علوم و تحقیقات بذر ایران
سال نهم/ شماره اول/ ۱۴۰۱ (۶۶ - ۵۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2022.6145

شناسایی QTLهای مرتبط با مولفه‌های جوانه‌زنی جو (*Hordeum vulgare* L) در شرایط نرمال، تنش خشکی و شوری

سمیه مختوم[۱]، حسین صبوری*[۲]، عبداللطیف قلی‌زاده[۳]، لیلا آهنگر[۴]، مهناز کاتوزی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۷

چکیده

جوانه‌زنی بذر از خصوصیات بارز و مهم یک رقم زراعی توصیف می‌شود. به‌منظور شناسایی‌QTLهای مرتبط با جوانه‌زنی جو تحت شرایط نرمال، شوری و خشکی، ۱۰۳ خانواده F_8 حاصل از تلاقی دو رقم بادیا×کویر در قالب طرح کاملا تصادفی در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۹ در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبدکاووس در دو تکرار بررسی شدند. تعداد ریشه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن ریشه‌چه، طول کلئوپتیل، طول ساقه‌چه، وزن ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نقشه پیوستگی بر اساس ۱۵۲ آلل چند شکل SSR، ۷۲ آلل ISSR، ۷ آلل IRAP، ۲۹ آلل CAAT، ۲۷ آلل Scot و ۱۵ آلل iPBS تهیه شد. نشانگرهای مولکولی استفاده شده هفت کروموزوم جو با طول نقشه ۹۹۹/۲ سانتی‌مورگان منتسب شد. میانگین فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر ۳/۳۸۷ سانتی‌مورگان شد. تجزیه QTL به‌روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) برای هر صفت در هر محیط انجام شد. در این پژوهش در هر سه شرایط کروموزوم‌های ۴، ۵ و ۷ به‌دلیل قرارگرفتن بیش‌ترین‌QTLها به‌عنوان مهم‌ترین کروموزوم‌ها بودند. در شرایط نرمال دو QTL بزرگ اثر برای طول کلئوپتیل (qCLN-5a) و درصد جوانه‌زنی (qGPN-4b) ردیابی شد، در شرایط تنش خشکی سه QTL بزرگ اثر برای طول ریشه (qRLD-4b) و (qRLD-5) برای وزن ساقه‌چه (qPWD-4) ردیابی شد. از نتایج این پژوهش بعد از تعیین اعتبار می توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: انتخاب به کمک نشانگر، تنش شوری و خشکی، جو، جوانه‌زنی، نشانگرهای مولکولی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. somayyeh.makhtoum@yahoo.com
۲- دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. hos.sabouri@gmail.com
۳- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. lgholizadeh@gmail.com
۴- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. l.ahangar63@gmail.com
۵- گروه اصلاح نباتات و منابع ژنتیکی، اگروسکوپ، سوئیس. mahnaz.katouzi@agroscope.admin.ch
نویسنده مسئول: hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare L*) با دامنه وسیع اکولوژیک و سطح زیر کشت حدود ۵۵ میلیون هکتار و تولید حدود ۱۵۳ میلیون تن، چهارمین محصول مهم غلات بعد از گندم، ذرت و برنج در جهان می‌باشد، که به‌عنوان غذا مورد استفاده انسان و دام قرار می‌گیرد (FAO, 2019). این گیاه در اکثر کشورهای تولیدکننده آن سابقه بسیار طولانی دارد و از زمان های خیلی گذشته دانه آن علاوه بر آن‌که در تغذیه انسان مورد مصرف داشته، در قنادی‌ها مورد استفاده و از مالت آن نیز در صنعت و داروسازی استفاده می‌شود (Khodarahmi *et al*., 2006).

تنش‌های زنده و غیر زنده از مهم‌ترین عواملی هستند که تولید گیاهان و امنیت غذایی را در جهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. به‌طوری‌که، میانگین عملکرد گیاهان در شرایط تنش ۱۰ تا ۲۰ درصد کم‌تر از پتانسیل واقعی آن‌ها گزارش شده است (Mahajan and Tuteja, 2005). شوری آب و خاک یکی از اساسی‌ترین مشکلات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک است و شورشدن تدریجی خاک از مسائل مهم در بسیاری از مناطق جهان به‌خصوص در کشور ما است.

جوانه‌زنی بذور یک مرحله ضروری در توسعه گیاهچه‌ای و در نهایت محصول بالا می‌باشد. جوانه‌زنی و رشد گیاهچه با فاکتورهای غیر زنده مثل شوری، خشکی و سرما کاهش می‌یابد (Kaya *et al*., 2006; Almansouri *et al*., 2001; Ashraf *et al*., 2006; Atak *et al*., 2006). مرحله جوانه‌زنی یکی از حساس‌ترین مراحل رشد گیاه به تنش شوری و خشکی است که اگر گیاه این مرحله تنش را تحمل کند، می‌تواند مراحل بعدی را پشت سر بگذارد (Farzadmehr *et al.,* 2011). کاهش جوانه‌زنی در اثر تنش خشکی می‌تواند، در اثر کاهش جذب آب توسط بذرها باشد، اگر جذب آب توسط بذر مختل شود یا به‌کندی صورت گیرد فعالیت متابولیک جوانه‌زنی، به‌آرامی صورت می‌گیرد، در نتیجه مدت زمانی که ریشه‌چه از بذر خارج می‌شود طولانی‌تر شده و از این رو سرعت جوانه‌زنی نیز کاهش می‌یابد (Marchner, 1995). بررسی اثر تنش خشکی و شوری بر سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در بسیاری از گیاهان نشان داده است که تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی یک آزمون قابل اطمینان در ارزیابی تحمل بسیاری از گونه‌ها است، به‌طوری‌که خشکی و شوری باعث کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (Ghoulam and Fares, 2001).

گزارش‌های مختلف حاکی از آن است که تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی سبب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی و غیریکنواختی سبزشدن می‌شود (Patade *et al.,* 2011). مکان‌یابی QTLهای[1] مرتبط با تحمل به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی جمعیت F3 جو حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر به کمک نشانگرهای ریزماهواره (SSR[2]) و بین ریزماهواره (ISSR[3]) انجام شد (Taghizadeh *et al*., 2019). در مجموع، ۲۷ QTL برای صفات مورد مطالعه شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده، به‌وسیله این QTLها از ۸/۶ تا ۳۷/۳ درصد متغیر بود. ۶۰ لاین جو در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه در شرایط تنش خشکی با استفاده از دو تیمار مختلف برای تحمل به خشکی آزمایش شدند (Moursi *et al*., 2020). ۲۲ صفت برای جوانه‌زنی بذر و پارامترهای گیاهچه ثبت شد. همه صفات تحت تنش خشکی کاهش یافتند و تنوع قابل توجهی در بین لاین‌ها یافت شد. آنالیز تک‌نشانگری (SMA[4]) ۷۱ جایگاه ویژگی کمی (QTLs)را ردیابی کرد که در میان هفت کروموزوم جو پراکنده بودند. سی و سه QTLs برای صفات مربوط به طول ریشه شناسایی شدند. برخی مارکرها بسیاری از صفات را به‌روش پلیوتروپیک کنترل کردند (Moursi *et al*., 2020). در پژوهشی ۱۰۰ خانواده F_4 حاصل از تلاقی بادیا×کومینو به‌همراه والدین آن‌ها تحت پنج سطح شوری (۴، ۸، ۱۲، ۱۵ و ۲۰دسی‌زیمنس بر متر) ارزیابی شدند (Ghaffari Moghaddam *et al*., 2019). در مجموع، سه مکان ژنی در شرایط نرمال و ۲۳ مکان ژنی در شرایط تنش شناسایی شدند. واریانس فنوتیپی کل توجیه‌شده به‌وسیلهٔ این مکان‌های ژنی از ۹/۱ تا ۱۵/۴ درصد متغیر و کم‌ترین و بیش‌ترین آن مربوط

[1] Quantitative Trait Loci
[2] Simple Sequence Repeat
[3] Inter Simple Sequence Repeat
[4] Single-Marker Analysis

