<sup>۱</sup> (هلند) دریافت شدند. لاین‌های هاپلولئید مضاعف، با روش کشت بساک Saaten- "Tremois" و "Nure" در "Union Resistenzlabor GmbH" از نتاج F1 حاصل از تلاقی "Nure" در آلمان استخراج شده‌اند "Nure" (Francia et al., 2004). والد زمستانه "Nure" (Francia et al., 2004) یک رقم جو علوفه‌ای مدرن [Fior40×Alpha<sup>2</sup>]×Baraka] در Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura Fiorenzuola ایتالیا منتشر شده است. این رقم دارای طیف گستردگی از سازگاری‌ها و جزو لیست مواد آزمایشی توصیه شده (RTL) ایتالیا می‌باشد. والد بهاره Dram×Aramir×Berar [Tremois] یک رقم جو دو دریفه مدرن فرانسوی با عملکرد و کیفیت مالت بالا و جزو RTL می‌باشد (Francia et al., 2004).

لاین‌های هاپلولئید 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 دارد. 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.

جمله طول جوانه و کولثوپتیل و زیست‌توده جوانه را کنترل می‌نمود (Ahmadi-Ochtapeh et al., 2015). در پژوهشی دیگر، نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به شوری در جمعیت ۱۰۷ لاین هاپلولئید مضاعف جو حاصل از تلاقی CM72 (متحمل به نمک) و Gairdner (حساس به شوری) مورد بررسی قرار گرفتند. برای ۱۰ صفت زراعی و سه QTL تحت شرایط نرمال و QTL ۱۷ تحت شرایط تنش شوری Xue et al., (2009a) (2009b) در مطالعاتی که بر روی لاین‌های هاپلولئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Nure × Tremois صورت گرفته، نقشه‌یابی Tondelli et al., (2006; 2007) پایداری عملکرد (Francia et al., 2007) Laidò et al. (2014; Francia et al., 2011) و کیفیت مالت (Francia et al., 2009) انجام شده است. همچنین در مطالعه‌ای دیگر بر روی دایل هاپلولئیدهای حاصل از این تلاقی، یک QTL بر 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 تعلیف دام، تولید مالت، 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 بهنظر می‌رسد؛ لذا هدف از پژوهش حاضر، مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات اگرمورفولوژیک، برآورده 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

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

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 (Wang *et al.*, 2007) Cartographer انجام شد.

## نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مرکب ۱۳۶ لاین هاپلولئید مضاعف جو و ولدین آن‌ها، اثر ژنوتیپ بر کلیه صفات مورد بررسی بسیار معنی‌دار بود. این نشان‌دهنده تنوع بسیار بالا در این جمعیت می‌باشد. همچنان با توجه به این که این‌ها جامعه لاین‌های دابل هاپلولئید می‌باشند بنابراین تنوع مشاهده شده در این جمعیت، غالباً ناشی از اثرات افزایشی می‌باشد. همچنان اثر محیط بر تمامی صفات به جز وزن هزار دانه و طول ریشك بسیار معنی‌دار بود. اثر محیط بر صفت وزن هزار دانه معنی‌دار و بر صفت طول ریشك 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 ریشك 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 هاپلولئید 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 -۰/۰۸ و -۰/۰۲) بود. بیشترین میزان همبستگی در شرایط نرمال و بین تعداد پنجه در بوته با عملکرد دانه (۰/۰۵۴) و تعداد سنبله در بوته با عملکرد دانه (۰/۰۵۴) مشاهده گردید. در شرایط تنش نیز بین تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته با عملکرد دانه همبستگی بالایی (۰/۱۹) 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 بوتهای 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 ریشك (سانتی‌متر)، وزن هزار دانه (گرم) و عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) بود. اندازه‌گیری عملکرد بوته، با برداشت تمام بوتهای هر کرت صورت گرفت. تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه برای دو شرایط نرمال و تنش شوری، همبستگی ساده فنوتیپی بین صفات و آمارهای 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 هاپلولئید 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 هاپلولئید مضاعف جو انجام شد. این نقشه مرکب از ۵۴۳ نشانگر STS-SNP، DArT و SSR با طول ۱۱۴۱ و متوسط فاصله ۲/۸ سانتی‌مترگان 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 نقشه‌بایی فاصله‌ای مرکب (CIM) استفاده شد. حداقل LOD برای شناسایی QTL‌ها ۲/۵ است. حداقل فاصله پویش ۲ سانتی‌مترگان در نظر گرفته شد. نشانگرهای پس زمینه (Cofactor) با رگرسیون پیش‌رو-پس‌رو (Forward and backward regression) تعیین شدند. علاوه

برای بهبود صفات مختلف همبستگی با عملکرد کمک می‌کند (Koochakpour *et al.*, 2021).

