



تجزیه QTLs برای صفات مورفولوژیک جو تحت شرایط تنش بور

حسن مسلمی^۱، محمود سلوکی^۲ و براتعلی فاخری^۳

۱ و ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه زابل
۲- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه زابل، (نویسنده مسوول: mahmood.solouki@gmail.com)
تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۱

چکیده

در این مطالعه ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف شده جو به همراه دو والد مورد مطالعه قرار گرفتند. این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار و در شرایط بدون تنش (شاهد) و تنش بور، در محیط کشت هیدروپونیک در سال ۱۳۹۲ به اجرا درآمد. صفات وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی و نسبت آنها، طول ریشه و ساقه، طول بلندترین برگ و طول کل گیاه اندازه‌گیری شدند. تجزیه‌های آماری برای بررسی‌های فنوتیپی شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و محاسبه همبستگی‌های فنوتیپی بین صفات انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین لاین‌ها برای اغلب صفات مورد بررسی وجود داشت. در شرایط شاهد و تنش بور حداکثر همبستگی بین صفت طول ریشه با طول کل گیاه (۰/۹۲۵ و ۰/۹۳۴) مشاهده شد. تجزیه QTL با استفاده از نقشه پیوستگی ژنتیکی حاصل از نشانگرهای مولکولی به دست آمده از ۳۲۷ مارکر AFLP و نرم‌افزار WinQTL cartographer 2.5 به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) انجام شد. در مجموع ۲۹ عدد QTL برای صفات مورد بررسی (به ترتیب ۱۷ تا برای شرایط شاهد و ۱۲ تا برای شرایط تنش) بدست آمد که واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها از ۱۰ تا ۲۷/۵۶ درصد متغیر بود. بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی متعلق به صفت نسبت طول ریشه به ساقه در شرایط تنش بور بود. LOD در دامنه ۴/۳۲-۲/۵۰ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD به ترتیب مربوط به QTLهای صفات نسبت طول ریشه به ساقه و طول برگ بود. در این تحقیق فقط یک جایگاه واجد QTL در یک مکان مشابه قرار داشت که به صورت پایدار بود (طول برگ 3H)، بنابراین می‌توان از آن برای گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تنش بور، جو، محیط کشت هیدروپونیک، مکان‌یابی صفات کمی، همبستگی صفات

مقدمه

بور عنصری است که حد سمیت و کمبودش خیلی به هم نزدیک می‌باشد یعنی وقتی که غلظت آن پایین است، کمبود آن وجود دارد و چنانچه مقداری در گیاه افزایش پیدا کند، برای گیاه ایجاد مسمومیت می‌کند (۴). فیزیولوژی پویایی بور به طور چشمگیری بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است، به طوری که بور در برخی از گیاهان به عنوان عنصری متحرک و در برخی دیگر به عنوان عنصری غیر متحرک شناخته می‌شود (۳). گیاهان از نظر تحمل نسبی در برابر بور به دسته‌های خیلی حساس، حساس، نسبتاً حساس، نسبتاً متحمل، متحمل و خیلی متحمل تقسیم‌بندی می‌شوند. به طور کلی غلات نسبت به مقادیر متوسط و زیاد بور حساس هستند (۲۱). بر اساس طبقه‌بندی محدوده تحمل گیاهان به میزان بور موجود در محلول خاک (میلی گرم بر لیتر)، جو جزء گیاهان نسبتاً متحمل (۴-۲ میلی گرم بر لیتر) قرار دارد. که در این محدوده گیاهان متحمل علائم مسمومیت را نشان نمی‌دهند (۱۷). به دلیل عدم استفاده از خاک در کشت هیدروپونیک، استفاده از محلول‌های غذایی مناسب برای این نوع کشت اهمیت ویژه‌ای دارد، همچنین سایر شرایط محیطی اعم از نور، دما، pH، تهویه و ظروف کشت نیز در رشد گیاه مؤثر می‌باشند (۲۲). امروزه بهبود و افزایش عملکرد گیاهان زراعی به واسطه دستکاری غیر مستقیم جایگاه‌های صفات کمی (QTLها)، ممکن شده است. شناسایی و درک ژنتیکی مکانیسم‌های فیزیولوژیکی درگیر در تولید بیوماس و اجزای آن و تحمل به تنش‌های محیطی، می‌تواند موجب تسریع این فرآیند گردد و به فهم اساس ژنتیک عملکرد گیاهان زراعی تحت شرایط محیطی مختلف، کمک کند و در نتیجه

آزادسازی ارقام زراعی با توانایی بیشتر به تحمل تنش‌های غیرزیستی را تسریع بخشد (۱۲، ۱۹).