به صفت طول ریشه‌چه در شرایط ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. نتایج این بررسی نشان داد که از مکان‌های ژنی پایدار در هر شش محیط و نشانگرهای پیوسته بقا آن‌ها می‌توان در روش گزینش به‌کمک نشانگر برای بهبود صفت‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری پس از آزمایش و تکرار در چند سال استفاده کرد (Ghaffari Moghaddam *et al*., 2019). QTLهای مرتبط با تنش شوری در ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف‌شده در مراحل اولیه جوانه‌زنی شناسایی شد (Khalili and Mohammadian, 2016). ۴۷ QTL با ۵/ ۲ ≤LOD برای صفات مختلف ردیابی شد و ۷ اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار شدند. واریانس کل توجیه‌شده این QTLها از ۲۹/۹۷ تا ۷۷/۱۵ بود که کم‌ترین برای شاخص میزان جوانه‌زنی در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌مولار و بیش‌ترین برای صفت ضریب سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال بود. در این بررسی بیش‌ترین LOD= ۸/۲۷ برای شاخص ضریب سرعت جوانه‌زنی روی کروموزوم Hb ۴ در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. شش QTL و ۱۳ نشانگر پیوسته در جمعیت DH (سه نشانگر روی کروموزوم H ۱، هشت نشانگر روی کروموزوم H ۳ و دو نشانگر روی کروموزوم H ۴ در ارتباط با صفات گیاهچه تحت تنش شوری ردیابی شد. سه QTL (یک مورد روی کروموزوم H ۱ و دو مورد روی کروموزوم H ۳ و H ۳ با نشانگرهای بسیار نزدیک (Bmac0032، bPb-4741، bPb-9418، bPb-4576 و bPb-9624) دارای ژن‌های کاندید برای تحمل به شوری در مرحله اولیه رشد گیاه شناسایی شدند (Mwando *et al*., 2021). پایداری QTLها در محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی مختلف، مهم‌ترین بخش یک برنامه گزینش به‌کمک نشانگر است. برای ارزیابی پایداری اثرات QTLها، مکان‌یابی باید در شرایط محیطی و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت مورد مطالعه قرار گیرد. هدف از اجرای این تحقیق مکان‌یابی QTLهای مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی جو، تهیه نقشه پیوستگی و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه به کمک نشانگرها بود.

مواد و روش‌ها

ارزیابی‌های فنوتیپی

به‌منظور مکان‌یابی صفت‌های مرتب با جوانه‌زنی، آزمایشی طی سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبد کاووس روی ۱۰۳ لاین نسل F_8 جو حاصل از تلاقی دو رقم بادیا × کویر در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار تحت شرایط نرمال، شوری و خشکی بررسی شدند. تعداد ۱۰۰ عدد بذر سالم از ۱۰۳ لاین انتخاب شدند. بذرها با محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم برای ۱۰ دقیقه استریل و سپس سه بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها درون ظروف پتری استریل‌شده با اتوکلاو (دمای ۱۲۱درجه، فشار ۱/۵ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه) روی کاغذ صافی استریل منتقل گردیدند.

بذور در شرایط نرمال با آب مقطر کشت شدند. در تنش خشکی پتانسیل لازم با حل‌کردن ۶/۲۵ گرم پلی‌اتیلن گلیکول در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر دو بار تقطیرشده برای ۷/۵- بار توزین شد. مقدار پلی‌اتیلن گلیکول مصرفی برای ایجاد پتانسیل لازم از رابطه یک (Michel and Kaufmann, 1973) به‌دست آمد.

$$\varphi = -(1.18\times10^{-2})C - (1.18\times10^{-4})C^2 + (2.67\times10^{-4})CT + (8.39\times10^{-7})C^2T$$ (رابطه ۱)

در این رابطه φ پتانستیل اسمزی، C غلظت پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ برحسب گرم در لیتر و T دما برحسب سلسیوس است. در تنش شوری NaCl (۱۲دسی‌زیمنس بر متر) برای ایجاد تنش شوری اعمال شدند. برای محاسبه مقدار لازم از رابطه وانت‌هوف استفاده شد.

$$Øs = m\cdot I\cdot R\cdot T$$ (رابطه ۲)

که در این رابطه Øs پتانسیل اسمزی، m مولاریته، I ضریب یونی، R عدد ثابت ۰/۰۸۳و T دمای کلوین است. در هر سه شرایط شمارش بذرهای جوانه‌زده به‌شکل روزانه و در ساعت‌های معین به‌مدت ۷ روز انجام شد. ۱۰گیاهچه از هر نمونه، به‌طور تصادفی نمونه‌برداری و تعداد، طول و وزن ریشه-چه، طول کلئوپتیل، طول و وزن ساقه‌چه با کولیس ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی‌های ژنوتیپی

استخراج DNA به‌روش CTAB (Saghi Maroof *et al*., 1994) انجام گرفت. نمونه‌های برگ آسیاب‌شده با افزودن ۴۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (pH ،۵۰mM - HCl

۰/۸، ۲/۵ mM EDTA، ۳۰۰ میلی مولار NaCl و ۱ درصد SDS) آماده استخراج شدند. محتویات به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. مایع رویی بالای آب به یک لوله ۱/۵ میلی‌لیتری دیگر منتقل شده و DNA با اتانول رسوب کرد. محتویات پس از آن به‌مدت ۳ دقیقه با سرعت کامل سانتریفیوژ شده و مواد رویی دور ریخته شدند. کلاف DNA با اتانول ۷۰ درصد شسته شد و سپس در معرض هوا و در ۵۰ میکرولیتر بافر TE (۱۰mMTris-HCl، pH ۰/۸، ۱ میلی مولار EDTA، pH ۰/۸) خشک و معلق شد.

۳۶۵ نشانگر SSR که به‌طور مناسب در ۷ کروموزوم جو توزیع شده بودند، بر اساس (Ramsay *et al*., 2000; Li *et al*., 2003; Struss and Plieske, 1998; Varshney *et al*., 2007; Marcel *et al*., 2007; Thiel *et al*. 2003) انتخاب شدند. این جفت‌های آغازگر SSR برای چندشکلی بین دو والد بررسی شدند و از آغازگرهای چندشکل برای تکثیر DNA هر گیاه از جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب استفاده شد. برای تهیه نقشه از ۱۵۲ نشانگر چندشکل SSR استفاده شد. برای نشانگرهای SSR، 50 نانوگرم DNA، ۰/۶۷ مولار آغازگرها، ۱۰ مولار بافر واکنش، ۲/۵ میلی‌مولار Mgcl، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۰/۵ واحد از Taq DNA پلیمراز، با آب از دو برابر تقطیر دیونیزه به‌حجم ۱۵ میکرولیتر رسانده شد، برای PCR دناتوراسیون در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه و به‌دنبال آن ۳۰ سیکل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال در ۵۸ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه، بسط در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه، تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط یک ترموسایکلر انجام شد(iCyclerBIORAD, USA). محصول تکثیر شده بر روی الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد (PAGE) جدا شد و با رنگ‌آمیزی نقره قابل روئیت شد (Xu *et al*., 2002). برای اشباع نقشه اولیه از نشانگرهای، iPBS (Kalendar *et al*., 2010)، IRAP (Kalendar *et al.,* 1999;)، ISSR (Boronnikovaa and Kalendar, 2010)، ScoT (University of British Columbia – UBC)، CAAT (Collard and Mackill, 2009)، (Singh *et al*., 2014)، استفاده شد. برای بررسی چندشکلی مارکرهای فوق در والدین، از ۲۱ نشانگر IPBS، ۸ مارکر IRAP، ۱۵ مارکر SCoT، ۱۵ مارکر CAAT و ۱ ترکیب نشانگر ISSRiPBS استفاده شد و نهایت از ۷ آلل IRAP، ۲۹ آلل CAAT، ۲۷ آلل SCoT، ۷۲ آلل ISSR، ۱۵ آلل IPBS و ۵ ترکیب آلل چندشکل ISSRiPBS به‌منظور ایجاد نقشه ژنتیکی استفاده شد. برای تهیه نقشه ژنتیکی، نمره ۱ (برای باند والد پدری) و ۲ (برای باند والد مادری) در مارکرهای SSR استفاده شد. برای نشانگرهای ISSR، iPBS، IRAP، SCoT و CAAT، نمرات ۱ (برای حضور باند) و ۳ (برای عدم وجود باند) برای زمانی که باند در والد پدری مشاهده شد و همچنین از نمره ۲ (برای حضور باند) و ۴ (برای عدم وجود باند) نیز برای هنگامی که باند در والدین مادری وجود داشت، استفاده شد. اتصال نشانگرهای تصادفی به نشانگرهای ریز ماهواره برای کروموزوم‌ها به‌صورت جداگانه انجام شد. باندهای چندشکل برای هر یک از آغازگرهای iPBS، IRAP، ISSR ، SCoT، CAAT به‌ترتیب با ترتیب نزولی وزن مولکولی (از بالا تا پایین ژل) شماره‌گذاری شدند.