در مطالعه حاضر، همبستگی منفی معنی‌داری بین تعداد پنجه در بوته و وزن هزار دانه (در شرایط نرمال و تنفس به ترتیب ۰/۲۹ و ۰/۲۴) مشاهده شد و نشان‌دهنده این است که با افزایش تعداد پنجه، وزن هزار دانه کاهش می‌یابد. همبستگی منفی معنی‌دار بین تعداد سنبله در بوته و تعداد دانه در سنبله (در شرایط نرمال و تنفس به ترتیب ۵۷ و ۷۷) احتمالاً به دلیل تقسیم مواد فتوسنتزی گیاه بین تعداد بیشتری سنبله است بنابراین تعداد دانه‌های تشکیل شده در هر سنبله کاهش می‌یابد. به همین ترتیب همبستگی منفی معنی‌دار بین تعداد سنبله در بوته و وزن هزار دانه نیز قابل توجیه 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 می‌یابد. در بررسی دابل هاپلوئیدهای جو بین عملکرد دانه و اجزای آن (تعداد سنبله در بوته و تعداد دانه در سنبله) همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری گزارش شده است (Mohammadi and Baom, 2008). همبستگی بالای بین صفات ممکن است به دلیل مکان یکسان QTL‌های کنترل کننده یا به دلیل پیوستگی میان آن‌ها باشد. همچنین تنوع یک صفت می‌تواند تنوع سایر صفات (پلیوتروپی) را تشریح کند (Siahsar *et al.*, 2008). اطلاعات مربوط به ماهیت و مقدار ضرایب همبستگی به بهزادگران در تعیین معیارهای انتخاب

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو به همراه والدین آن‌ها (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	مول میانگره Internode length	تعداد سنبله در بوته No. of spikes/plant	تعداد دانه در سنبله No. of grains/spike	طول رشک 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	0.03ns	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	0.035ns	5.24 ns	0.07 ns	0.25 ns	0.035 ns	6.05 ns	1.004 ns	1.38 ns	2218ns
ژنتیپ Genotype	137	0.18**	139 **	1.45**	7.79 **	0.18 **	21.93 **	7.21 **	24.33 **	74421 **
ژنتیپ × 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 <sup>2</sup>		86.8	97	94	96	87	84	0.84	92	97

ns و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار 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 هاپلوبیود 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 \*\*: بهترتب معنی دار 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 نتاجی برتر و بدتر از والدین در این جمعیت مشاهده شدند. در تمامی صفات، ضریب تغییرات فنوتیپی بزرگتر از ضریب تغییرات ژنتیکی 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 داشت. بیشترین و کمترین ضریب تغییرات ژنتیکی و 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., 2011).

بر اساس جداول آماره‌های توصیفی (جدوال ۴ و ۵)، در 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، معنی دار و برای سایر صفات غیر معنی دار بود. اختلاف بین میانگین هاپلوبیودهای مضاعف و میانگین والدین آن‌ها برای کلیه صفات مورد بررسی غیر معنی دار بود. در نتیجه، هاپلوبیودهای مضاعف مورد بررسی، نماینده کل هاپلوبیودهای مضاعف ممکن حاصل از تلاقي Nure و Tremois بوده و صفات مورد بررسی با اثرات جمع‌پذیر ژن‌ها کنترل می‌شوند. میانگین والدین در هر دو شرایط نرمال و

انتخاب برای آن‌ها مفید باشد.