ژو و همکاران (۲۳) در تحقیقی که برای شناسایی QTLهای مورفولوژیک و محتوی کلروفیل جو انجام دادند، تعداد ۹ QTL که واریانس فنوتیپی آنها در دامنه‌ی ۲۰/۲-۱/۹ قرار داشت را شناسایی کردند. در آزمایشی که به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۴۸ ژنوتیپ جو با استفاده از ۲۲ مارکر SSR انجام گرفت، بعضی ارتباطات عملکرد و صفات زراعی مشاهده شد (۶). محمدی و باثوم (۱۶) در تحقیقی برای صفات مورفولوژیک در ۱۵۸ لاین هاپلوئید مضاعف شده جو حاصل از تلاقی Wi2291×Tadmor برای صفات مختلف QTLهای مختلفی را شناسایی کردند. امین‌فر (۱) QTLهای مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای در جمعیت دابل هاپلوئید جو در شرایط کشت هیدروپونیک مورد مطالعه قرار داده و تعداد ۱۱۱ QTL برای چهار سطح شوری را مکان‌یابی نمودند که واریانس فنوتیپی آنها بین ۷/۹۹ تا ۳۳/۴۱ درصد متغیر بود. همچنین طی تحقیقی که در مناطق خشک (ایکارد) انجام گردید، برخی QTLهای کنترل‌کننده صفات قدرت رشد گیاهچه و ارتفاع بوته جو شناسایی شد که برخی از QTLها را اختصاصی منطقه مدیترانه و برخی را نیز عمومی دانسته و در زمره QTLهای اصلی محسوب نمودند (۲). گلشنی (۷) در تحقیقی QTLهای کنترل‌کننده صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک را در جمعیت هاپلوئید مضاعف شده جو حاصل از تلاقی Morex×Steptoe تحت شرایط تنش نیکل در شرایط کشت هیدروپونیک مورد مطالعه قرار داد و برای این صفات ۱۱۴ عدد QTL شناسایی نمودند. زارع کهن و همکاران (۲۵) در مطالعه‌ای نقشه‌یابی ارتباطی ۱۴۸

مرکب (CIM) برای داده‌های شرایط شاهد و تنش بور به‌طور مجزا انجام گرفت. حداقل LOD برای شناسایی QTLها ۲/۵ و حداقل فاصله پویش ۲ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. علاوه بر تعیین جایگاه و میزان اثر هر QTL، واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTLها و نیز توسط مجموع QTLها در یک مدل رگرسیون چندگانه توجیه می‌شد، محاسبه گردید. قله‌های LOD موقعیت QTL را نشان می‌دهند. تجزیه QTL با نرم‌افزار WinQTL cartographer 2.5 انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای شرایط شاهد و هم شرایط تنش بور نشان داد که تفاوت ژنوتیپ‌ها (والدین و لاین‌های مربوطه) برای تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال ۱ و ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). بر اساس نتایج مقایسه میانگین صفات در شرایط شاهد، در بین والدین، فقط والد ۷۴ برای صفات وزن خشک ریشه (۰/۰۲۹ گرم) و وزن خشک اندام هوایی (۰/۰۳۵ گرم) در کلاس A قرار گرفت. در بین لاین‌های مورد بررسی، لاین ۳۳ برای صفات طول برگ (۲۷/۷۲ سانتی‌متر) و وزن تر اندام هوایی (۰/۴۳۸ گرم)، لاین ۷۲ برای نسبت طول ریشه به ساقه (۱/۶۱)، لاین ۴۹ برای طول ریشه (۱۲/۳۵ سانتی‌متر) و طول کل گیاه (۲۲/۰۷ سانتی‌متر)، لاین ۴ برای طول ساقه (۱۰/۴۵ سانتی‌متر)، لاین ۵ برای وزن تر ریشه (۰/۱۸۴ گرم)، لاین ۶۷ برای نسبت وزن تر ریشه به اندام هوایی (۰/۵۸۶) و لاین ۳۰ برای نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۰/۹۰۱) بیشترین مقدار را داشتند (جدول نتایج مقایسه میانگین ارائه نشده است).