تهیه نقشه پیوستگی و تجزیه و تحلیل QTL

کلیه آلل‌های iPBS، IRAP، ISSR، SCoT، CAAT و SSR چندشکل به‌صورت جداگانه با آزمون $\chi 2$ برای نسبت تفکیک ۱:۱ در سطح احتمال ۰/۰۱ ارزیابی شدند و آلل‌هایی که فاقد نسبت ۱: ۱ از داده‌های ژنوتیپی حذف شدند. تهیه نقشه با نرم‌افزار Map Manager QTX17 (Manly and Olson, 1999) انجام شد. اختصاص گروه‌های لینکاژی به کروموزوم‌های مربوطه بر اساس (Li *et al*. 2003; Ramsay *et al*., 2000; Struss and Plieske, 1998; Varshney *et al*., 2007; Marcel *et al*., 2007; Thiel *et al*., 2003) انجام شد. فواصل نقشه (سانتی‌مورگان) بر اساس تابع کوزامبی و آستانه LOD بحرانی ۲/۵ و برای تعیین گروه‌های پیوستگی استفاده شد. از نرم افزار QGENE (Nelson, 1997) به‌منظور یافتن QTLها استفاده شد. برای تعیین QTLها و تخمین تأثیرات آن‌ها از روش CIM استفاده شد و نقطه با بیش‌ترین LOD به‌عنوان منطقه‌ای با بیش‌ترین احتمال QTL مشخص شد.

نتایج و بحث

روابط بین صفات و گروه‌بندی همبستگی

با استفاده از ضرایب همبستگی بین صفات مختلف می‌توان در مورد شاخص‌های انتخاب غیرمستقیم و حذف صفات غیر مؤثر به‌طور دقیق‌تری تصمیم‌گیری نمود (Gholparvar *et al*., 2003). در شرایط نرمال، وزن ریشه با طول ساقه‌چه و وزن ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت، ولی با طول کلئوپتیل همبستگی منفی و معنی‌داری داشت. درصد جوانه‌زنی با تعداد ریشه و طول کلئوپتیل همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. در شرایط تنش خشکی، وزن ریشه با تعداد ریشه و طول ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. درصد جوانه‌زنی با تعداد ریشه و وزن ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. در شرایط تنش شوری، وزن ریشه با طول ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت (جدول ۱). بررسی‌ها نشان داد که طول ریشه در هر سه شرایط (نرمال، خشکی و شوری) با صفت وزن ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری دارند.

جدول ۱- همبستگی صفات در شرایط نرمال، تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی لاین‌های خالص نوترکیب حاصل از تلاقی بادیا × کویر

Table 1. Correlation of traits under normal, drought and salinity conditions in the germination stage of recombinant inbred lines caused Badia and Kavir cross

		تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length	وزن ریشه Root weight	طول کلئوپتیل Coleoptile length	طول ساقه‌چه Plumule length	وزن ساقه‌چه Plumule weight	درصد جوانه‌زنی Germination percentage
تعداد ریشه Root number	شرایط نرمال Normal	1	0.119	0.345**	-0.066	0.166	0.336**	0.224*
	تنش خشکی Drought	1	0.453**	0.698**	0.449**	0.104	0.502**	0.449**
	تنش شوری Salinity	1	0.210*	0.080	0.290**	0.304**	-0.271**	0.0171
طول ریشه Root length	شرایط نرمال		1	0.659**	-0.049	0.351**	0.405**	-0.162
	تنش خشکی Drought		1	0.716	0.652	0.117	0.691	0.018
	تنش شوری Salinity		1	0.277**	0.439**	0.617**	-0.019	0.071
وزن ریشه Root weight	شرایط نرمال Normal			1	-0.233**	0.290**	0.529**	0.004
	تنش خشکی Drought			1	0.652**	0.156	0.757**	0.277**
	تنش شوری Salinity			1	0.118	0.256**	0.001	-0.012
طول کلئوپتیل Coleoptile length	شرایط نرمال Normal				1	0.171	0.188	-0. 196*
	تنش خشکی Drought				1	0.122	0.954**	0.082
	تنش شوری Salinity				1	0.522**	0.044	0.136
طول ساقه‌چه Plumule length	شرایط نرمال Normal					1	0.579**	-0.006
	تنش خشکی Drought					1	-0.043	0.105
	تنش شوری Salinity					1	-0.063	0.135
وزن ساقه‌چه Plumule weight	شرایط نرمال						1	-0.034
	تنش خشکی Drought						1	0.094
	تنش شوری						1	0.041
زنی‌درصدجوانه Germination percentage	شرایط نرمال Normal							1
	تنش خشکی Drought							1
	تنش شوری Salinity							1

همچنین تعداد ریشه در شرایط نرمال و تنش خشکی و شوری با وزن ساقه‌چه همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان داد و تعداد ریشه در شرایط تنش خشکی و شوری با طول کلئوپتیل همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان داد. عبیری

و همکاران (Abiri *et al*., 2016) در جو گزارش کردند بین طول ریشه، وزن ریشه، تعداد ریشه و طول ساقه‌چه همبستگی مثبت وجود دارد که این یافته‌ها با تحقیق حاضر مطابقت داشت.

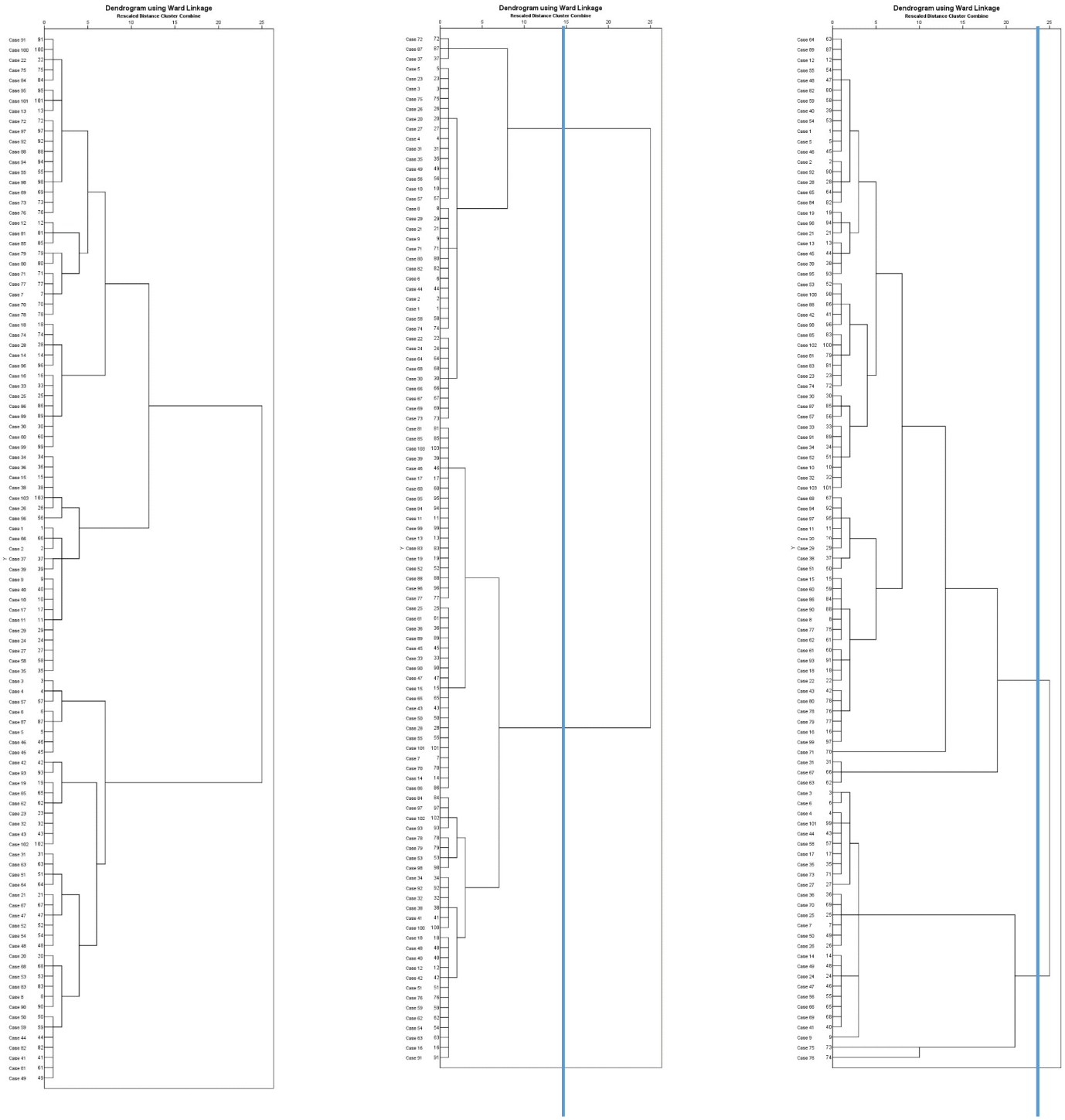
تجزیه خوشه‌ای بر اساس کلیه صفات مورد بررسی در شرایط نرمال، تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه زنی