2019). صفاتی که دارای توارث پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالا هستند ممکن است تحت کنترل عمل جمع پذیر ژن‌ها باشند و

جدول ۴- آماره‌های توصیفی صفات زراعی در لاین‌های هاپلولوئید مضاعف جو و والدین آن‌ها (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 پیچه 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 <sub>1</sub> -P <sub>2</sub>	0.14	2.07	0.41	1.6	0.14	3**	2.25	1.88	190.59
= (P <sub>1</sub> +P <sub>2</sub> )/2 $\bar{x}_p$	3.15	102.2	5.95	17.2	2.4	26	12.9	37.74	2289.98
W <sub>DHS</sub>	2.36	78.5	4.88	11.87	1.6	20	10.8	31.2	1653.78
B <sub>DHS</sub>	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 <sub>DHS</sub>	0.24	7.12	0.67	1.66	0.24	2.4	1.4	2.7	164.1
CV <sub>DHS</sub>	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 <sub>N</sub> =W <sub>DH</sub> -W <sub>P</sub>	-0.72	-22.67	-0.86	-4.53	-0.7	-4.5	-0.9	-5.6	-540.9
GG <sub>P</sub> =B <sub>DH</sub> -B <sub>P</sub>	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 <sup>2</sup>	70.4	90.6	86.19	88.8	70.4	69.7	62.1	81.6	93.4

\* و \*\*: بدترتب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. W<sub>DHS</sub>: بدترین لاین هاپلولوئید مضاعف؛ B<sub>DHS</sub>: بهترین لاین هاپلولوئید مضاعف؛ W<sub>p</sub>: بدترین والد؛ B<sub>p</sub>: بهترین والد؛ GG<sub>N</sub>: پیشرفت ژنتیکی در جهت منفی؛ GG<sub>P</sub>: پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت؛ GCV: ضریب تنوع ژنتیکی؛ PCV: ضریب تنوع فنوتیپی؛ GC5%: بازده ژنتیکی برای ۵ درصد گرینش؛ h<sup>2</sup>: توارث پذیری خصوصی.

\* and \*\*: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. W<sub>DHS</sub>, DH with minimum trait value; B<sub>DHS</sub>, DH with maximum trait value; W<sub>p</sub>, parent with lower trait value; B<sub>p</sub>, parent with higher trait value; GG<sub>N</sub>, downward genetic gain; GG<sub>P</sub>, upward genetic gain; GCV, genotypic coefficient of variation; PCV, phenotypic coefficient of variation; GC5%, genetic gain for 5% selection index; h<sup>2</sup>, narrow sense heritability.

صفات مورد بررسی، ۲۴ جایگاه واحد 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

QTL‌های صفات مختلف زراعی مربوط به جمعیت هاپلولوئید 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  $5/0\cdot4 - 2/5$  قرار داشت. بیشترین و کمترین مقدار LOD مربوط به QTL‌های تعداد دانه در سنبله و تعداد گره هر دو در شرایط تنفس 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 میانگرۀ در دو شرایط نرمال و تنفس هیچ QTL‌ی یافت نشد در حالی که در میانگین دو شرایط برای این صفت، یک عدد QTL شناسایی شد (جداول ۶ و ۷). این QTL‌ها، واریانس فنوتیپی بین ۸ تا ۱۶ درصد را تبیین

جدول ۵- آماره‌های توصیفی صفات زراعی در لاین‌های هاپلوبیود مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) در شرایط تنفس 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 میانگرۀ 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
P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub>	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 <sub>DHs</sub>	2.5	67.12	4.47	10.3	1.7	16	9.6	31.7	1694.6
B <sub>DHs</sub>	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 <sub>DHs</sub>	0.29	7.2	0.7	1.5	0.29	3.3	1.53	2.6	157.8
CV <sub>DHs</sub>	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 <sub>N</sub> =W <sub>DH</sub> -W <sub>P</sub>	-0.52	-21.28	-1.73	-3.97	-0.57	-9	-2.4	-4.46	-353.42
GG <sub>P</sub> =B <sub>DH</sub> -B <sub>P</sub>	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 <sup>2</sup>	61.9	92.09	88.2	88.7	61.9	58	59.6	79.7	91.7

\* و \*\*: بهترتب معنی دار در سطح اختصار ۵ و ۱ درصد. W<sub>DHS</sub> بدترین لاین هاپلوبیود مضاعف؛ B<sub>DHS</sub>، بهترین لاین هاپلوبیود مضاعف؛ W<sub>p</sub>، بدترین والد؛ B<sub>p</sub>، بهترین والد؛ GG<sub>N</sub>، پیشرفت زنتیکی در جهت منفی؛ GG<sub>P</sub>، پیشرفت زنتیکی در جهت مثبت؛ PCV، ضریب تنوع زنتیکی؛ GCV، ضریب تنوع فنوتیپی؛ GC5%， بازده زنتیکی برای ۵ درصد گرینش؛ h<sup>2</sup>، توارث پذیری خصوصی.