تجزیه خوشه‌ای از جمله روش‌هایی است که در بررسی-های تنوع ژنتیکی و جغرافیایی و انتخاب افراد مناسب و بررسی اثرات متقابل و ارقام نقش اساسی دارد. یکی از کاربردهای تجزیه کلاستر تعیین فاصله ژنتیکی میان گروه‌ها است (Farshadfar, 2002). تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شکل یک نشان داده شده است. در شرایط نرمال لاین‌ها به سه گروه تقسیم شدند. در گروه اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۴۱ ، ۲۲ و ۴۰ لاین قرار گرفتند، لاین‌ها در شرایط تنش خشکی به دو گروه تقسیم شدند که در گروه اول ۳۹ لاین و در گروه دوم ۶۳ لاین قرار داشتند. در شرایط شوری نیز لاین‌ها به دو گروه تقسیم شدند. در گروه اول ۷۶ و در گروه دوم ۲۷ لاین قرار گرفتند. تجزیه واریانس چندگانه بر اساس صفات مورد مطالعه اختلافات بین لاین‌ها بین گروه-ها اختلاف معنی‌دار نشان داد. در این بررسی تنش شوری میانگین بیش‌تری نسبت به تنش خشکی در همه صفات را داشت (جدول ۲).

جدول ۲- گروه‌های ایجادشده درشرایط نرمال، تنش خشکی و شوری بر اساس کلیه صفات

Table 2. Groups created under normal conditions, drought and salinity stress based on all traits

نام صفات Traits	شماره کلاستر Cluster number	نرمال Normal	خشکی Drought	شوری Salinity
درصد جوانه‌زنی Germination percentage	خوشه ۱	90.35a	78.71a	50.39b
	خوشه ۲	67.13b	47.06b	84.44a
وزن ساقه‌چه Plumule weight	خوشه ۱	0.136b	0.001b	0.137a
	خوشه ۲	0.121c	0.026a	0.116b
	خوشه ۳	0.164a	-	-
طول ساقه‌چه Plumule length	خوشه ۱	12.867b	0.109b	9.223a
	خوشه ۲	12.236b	1.327a	8.055b
	خوشه ۳	13.766a	-	-
طول کلئوپتیل Coleoptile length	خوشه ۱	5.074a	0.153b	6.496a
	خوشه ۲	3.934c	2.328a	5.907b
	خوشه ۳	4.485b	-	-
وزن ریشه Root weight	خوشه ۱	0.100c	0.017b	0.102a
	خوشه ۲	0.113b	0.037a	0.075b
	خوشه ۳	0.149a	-	-
طول ریشه Root length	خوشه ۱	13.991c	1.865b	11.493a
	خوشه ۲	14.718b	4.171a	10.046b
	خوشه ۳	17.316a	-	-
تعداد ریشه Root number	خوشه ۱	5.378c	3.717b	5.361b
	خوشه ۲	5.40b	5.031a	5.444a
	خوشه ۳	5.912a	-	-



نرمال خشکی شوری

Normal Drought Salinity

شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای بر اساس کلیه صفات مورد بررسی در شرایط نرمال، تنش خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی

Figure 1. Cluster analysis based on all studied traits under normal conditions, drought stress and salinity in germination stage

عکس‌العمل متفاوت مولفه‌های جوانه‌زنی ارقام در تنش-های مختلف را می‌توان به عوامل مختلف از جمله میزان جذب آب و همچنین تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها نسبت داد. اندازه بذر هم با توجه به این‌که می‌تواند از طریق سطح مخصوص اثر مستقیم بر جذب آب داشته باشد در این عامل دخیل می‌باشد (Marjani, 2006).

تهیه نقشه پیوستگی

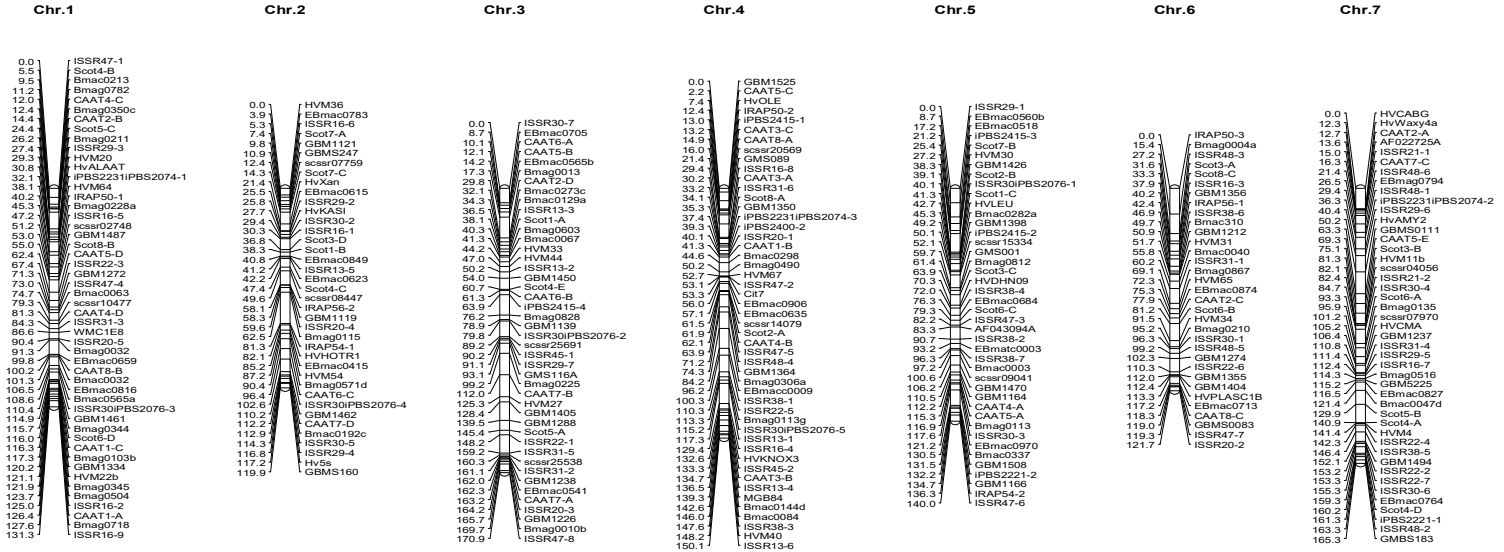
نقشه پیوستگی با استفاده از ۱۵۲ نشانگر SSR، ۷۲ آلل ISSR، ۷ آلل IRAP، ۲۹ آلل CAAT، ۲۷ آلل Scot و ۱۵ آلل iPBS تهیه شد. نسبت‌های مندلی ۱:۱ برای کلیه آلل های تکثیرشده با استفاده از آزمون کای اسکوئر بررسی شد و نشانگرهای دارای عدم تفرق مندلی برای تهیه نقشه استفاده نشدند. نشانگرهای مولکولی استفاده‌شده به ۷ گروه پیوستگی مطابق ۷ کروموزوم جو منتسب شدند. کروموزوم یک با بالاترین تعداد نشانگر (۵۰ نشانگر) با طول کروموزومی ۱۳۱/۳ سانتی‌مورگان ترسیم شد. به کروموزوم های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ نیز به‌ترتیب ۳۹، ۴۴، ۴۹، ۴۲، ۳۳ و ۴۵ نشانگر منتسب شدند که به‌ترتیب دارای طول‌های ۱۹۰/۹، ۱۷۰/۹، ۱۵۰/۱، ۱۴۰/۰، ۱۲۱/۷ و ۱۶۵/۳ سانتی‌مورگان بودند (شکل۲). ترتیب نشانگرهای SSR با نقشه Ramsay ،Li *et al*., 2003 *et al*., 2000، Struss and Plieske 1998 و Thiel *et al.,* 2003 متفاوت بود اما محل کروموزمی آن‌ها با نقشه‌های مذکور مطابقت داشت.

اولین نقشه پیوستگی جو توسط گرانر (Graner *et al.,* 1991) با استفاده از ۷۱ لاین جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی Igri و Franka و نشانگرهای RFLP تهیه شد. همچنین با استفاده از جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی Steptoe و Morex و نشانگر RFLP نقشه پیوستگی تهیه کردند (Kleinhofs *et al*., 1993). Wenzl *et al*., 2006 با نشانگرهای SSR، RFLP، STS و DArT، Qi *et al*., 1998 با نشانگرهای AFLP، RFLP، SST، Jafary *et al*., 2006 با استفاده از نشانگرهای AFLP و SSR، Thiel *et al*., 2003 با استفاده از نشانگرهای SSR و EST، Sato *et al*., 2004 با استفاده از نشانگر SNP، Varshney *et al*., 2004 از نشانگرهای RFLP, SNP, SSR و Rostoks *et al*., 2005 از نشانگرهای SNP و SSR برای تهیه نقشه استفاده نمودند.

مکان‌یابی مولفه‌های جوانه‌زنی در شرایط نرمال

۱۱ QTL در شرایط نرمال ردیابی شد که یک QTL برای طول ریشه، دو تا QTL برای وزن ریشه، ۵ QTL برای طول کلئوپتیل و سه QTL برای درصد جوانه‌زنی بود (جدول ۳). برای طول ریشه یک QTL روی کروموزوم ۷ در موقعیت ۳۰ سانتی‌مورگان با LOD برابر با ۲/۷۹۱ بین نشانگرهای ISSR48-1 و iPBS2231iPBS2074-2 قرار داشت و ۱۱/۷ درصد تغییرات این صفت را توجیه نمود، این QTL با اثر افزایشی ۱/۹۳۶- در جهت منفی بوده و از والد کویر به نتاج منقل شد. مورسی و همکاران (Moursi *et al*., 2020) در مطالعه خود برای گیاه جو یک QTL برای طول ریشه روی کروموزوم ۵ ردیابی نمودند که ۳۸ درصد تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود و اثر افزایشی ۶/۲- داشت. غفاری مقدم و همکاران (Ghaffari Moghaddam *et al*., 2019) در مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفت‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری، در تنش ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر، سه مکان ژنی کنترل‌کنندهٔ طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۲ ،۶ و ۷ مکان‌یابی کردند. این سه مکان ژنی در مجموع ۳۰/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند.

دو مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۵ و۷ برای وزن ریشه در موقعیت‌های ۱۳۶ و ۴۰ سانتی‌مورگان ردیابی شد که دارای LOD ۲/۵۸۶ بین نشانگرهای GBM1166 و IRAP54-2 و LOD ۳/۰۰۱ بین نشانگرهای iPBS2231iPBS2074-2 و ISSR29-6 قرار داشتند و ۲۳/۵ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. اثر افزایشی هر دو QTL کاهشی بوده و از والد کویر به نتاج منتقل شدند. پنج QTL کنترل-کننده کلئوپتیل روی کروموزوم‌های ۲، ۴ و ۵ (۳ موقعیت) قرار داشتند. این QTLها به‌ترتیب دارای LODهای ۲/۶۴۸، ۳/۵۸، ۳/۸۲۳، ۳/۵۹۳ و ۲/۵۸۶ بودند و در موقعیت‌های ۸۸، ۵۸، ۵۴، ۱۱۶ و ۱۳۶ قرار داشتند و در مجموع ۶۷/۴ درصد تغییرات این صفت را توجیه نمودند.



شکل ۲- نقشه پیوستگی کروموزوم‌های جو حاصل از نشانگرهای SSR، ISSR، IRAP، CAAT، Scot و iPBS در جمعیت لاین‌های نوترکیب حاصل از تلاقی بادیا و کویر

Figure 2. Linkage maps of barley chromosomes based on SSR, ISSR, IRAP, iPBS, CAAT and Scott markers in RIL population caused Kavir and Badia Cross

اثر افزایشی qCLN-2، qCLN-4، qCLN-5a و qCLN-5b در جهت کاهش بوده و آلل‌های کاهش‌دهنده از والد کویر به نتاج منتقل شدند اما اثر افزایشی qCLN-5c در جهت افزایش بود و آلل افزایش‌دهنده از والد بادیا به نتاج منتقل شد. qCLN-5a بین نشانگرهای scssr15334 و GMS001 بزرگ اثر بوده و ۱۵/۷ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمود. تقی‌زاده و همکاران (Taghizadeh *et al.*, 2019) هشت QTL کنترل‌کننده طول کلئوپتیل روی کروموزوم‌های ۳، ۴ (سه مورد)، ۵ و۶ (سه مورد) قرار داشتند. اثر افزایشی هر QTL منفرد از ۱/۴۷- تا ۲۲/۴۷ متغیر بود. هو و همکاران (Hu *et al.*, 2007) نیز در شرایط نرمال هفت QTL برای طول کلئوپتیل ردیابی کردند. QTLهای شناسایی‌شده برای درصد جوانه‌زنی روی کروموزوم ۴ (دو موقعیت) و ۶ ردیابی شدند که به‌ترتیب با LODهای ۳/۰۳۴، ۳/۹۳ و ۳/۱۹۶ بودند. QTL روی کروموزوم ۴ qGPN-4a در موقعیت ۵۸ بین نشانگرهای EBmac0635 و scssr14079قرار داشت و ۱۲/۷ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه نمود، qGPN-4b در موقعیت ۱۱۴ بین نشانگرهای EBmac0906 و ISSR30iPBS2076-5 بزرگ اثر بود و ۱۶/۱درصد تغییرات فنوتیپی درصد جوانه‌زنی را توجیه نمود. qGPN-6 در موقعیت ۲۶ بین نشانگرهای Bmag0004 و ISSR48-3 قرار داشت و ۱۳/۳ درصد تغییرات این صفت را توجیه نمود، اثر افزایشی هر سه QTL به‌ترتیب ۵/۸۹، ۶/۹۷۹ و ۱۰/۱۱۸ در جهت افزایش بودند و از والد کویر به نتاج منتقل شدند. غفاری مقدم و همکاران (Ghaffari Moghaddam *et al.*, 2019) دو مکان ژنی بزرگ‌اثر روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ برای صفت درصد جوانه‌زنی در فاصلهٔ نشانگری مشابه صفت سرعت جوانه‌زنی شناسایی شدند و در مجموع، ۲۲/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. مقایسه جایگاه کروموزومی مکان‌های ژنی شناسایی‌شده در شرایط نرمال نشان داد، برخی از مکان‌های ژنی روی نواحی ژنومی و کروموزومی مشترک قرار دارند، این موضوع احتمالا به‌علت پیوستگی ژنتیکی یا اثر پلیوتروپی ژنی است. با توجه به نتایج، طول کلئوپتیل و وزن ریشه روی کروموزوم ۵ در موقعیت یکسان (۱۳۶ سانتی‌مورگان) مکان‌یابی گردید و نزدیک‌ترین نشانگر به این QTLها IRAP54-) (2 ۰/۲۷ بود. همچنین برای طول کلئوپتیل و درصد جوانه¬زنی روی کروموزوم ۴ و در موقعیت یکسان (۵۸ سانتی‌مورگان) یک مکان ژنی ردیابی شد و نزدیک¬ترین نشانگر به این88/0 QTL (EBmac0635) بود.

مکان‌یابی مولفه‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی

هشت QTL در شرایط تنش خشکی مکان‌یابی شدند که چهار QTL برای طول ریشه، سه QTL۳ برای وزن ریشه و یک QTL برای وزن گیاه بودند. هار مکان ژنی شناسایی‌شده برای طول ریشه روی کروموزوم‌های ۴ (سه موقعیت) و ۵ در موقعیت‌های ۲، ۷۰، ۱۳۶ و ۱۰۸ سانتی‌مورگان ردیابی شدند. QTLهای مذکور دارای LODهای ۲/۷۰۱، ۵/۵۱، ۲/۹۴۱ و ۴/۵۹۵ بودند و ۶۴/۱ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه نمودند. اثر افزایشی این QTLها به‌ترتیب ۰/۸۳۹، ۱/۶۱۶، ۱/۲۶۶ و ۱/۲۷۷ در جهت افزایش بوده و آلل‌های والد کویر باعث افزایش این صفت شدند. qRLD-4b بین نشانگرهای ISSR47-5 و ISSR48-4 و qRLD-5 بین نشانگرهای GBM1470 و GBM1164 دارای QTLهای بزرگ اثر بودند که به‌ترتیب ۲۱/۸ و ۱۸/۶ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه نمودند. خلیلی و همکاران (Khalili *et al.*, 2017) سه مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۳B، ۲Aو ۲D برای طول ریشه‌چه مکان‌یابی کردند، این سه مکان‌ژنی در مجموع ۴۸/۸ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