\* and \*\*: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. W<sub>DHS</sub>, DH with minimum trait value; B<sub>DHS</sub>, DH with maximum trait value; W<sub>p</sub>, parent with lower trait value; B<sub>p</sub>, parent with higher trait value; GG<sub>N</sub>, downward genetic gain; GG<sub>P</sub>, upward genetic gain; GCV, genotypic coefficient of variation; PCV, phenotypic coefficient of variation; GC5%, genetic gain for 5% selection index; h<sup>2</sup>, narrow sense heritability.

جدول ۶-QTL‌های صفات مورد بررسی در لاین‌های هاپلوبیت مضاعف جو و والدین آن‌ها (Nure×Tremois) تحت شرایط نرمال و تنفس 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

صفت Traits	QTL	گروه لینکازی Linkage Group	نزدیکترین نشانگر Nearest marker	موقعیت QTL QTL position	LOD		اثر آللی (افزایشی) Allelic effect (additive)		ضریب تبیین (%) R <sup>2</sup> %	
					تنفس Stress	نرمال Normal	تنفس Stress	نرمال Normal	تنفس Stress	نرمال 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 فتوتیپی 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 فتوتیپی تبیین شده به وسیله آن‌ها ۹/۸ و ۱۱ درصد به ترتیب در شرایط تنفس و میانگین دو شرایط بود. برای صفت طول میانگره، در شرایط نرمال و تنفس شوری، QTL یافت نشد ولی در میانگین دو شرایط، یک QTL بر روی کروموزوم 1H (Qil1Hm) در موقعیت ۷۳/۲ سانتی‌مورگان و در نزدیکی نشانگر E39M61\_247-1H شناسایی شد که درصد از تنوع فتوتیپی کل را توجیه می‌کرد. این QTL دارای اثر افزایشی ۴۰/۴۳- بود. برای صفت تعداد گره در شرایط تنفس 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 تنفس و میانگین دو شرایط هیچ QTL‌ای برای این صفت یافت نشد. QTL‌های *Qnt1Hnb* و *Qnt1Hna* هر دو بر روی کروموزوم 1H در جایگاه‌های ۳۱ و ۴۶/۲ سانتی‌مورگان نزدیک نشانگرهای E41M38\_206-1H و bPb-4813-1H نقشه‌یابی شدند.

برای صفت ارتفاع بوته در مجموع دو QTL در شرایط تنفس (Qpht2Hs) و میانگین دو شرایط (Qpht2Hm) شناسایی شد در حالی که در شرایط نرمال، هر دو QTL یافت نشد.

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 بهترتبیب در مجاورت نشانگرهای bPb-4813-1H و E41M38\_206-1H قرار داشتند. شناسایی شده دارای اثرات افزایشی بهترتبیب ۰/۱ و ۰/۰۹ بودند. در مطالعه جمعیت هاپلولید مضاعف حاصل از تلاقی CM72 و Gairdner تحت تنش شوری، برای صفت تعداد سنبله در بوته ۳ QTL بر روی کروموزوم‌های 1H و 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 QTL 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 QTL‌یافت نشد. QTL‌های شناسایی شده در شرایط نرمال هر دو بر روی

جدول ۷- QTL‌های صفات مورد بررسی در لاین‌های هاپلولید 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 لینکازی Linkage Group	نزدیکترین نشانگر Nearest marker	موقعیت QTL QTL position	LOD	اثر آللی (افزایشی) Allelic effect (additive)	R <sup>2</sup> %	کل R <sup>2</sup> Total R <sup>2</sup> %
ارتفاع بوته Plant height	<i>Qph2Hm</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>Qnn6Hm</i>	6H	bPb-unk3-6H	57.8	3.2	0.29	9	9
تعداد دانه در سبله No. of grains/spike	<i>Qng2Hma</i>	2H	E42M38_235-2H	109.6	4.9	-1.06	16	25
وزن هزار دانه 1000-grain weight	<i>Qng2Hmb</i>	2H	E42M38_210-2H	118.3	2.7	-0.7	9	
	<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. (R<sup>2</sup> = 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<sup>2</sup> (%)= Percentage of phenotypic variance explained by the QTLs.