سه QTL برای وزن ریشه روی کروموزوم‌های ۴ (دو موقعیت) و ۵ در موقعیت‌های ۱۲، ۷۰ و ۱۱۲ سانتی‌مورگان به‌ترتیب دارای LODهای ۲/۹۵۵، ۳/۵۳۹ و ۳/۶۳۶ بودند که در مجموع ۴۲ درصد تغییرات فنوتیپی وزن ریشه را توجیه نمودند. اثر افزایشی این QTLها ۰/۰۰۷، ۰/۰۱۱ و ۰/۰۰۶ در جهت افزایش بوده و آلل‌های افزایش‌دهنده از والد بادیا به نتاج منتقل شدند. یک QTL بزرگ‌اثر برای وزن ساقه‌چه روی کروموزوم ۴ در موقعیت ۶۸ سانتی‌مورگان بین نشانگرهای ISSR47-5 و ISSR48-4 قرار داشت که دارای LOD ۳/۸۴۹ بود و ۱۵/۸ درصد تغییرات فنوتیپی وزن ساقه‌چه رو توجیه نمودند. با اثر افزایشی ۰/۰۱۳ در جهت افزایش بوده و آلل‌های افزایش‌دهنده از والد کویر به نتاج منتقل شد. در شرایط تنش خشکی کروموزوم‌های ۴ و ۵ به‌عنوان مهم‌ترین

جدول ۳- QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با شرایط نرمال، تنش خشکی و تنش شوری در جمعیت F_8 حاصل از تلاقی ارقام بادیا و کویر

Table 3. QTLs controlling traits in normal, drought and salinity stress conditions in F_8 population caused Badia and Kavir cross

Traits صفت	QTL	Chr کروموزوم	Position موقعیت	Flanking markers نشانگرهای مجاور	Distance to closer marker فاصله تا نشانگر نزدیکتر	LOD	Add effect اثر افزایشی	R^2	Allele Direction جهت آلل
Normal نرمال									
طول ریشه Root length	qRLN-7	7	30	ISSR48-1- iPBS2231iPBS2074-2	0.59(iPBS2231iPBS2074-2)	2.791	-1.936	11.7	Kavir
وزن ریشه Root weight	qRWN-5	5	136	GBM1166- IRAP54-2	0.27(IRAP54-2)	2.586	-0.016	10.9	Kavir
	qRWN-7	7	40	iPBS2231iPBS2074-2- ISSR29-6	0.36 (ISSR29-6)	3.001	-0.023	12.6	Kavir
طول کلئوپتیل Coleoptile length	qCLN-2	2	88	HVM54- Bmag0571	0.79(HVM54)	2.648	-0.277	11.2	Kavir
	qCLN-4	4	58	EBmac0635- scssr14079	0.88(EBmac0635)	3.58	-0.273	14.8	Kavir
	qCLN-5a	5	54	scssr15334- GMS001	2.13(scssr15334)	3.823	-0.312	15.7	Kavir
	qCLN-5b	5	116	CAAT5-A- Bmag0113	0.87(Bmag0113)	3.593	-0.393	14.8	Kavir
	qCLN-5c	5	136	GBM1166- IRAP54-2	0.27(IRAP54-2)	2.586	0.327	10.9	Badia
درصد جوانه زنی Germination percentage	qGPN-4a	4	58	EBmac0635- scssr14079	0.88(EBmac0635)	3.034	5.89	12.7	Kavir
	qGPN-4b	4	114	EBmac0906- ISSR30iPBS2076-5	0.73(EBmac0906)	3.93	6.979	16.1	Kavir
	qGPN-4a	6	26	Bmag0004- ISSR48-3	1.23(ISSR48-3)	3.196	10.118	13.3	Kavir
Drought تنش خشکی									
طول ریشه Root length	qRLD-4a	4	2	GBM1525- CAAT5-C	0.21(CAAT5-C)	2.701	0.839	11.4	Badia
	qRLD-4b	4	70	ISSR47-5- ISSR48-4	1.15(ISSR48-4)	5.51	1.616	21.8	Badia
	qRLD-4c	4	136	CAAT3-B- ISSR13-4	0.45(ISSR13-4)	2.941	1.266	12.3	Badia
	qRLD-5	5	108	GBM1470- GBM1164	2.47(GBM1164)	4.595	1.277	18.6	Badia
وزن ریشه Root weight	qRWD-4a	4	12	HvOLE- IRAP50-2	0.12(IRAP50-2)	2.955	0.007	12.4	Badia
	qRWD-4b	4	70	ISSR47-5- ISSR48-4	1.15(ISSR48-4)	3.539	0.011	14.6	Badia
	qRWD-5	5	112	GBM1164- CAAT4-A	0.24(CAAT4-A)	3.636	0.006	15	Badia
وزن ساقه‌چه Plumule weight	qPWD-4	4	68	ISSR47-5- ISSR48-4	3.15(ISSR48-4)	3.849	0.013	15.8	Badia
Salinity تنش شوری									
طول ساقه‌چه Plumule length	qPLS-7	7	98	Bmag0135- scssr07970	2.15(Bmag0135)	2.572	-0.735	10.9	Kavir

و کاربردی‌ترین کروموزوم‌ها و مکان‌های ژنی به‌دلیل قرارگرفتن بیش‌ترینQTLها بودند.

مکان‌یابی مولفه‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری

یک QTL در شرایط تنش شوری برای طول ساقه‌چه روی کروموزوم ۷ شناسایی شد که در موقعیت ۹۸ سانتی‌مورگان با LOD ۲/۵۷۲ ردیابی شد و بین نشانگرهای Bmag0135 و scssr07970 قرار داشت و توانست ۱۰/۹ درصد تغییرات فنوتیپی این صفت را توجیه نمود. این QTL با اثر افزایشی ۰/۷۳۵- کاهشی بوده و والد کویر باعث کاهش طول ساقه‌چه، به‌میزان ۰/۷۳۵- سانتی‌متر در تنش شوری شد. ژنگ و همکاران (Zhang *et al*., 2005) سیزده QTL را برای صفات مرتبط با جوانه‌زنی در برنج شناسایی نمودند. در بررسی این محققین QTLهای کنترل‌کننده طول ساقه‌چه روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۷ و ۸ قرار داشتند. آنجسا و همکاران (Angessa *et al*., 2017) جمعیت هاپلوئید جو (*Hordeum vulgare* L) تولید شده از رقم مقاوم به شوری CM72 و رقم حساس به شوری Gairdner را مرحله جوانه-زنی مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعه جوانه‌زنی با تیمارهای آب دیونیزه، ۱۵۰ میلی‌مولار و ۳۰۰ میلی‌مولار NaCl انجام شد. در این بررسی دو QTL روی کروموزوم ۲ در موقعیت-های ۱۶۰/۲-۱۵۶ سانتی‌مورگان با درصد جوانه‌زنی در تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و ۳۰۰ میلی‌مولار مرتبط بودند.

مانو و تاکدا (Mano and Takeda, 1997) نشان داد که QTLهایی برای تحمل به شوری در مرحله‌ی جوانه‌زنی جو در جمعیت‌های استپتو و مورکس بر روی کروموزوم‌های 4H، 5H و 6H و در جمعیت‌های هارینگتون و TR360 بر روی کروموزوم‌های 1H و 5H وجود دارند. محققان مذکور در تجزیه که برای سرعت جوانه‌زنی انجام دادند یک QTL با بیش‌ترین اثرات را بر روی کروموزوم‌های 2H، 3H و 5H در جمعیت‌های استپتو و مورکس و در والدین هارینگتون و TR360 بر روی کروموزوم‌های 5H، 6H و 7H مکان‌یابی کردند. لاندا جوا و همکاران (Landjeva *et al*., 2010) روی صفات جوانه‌زنی در ۸۵ لاین DILs گندم و والدین آن‌ها، بیست QTL شناسایی کردند. در بررسی دیگر در ارتباط با مکان‌های ژنی کنترل مرحلهٔ جوانه‌زنی و رویشی در ۹۰ هاپلوئید مضاعف گندم بهاره، درمجموع ۳۸ مکان ژنی برای تمام صفت‌های مربوط به مراحل جوانه‌زنی و رویشی شناسایی کردند (Czyczyło- Mysza *et al*., 2014).

نتیجه‌گیری کلی

QTLهای نقشه‌یابی‌شده متفاوتی در هر هفت کروموزوم جو پراکنده شده بودند، ولی بیش از ۵۰ درصد از آن‌ها در شرایط نرمال و تنش خشکی روی کروموزوم ۴ و ۵ قرار داشتند. در شرایط نرمال (کروموزوم ۴ با ۳ جایگاه و کروموزوم ۵ با ۴ جایگاه از مجموع ۱۱ جایگاه واجد) در تنش خشکی (کروموزوم ۴ با ۶ جایگاه و کروموزوم ۵ با ۲ جایگاه از مجموع ۸ جایگاه واجد) بنابراین به‌نظر می‌رسد که این کروموزوم‌ها نقش تعیین‌کننده در کنترل صفات جوانه‌زنی داشته باشد. با توجه به نتایج حاضر ۵ مکان‌های ژنی بزرگ‌اثر به ترتیب qCLN-5a، qGPN-4b، qRLD-4b، qRLD-5 و qPWD-4 بزرگ‌اثر بودند و به‌ترتیب با توجیه ۱۵/۷، ۱۶/۱، ۲۱/۸، ۱۸/۶ و ۱۵/۸ درصد از تنوع فنوتیپی اثر بزرگی روی توجیه طول کلئوپتیل، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و وزن ساقه‌چه داشتند. بنابراین می‌توان از نشانگرهای مرتبط با آن‌ها برای انتخاب بهترین افراد برای رسیدن به خانواده‌های مطلوب و با قدرت جوانه‌زنی بالا در شرایط تنش به‌عنوان نشانگر مثبت در امر گزینش برای افزایش جوانه‌زنی نهایی کمک گرفت. پژوهش حاضر برای تعیین و تشخیص نواحی ژنی کنترل-کننده صفات مرتبط با جوانه‌زنی در جو انجام شد. از آن‌جایی-که در آزمایش حاضر از یک نقشه ژنتیکی متراکم، استفاده شد، بنابراین اغلب QTLها در مجاورت یک یا دو نشانگر قرار داشتند، مکان‌یابی این QTLها در جایگاه‌های تقریباً یکسان مکان‌یابی نشان‌دهنده تاثیر پذیرفتن جزئی از محیط است. استفاده از مکان‌های ژنی هم‌مکان در شرایط مختلف محیطی پس از تعیین اعتبار در نسل‌های پیشرفته می‌تواند موجب افزایش کارایی انتخاب به کمک نشانگر و پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی گیاهی شود.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از مسئول آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبد کاووس تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abiri, R., Zebarjadi, A.R., Ghobadi, M. and Kaivan Kafashi, A. 2016. Investigation of drought tolerance of barley genotypes during germination stage using polyethylene glycol. Plant Breeding and Agronomy, 29(2): 395-406. **(Journal)**

Almansouri, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durumwheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil, 231: 243-254. **(Journal)**

Angessa, T.T., Zhang, X.Q., Zhou, G., Zhang, W., Li, C. and Broughton, S. 2017. Early growth stages salinity stress tolerance in CM72 × Gairdner doubled haploid barley population. PLoS ONE, 12: e0179715. **(Journal)**

Ashraf, M., Bokhari, H. and Cristiti, S.N. 2006. Variation in osmotic adjustment of lentil (*Lens culimaris* Medic) in response to drought. Acta Botanica Neerlandica, 41(1): 51-62. **(Journal)**

Atak, M., Kaya, M D., Kaya, G., Çıkılı, Y. and Çiftçi, C.Y. 2006. Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. Turkish Journal of Agriculture, 30: 39-47. **(Journal)**

Boronnikovaa, S.V. and Kalendar, N.R. 2010. Using IRAP Markers for Analysis of Genetic Variability in Populations of Resource and Rare Species of Plants. Russian Journal of Genetics, 46(1): 36–42. **(Journal)**

Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J. 2009. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. Plant Molecular Biology, 27(1):86-93. **(Journal)**

Czyczyło- Mysza, I., Marcinska, I., Skrzypek, E., Cyganek, K., Juzon, K. and Karbarz, M. 2014. QTL Mapping for germination of seeds obtained from previous wheat generation under drought. Central European Journal of Biology, 9: 374-382. **(Journal)**

FAOSTAT. 2019. FAO Statistical Data. [www.faostat.org.]

Farshadfar, A.S. 2002. Application of Quantitative Genetics in Plant Breeding, Tagh Bostan Publications, Vol. I, 528 pp. (In Persian)**(Book)**

Farzadmehr, J., Ramezani Goshk, M., Behbahani, N. and Momeni, N. 2011. Effect of salt stress and drought stress on seed germination and seedling growth in Salsola Arbuscula. Journal of Natural Resources, 64: 227-217. **(Journal)**

Ghaffari Moghaddam, S., Sabouri, H., Gholizadeh, A. and Fallahi, H. 2019. Identification of QTLs associated with some (*Hordeum vulgare L.*) traits in a germination stage under salt stress conditions. Iranian Journal of Plant Biology, 11(3):79-94. (In Persian)**(Journal)**

Gholparvar, A.R., Ghanadha, M.R., Zali, A.A. and Ahmadi, A. 2003. Evaluation of some morphological traits as selection criteria in breeding wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 4(3): 202-208. (In Persian)**(Journal)**

Ghoulam, C. and Fares, K. 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris*). Seed Science and Technology, 29: 357-364. **(Journal)**

Graner, A., Jahoor, A., Schondelmaier, J., Siedler, H., Pillen, K., Fischbeck, G., Wenzel, G. and Herrmann, R.G. 1991. Construction of an RFLP map of barley. Theoretical and Applied Genetics, 83(2): 250–256. **(Journal)**

Hu, S.P., Hua,Y., Zou, H., Liu, Y., Liu, L., Mei,C., Run, M.S. and Luo, L. 2007. Relationship between coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in rice. Rice Science, 14(1): 13-20. **(Journal)**

Jafary, H., Szabo, L. and Niks, R. 2006. Innate Nonhost Immunity in Barley to Different Heterologous Rust Fungi Is Controlled by Sets of Resistance Genes with Different and Overlapping Specificities. Mol Plant Microbe Interact, 19(11):1270–1279. **(Journal)**

Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. and Schulman, A.H. 2010. iPBS: a universal method for DNA Wngerprinting and retrotransposon isolation. Theoretical and Applied Genetics, 121(8):1419–1430. **(Journal)**

Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A. and Schulman, A. 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. Theoretical and Applied Genetics, 98(5): 704-711. **(Journal)**

Kaya, MD., Okçu, G., Atak, M., Çıkılı, Y. and Kolsarıcı, Ö. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy, 24(4): 291-295. **(Journal)**

Khalili, M. and Mohammadian, R. 2016. Identifying QTL associated with salinity tolerance in earlyb stages of barley germination. Journal of Crop Biotechnology, 5(13): 41-55. (In Persian)**(Journal)**

Khalili, M., Javaheri Khashani, F. and Ebrahimi, M.A. 2017. Evaluation of genetic diversity and identification of QTL Controlling seed germination and seedling establishment traits in wheat. Iranian Agriculture Drought Journal, 1: 121-145 (In Persian)**(Journal)**

Khodarahmi, M.A ., Amini, A. and Bihamta, M.R. 2006. Study of the correlation of traits and causality analysis of grain yield in triticale. Journal of Agricultural Sciences of Iran, 37 (1): 77-83. (In Persian)**(Journal)**

Kleinhofs, A., Kilian, A., SaghaiMaroof, M.A., Biyashev, R.M., Hayes, P., Chen. F.Q., Lapitan, N., Fenwick, A., Blake, T.K., Kanazin, V., Ananiev, E., Dahleen, L., Kudrna, D., Bollinger, J., Knapp, S.J., Liu, B., Sorrells, M., Heun, M., Franckowiak, J.D., Hovman, D., Skadsen, R. and Steffenson, B.J. 1993. A molecular, isozyme and morphological map of the barley (Hordeum vulgare) genome. Theoretical and Applied Genetics, 86(6):705–712. **(Journal)**

Landjeva, S., Lohwasser, U. and Borner, A. 2010. Genetic mapping within the wheat D genome reveals QTL for germination, seed vigour and longevity, and early seedling growth. Euphytica, 171: 129-143. **(Journal)**

Li, J.Z., Sjakste, T.G., Roder, M.S. and Ganal, M.W. 2003. Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. Theoretical and Applied Genetics, 107(6): 1021–1027. **(Journal)**

Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158. **(Journal)**

Manly, K.F. and Olson, J.M. 1999. Overview of QTL mapping software and introduction to map manager QTL. Mamm Genome, 10(4): 327-334. **(Journal)**

Mano, Y. and Takeda, K. 1997. Mapping quantitative trait loci for salt tolerance at germination and the seedling stage in barley (*Hordeum vulgare* L.). Euphytica, 94: 263–272. **(Journal)**