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

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

سه QTL (Qgy2Hsc, Qgy2Hsb, Qgy2Hsa) شدند که در مجموع به ترتیب ۲۹ و ۹ درصد از تنوع فنتوتیپی را توجیه نمودند. در شرایط تنفس شوری، هر سه QTL روی کروموزوم 2H و در جایگاه‌های ۱۴۲/۸، ۱۵۲/۳ و ۱۵۴/۶ bPb-5942-2H و bPb-4092-2H قرار داشتند. این QTL‌ها به ترتیب ۹، ۱۱ و ۹ درصد از تغییرات فنتوتیپی 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 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). در مطالعه مانیز اکثر QTL‌های صفات مورد بررسی روی کروموزوم 2H قرار دارند؛ بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که احتمالاً ژن‌های کنترل کننده عملکرد روی کروموزوم 2H قرار دارند.

ژن‌های QTL‌های وزن هزار دانه در مجموع ۱۲، ۲۱ و ۲۱ درصد از تغییرات فنتوتیپی کل این صفت را به ترتیب در شرایط نرمال، تنفس شوری و میانگین دو شرایط تبیین نمودند. دو جایگاه واحد QTL برای صفت وزن هزار دانه در شرایط نرمال (Qtgw3Hn و Qtgw1H) تنفس (Qtgw1H) و دو جایگاه واحد QTL برای میانگین دو شرایط (Qtgw3Hm و Qtgw1Hm) شناسایی شدند. در شرایط نرمال این QTL‌ها به ترتیب روی کروموزوم‌های 1H و 3H در مکان‌های ۱۱۲/۶ و ۱۷۹/۵ سانتی‌مورگان، نزدیک نشانگرهای ۱۳ و ۸ درصد از تغییرات فنتوتیپی این صفت را تبیین نمودند. در شرایط تنفس، 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

9147-5H قرار داشتند. در شرایط تنفس، QTL شناسایی شده روی کروموزوم 2H در مجاورت نشانگر bPb-8737-2H نقشه‌یابی گردید. در میانگین دو شرایط هر دو QTL شده روی کروموزوم 2H و به ترتیب در مکان‌های ۹/۶ و ۱۰/۶ در مجاورت نشانگرهای E42M38\_235-2H و E42M38\_210-2H قرار داشتند. QTL بزرگ اثر و پایدار Qng2H در هر دو شرایط نرمال و تنفس 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 تنفس خشکی، QTL‌هایی بر Jabbari روی کروموزوم‌های 3H و 5H 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 واحد QTL برای صفت طول ریشک در شرایط تنفس شوری (QallHs) 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 فنتوتیپی کل را توجیه نمود. برای صفت طول ریشک تحت تنفس 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 تنفس

شکسته نمی‌شود. چرا که پلیوتربوپی اجزای فرعی صفات را کنترل می‌کند. در پلیوتربوپی انتخاب یک صفت باعث کاهش ۳۱ افزایش صفات همبسته می‌شود. اثر بزرگ QTL‌های جایگاه ۱H سانتی‌مورگان در نزدیکی نشانگر bPb-4813-1H روی کروموزوم ۱H بر صفات تعداد پنجه در بوته و تعداد سنبله در بوته و نیز اثر بزرگ QTL‌های جایگاه ۴۶/۲ سانتی‌مورگان در ۱H نزدیکی نشانگر E41M38\_206-1H روی کروموزوم ۱H نشان‌دهنده این است که احتمالاً ژن‌های خوشای کنترل کننده اجزای عملکرد دانه در این نواحی از کروموزوم قرار گرفته است. QTL‌ها عموماً 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 تنفس، یک QTL روی کروموزوم 2H (Qng2H) در مجاورت نشانگر 2H-bPb-8737-2H و همچنین QTL دیگری در شرایط نرمال، روی کروموزوم 5H (Qng5Hn) در مجاورت نشانگر 5H-bPb-9147-5H، bPb-9147-5H، bPb-1154-2H، bPb-1154-2H (Qph2Hm) در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H، WMC1E8-1H، QTL های قوی و بزرگ اثر بودند. در میانگین دو شرایط، برای صفت ارتفاع بوته یک QTL تعداد دانه در سنبله یک QTL (Qng2Hma) در مجاورت نشانگر 2H-E42M38\_235-2H، و برای صفت وزن هزار دانه، یک QTL (Qtgw1Hm) در مجاورت نشانگر WMC1E8-1H، QTL های قوی و بزرگ اثر 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 ۴/۹ با LOD برابر با E42M38\_235-2H

۱۸۰/۵ 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 Qtgw1H (1H) در شرایط نرمال شناسایی شده روی کروموزوم ۱H هم مکان بودند که 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 کنترل کننده 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 توجیه کننده 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 ژن 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 ۳۱ QTL‌های هم‌مکان Qns1Hna و Qnt1Hna و Qns1Hnb و Qnt1Hnb در جایگاه ۴۶/۲ سانتی‌مورگان و، ر روی کروموزوم 1H مشاهده شد از طرفی سانتی‌مورگان، بر روی کروموزوم 1H مشاهده شد از طرفی اثرات افزایشی آن‌ها مشابه بود که نشان‌دهنده همبستگی بالای تعداد دانه در سنبله یک QTL در جایگاه ۴۶/۲ در جایگاه Qns1Hnb و Qnt1Hnb می‌باشد. در تحقیقی دیگر در بررسی صفات مورفولوژیکی در جمعیت لاین‌های هاپلولئید مضاعف جو حاصل از تلاقی Steptoe×Morex QTL‌های این دو صفت مشاهده شده است (Fakheri and Mehravar, 2013).

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

نshanگرهای 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 نگرفته‌اند. 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*, *Qng2Hma*, *Qph2Hm*, *Qtgw1H*, *Qgy2Hsb* و *LOD 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- نشان‌دهنده این است که این دو صفت دارای همبستگی شدید با هم می‌باشند.

در صد از واریانس فنوتیپی کل را توجیه نمود.

از مهم‌ترین اهداف به نژادی گیاهی، اصلاح ژنوتیپ‌های دارای عملکرد و کیفیت بالا است به طوری که 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 به نژادی، اولین موضوع پایداری در ظهور QTL‌های نقشه‌یابی شده‌ای است که ممکن است کاندیدای گزینش به کمک نشانگر باشند. QTL‌های پایدار، باعث پایداری نسبی QTL 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 Mehravar, 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. 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

### References

- Aghnoum, R., Marcel, T.C., Jorinde, 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., Siahsar, 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., Taeei, 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 Mehravar, 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 Mehravar, 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.jcr.2010.09.010](https://doi.org/10.1016/j.jcr.2010.09.010)

- Hosseinirad, 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1001.1.22520783.1395.6.13.4.6)
- 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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/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](https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.05.018)
- Phillip, P.C. 1998. The language of gene interaction. *Genetics*, 149, pp.1171-1167. doi: [10.1093/genetics/149.3.1167](https://doi.org/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](https://doi.org/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 Khamari<sup>1</sup>, Mahmoud Solouki<sup>\*2</sup>, Barat Ali Fakheri<sup>2</sup>, Reza Aghnoum<sup>3</sup>, Nafiseh Mahdinejad<sup>2</sup>, Leila Mehravarani<sup>2</sup>

<sup>1</sup> PhD Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>2</sup> Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>3</sup> Research and Training Center for Agriculture and Natural Resources of Khorasan Razavi, Khorasan Razavi, Iran

\*Corresponding Author: [mahmood.solouki@uoz.ac.ir](mailto:mahmood.solouki@uoz.ac.ir)

Received: 12 December 2021 Accepted: 8 January 2022 DOI: [10.22034/CSRAR.2023.319546.1166](https://doi.org/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<sup>2</sup>). 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, Yeald components