Marcel, T.C., Varshney, R.K., Barbieri, M., Jafary, H., De Kock, M.J.D., Graner, A. and Niks, R.E. 2007. A high-density consensus map of barley to compare the distribution of QTLs for partial resistance to Puccinia hordei and of defence gene homo- logues. Theoretical and Applied Genetics, 114(3):487–500. **(Journal)**

Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Second reprint. Academic Press. pp: 6-73**. (Book)**

Marjani, A., Farsi, M. and Rahimizadeh, M.S. 2006. Evaluation of drought tolerance of 10 pea genotypes at germination stage using polyethylene glycol 6000. Journal of Agricultural Sciences, 12(1): 29-17. (In Persian)**(Journal)**

Michel, B.E. and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant physiology, 51(5): 914-916. **(Journal)**

Moursi, Y., Thabet, S., Amro, A. and Dawood, M. 2020. Detailed genetic analysis for identifying QTLs associated with drought tolerance at seed germination and seedling stages in barley. Plants, 9(11): 10-24. **(Journal)**

Mwando, E., Angessa, T.T., Han, Y., Zhou, G. and Li, C. 2021. Quantitative Trait Loci Mapping for Vigour and Survival Traits of Barley Seedlings after Germinating under Salinity Stress. Agronomy, 11: 103. **(Journal)**

Nelson, J. 1997. QGENE: Software for marker– based analysis and breeding. Molecular Breeding, 3: 239–245. **(Journal)**

Patade, V.Y., Maya, K. and Zakwan, A. 2011. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in capsicum. Research Journal of Seed Science, 4(3): 125 - 136. **(Journal)**

Qi, X., Stam, P. and Lindhout, P. 1998. Use of locus-specific AFLP markers to construct a high-density molecular map in barley. Theoretical And Applied Genetics, 96 (3-4): 376-384. **(Journal)**

Ramsay, L., Macaulay, M., Ivanissevich, D.S., MacLean, K., Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K.J., Tuvesson, S., Morgante, M., Massari, A., Maestri, E., Marmiroli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. and Waugh, R. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. Genetics, 156(4):1997–2005. **(Journal)**

Rostoks, N., Mudie, S., Cardle, L., Russell, J., Ramsay, L., Booth, A., Svensson, J.T., Wanamaker, E.M., Hedley, P.E., Liu, H., Morris, J., Close, T.J., Marshall, D.F. and Waugh, R. 2005. Genome-wide SNP discovery and linkage analysis in barley based on genes responsive to abiotic stress. Molecular Genetics and Genomics, 274(5): 515–527. **(Journal)**

Saghi Maroof, M.A., Biyaoshev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W. 1994. Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barly species diversity, chromosomal location, and population dynamics. Processing of the academy of sciences, USA, 91: 4566-5570. Science, 6(12): 355- 363. **(Journal)**

Sato, K., Nankaku, N., Motoi, Y. and Takeda, K. 2004. A Large Scale Mapping of ESTs on Barley Genome. In: Spunar J, Janikova J (eds) Proceedings of the 9th international barley genetics symposium, 20–26 June 2004, Brno, Czech Republic. Agricultural Research Institute Kromeriz Ltd, pp85-79**. (Book)**

Singh, A.K., Rana, M.K., Singh, S., Kumar, S., Kumar, R. and Singh, R. 2014. CAAT box- derived polymorphism (CBDP): a novel promoter -targeted molecular marker for plants. Plant Biotechnology Journal, 23(2):175–183. **(Journal)**

Struss, P. and Plieske, J. 1998. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. Theoretical and Applied Genetics, 97: 308–315. **(Journal)**

Taghizadeh, Z., Sabouri, H., Hosseini Moghaddam, H., Fallahi, H.A. and Katouzi, M. 2019. Mapping QTLs associated with barley seed germination traits under normal and drought stress conditions. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 8(1): 227-239. (In Persian)**(Journal)**

Thiel, T., Michalek, W., Varshney, R.K. and Graner, A. 2003. Exploiting EST databases for the development of cDNA derived microsatellite markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theoretical and Applied Genetics, 106(3):411–422. **(Journal)**

Varshney, R.K., Marcel, T.C., Ramsay, L., Russell, J., Roder, M.S., Stein, N., Waugh, R., Langridge, P., Niks, R.E. and Graner, A. 2007. A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. Theoretical and Applied Genetics, 114(6): 1091–1103. **(Journal)**

Varshney, R.K., Prasad, M., Zhang, H., Kota, R., Sigmund, R., Scholz, U., Stein, N. and Graner, A. 2004. EST-derived Markers and Transcript Map of Barley: A Resource for InterspeciWc Transferability and Comparative Mapping in Cereals. In: Spunar J, Janikova J (eds) Proceedings of the 9th international barley genetics symposium, 20–26 June 2004, Brno, Czech Republic. Agricultural Research Institute Kromeriz Ltd, Pp. 332–338 **(Book)**

Wenzl, p., Li, H., Carling, J., Zhou, M., Raman, H., Paul, E., Hearnden, P., Maier, C., Xia, L., Caig, V., Ovesná, J., Cakir, M., Poulsen, D., Wang, J., Raman, R., Smith, K.P., Muehlbauer, G.J., Chalmers, K.J., Kleinhofs, A., Huttner, E. and Kilian, A. 2006. A High-Density Consensus Map of Barley Linking DArT Markers to SSR, RFLP and STS Loci and Agricultural Traits. BMC Genome, 7(1): 206. **(Journal)**

Xu, S.B., Tao, Y.F., Yang, Z.Q. and Chu, J.Y. 2002. A simple and rapid method used for silver staining and gel preservation. Hereditas (Beijing), 24(3): 335–336. **(Journal)**

Zhang, Z.H., Yu, S.B., Yu, T., Huang, Z. and Zhu, Y.G. 2005. Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling vigor using recombinant inbred lines of rice (Oryza sativa L.). Field Crops Research, 91: 161-170. **(Journal)**

Identification of QTLs related to germination parameters in barley (*Hordeum vulgare*) under normal, drought and salinity condition

Somayyeh Makhtoom[1], Hosein Sabouri[2*], Abdollatif Gholizadeh[3], Leila Ahangar[4], Mahnaz Katoozi[5]

Received: June 24, 2021 Accepted: August 29, 2021

Abstract

Seed germination is described as a prominent and important feature of a cultivar. In order to identify QTLs related to barley germination under normal, salinity and drought conditions, 103 F_8 families from Crosses of two cultivars, Badia × Kavir, were assessed using completely randomized design in two replications during the 2018-2019, in the botanical laboratory of Gonbad Kavous University, Iran. Number of roots, root length, root weight, coleoptile length, plumule length, plumule weight and germination percentage. Linkage maps were prepared using 152 SSR polymorphic markers, 72 ISSR alleles, 7 IRAP alleles, 29 CAAT alleles, 27 Scot alleles and 15 iPBS alleles. The molecular markers used were attributed to 7 barley chromosomes with a map length of 999.2 centi Morgans (cM). The mean distance between two adjacent markers was 3.387 cM. QTL analysis was performed using composite distance mapping (CIM) for each trait in each environment. In this study, chromosomes 4, 5 and 7 were the most important chromosomes in all three conditions due to the presence of the most QTLs. Under normal conditions 2 major effect QTLs were detected for the coleoptile length (qCLN-5a) and Germination percentage (qGPN-4b) was detected, Under drought stress conditions, 3 major effect QTLs were detected for root length (qRLD-4b) and (qRLD-5) for stem weight (qPWD-4). The results of this research can be used in marker assisted selection programs after determining the validity.

Keywords: Barley; Germination; Salinity and drought stress; Marker selection; Molecular markers

How to cite this article
Makhtoom, S., Sabouri, H., Gholizadeh, A., Ahangar, L. and Katoozi, M. 2022. Identification of QTLs related to germination parameters in barley (*Hordeum vulgare*) under normal, drought and salinity condition. Iranian Journal of Seed Science and Research, 9(1): 51-66. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2022.6145

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. MSc student of Biotechnology, Department of Crop Production, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran. somayyeh.makhtoum@yahoo.com
2. Associate Professor, Department of Crop Production, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran. hos.sabouri@gmail.com
3. Assistant Professor, Department of Crop Production, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran. lgholizadeh@gmail.com
4. Assistant Professor, Department of Crop Production, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, University of Gonbad Kavoos, Gonbad Kavoos, Iran. l.ahangar63@gmail.com
5. Researcher, Department of Plant Breeding and Genetics Resources, Agroscope, Switzerland. mahnaz.katouzi@agroscope.admin.ch

*Corresponding author: hos.sabouri@gmail.com