نتایج مقایسه میانگین در شرایط تنش بور نشان داد که لاین ۲۶ برای صفات طول ریشه (۱۳/۸ سانتی‌متر) و طول کل گیاه (۲۳/۰۵) بیشترین و به ترتیب لاین‌های ۱۹ (۵/۵۵ سانتی‌متر) و ۱۰ (۱۱/۷۵ سانتی‌متر) کمترین مقدار صفات مربوطه را نشان دادند. لاین‌های ۵ و ۹ به ترتیب با ۹/۹۰ و ۵/۶۲ سانتی‌متر طول ساقه بیشترین و کمترین مقدار را داشتند. بیشترین و کمترین میزان نسبت طول ریشه به طول ساقه را لاین‌های ۴۵ (۱/۶۹) و ۱۹ (۰/۷۵) نشان دادند. لاین ۳۴ به ترتیب برای صفات طول بلندترین برگ (۲۵/۱۵ سانتی‌متر)، وزن تر اندام هوایی (۰/۳۶۶ گرم) و وزن خشک اندام هوایی (۰/۰۳۳ گرم) در کلاس A قرار گرفت. برای صفت وزن تر ریشه به ترتیب لاین ۶۲ (۰/۱۷۶ گرم) بیشترین و لاین‌های ۱۹ و ۲۴ (۰/۰۸۵ و ۰/۰۷۴ گرم) کمترین مقدار را داشتند. لاین‌های ۶۵ (۰/۸۶۴) و ۲۴ (۰/۳۶۹) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان نسبت وزن تر ریشه به وزن تر اندام هوایی را نشان دادند. برای صفات وزن خشک ریشه به ترتیب لاین‌های ۵۴ و ۲۳ (۰/۰۱۴ و ۰/۰۳۳ گرم) و ۳۴ (۰/۰۳۳ گرم) و وزن خشک اندام هوایی لاین ۳۴ (۰/۰۳۳ گرم) بیشترین مقدار را نشان دادند. لاین ۵۳ (۰/۷۶۴) بیشترین و لاین ۳۲ (۰/۳۸۵) کمترین مقدار نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی را داشتند. نتایج نشان داد که لاین‌ها از نظر تمامی صفات مورد بررسی در شرایط تنش بور

ژنوتیپ جو را در شرایط شاهد و تنش خشکی انجام دادند، که براساس نتایج آنها چندین مکان ژنی مشترک در دو شرایط آزمایش شناسایی شد.

با توجه به اهمیت انجام مطالعات مکانیابی صفات کمی به خصوص در شرایط تنش، این تحقیق با هدف تعیین QTLهای کنترل‌کننده برخی صفات مورفولوژیک جو و شناسایی نشانگرهای پیوسته با آنها در مرحله گیاهچه انجام شد، تا بتوان از اطلاعات حاصل، در افزایش سودمندی اصلاح صفات مورد مطالعه به خصوص در شرایط تنش بور بهره گرفت.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف شده جو (لاین‌های شماره ۱ تا ۷۲) به همراه والدین آن‌ها (استپتونه و مورکس با شماره‌های ۷۳ و ۷۴) که در برنامه اصلاح جو دانشگاه ایالات اورگون به‌منظور تعیین نقشه ژنوم جو آمریکای شمالی (NABGMP) به دست آمده بود، مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایشی بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار با دو شرایط، بدون تنش (شاهد) و تنش بور، در شرایط کشت هیدروپونیک انجام شد. این تحقیق در آزمایشگاه تحقیقات دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۲ انجام شد. ابتدا بذرها پس از شستشوی اولیه به مدت ۲۴ ساعت درون لیوان خیس‌انده شد و سپس در کاغذ کروماتوگرافی کشت شدند. پس از سبز شدن، گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک محتوی محلول غذایی هوکلند تغییر یافته انتقال یافتند. برای ایجاد تنش بور از اسید بوریک استفاده شد. یک هفته پس انتقال گیاهچه‌های سبز شده به محیط غذایی هوکلند، اعمال تنش بور با اضافه کردن محلول اسید بوریک دو روز یکبار و با غلظت نهایی ۸ میلی‌مولار انجام شد. در هر مرحله اعمال تنش، محیط قبلی تعویض شد. یک هفته بعد از اعمال تنش بور برخی صفات مورفولوژیک شامل وزن تر و خشک ریشه (گرم)، وزن تر و خشک بخش هوایی (گرم) و نسبت آنها، طول ریشه و ساقه (سانتی‌متر) و نسبت آنها، طول بلندترین برگ (سانتی‌متر) و طول کل گیاه (سانتی‌متر) یادداشت برداری شدند.

تجزیه واریانس ساده با رویه ANOVA و مقایسه میانگین (روش دانکن) با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام گرفت. از ضرایب همبستگی ساده برای آگاهی از رابطه بین صفات استفاده می‌شود، در همین راستا همبستگی دو به دوی صفات مورد مطالعه با نرم‌افزار SPSS 16 محاسبه شد. با استفاده از نقشه پیوستگی جامعه جو حاصل از تلاقی دو وارپته استپتونه (CI15229) و مورکس (CI15773)، QTLها نقشه‌یابی شدند. نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی جو از سایت: <http://barleygenomics.wsu.edu> بازیابی و برای نقشه‌یابی صفات مورد مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. این نقشه نسبتاً اشباع، مرکب از ۳۲۷ مارکر AFLP، با طول ۱۲۲۶/۳ و متوسط فاصله ۳/۷۵ سانتی‌مورگان بود که توسط پروژه‌ی نقشه‌یابی ژنوم جو آمریکای شمالی (NABGMP) تهیه گردید (۱۰). تجزیه QTL به روش نقشه‌یابی فاصله‌ای

برتر از والدین بودند. در مطالعات گذشته نیز کاهش رشد گیاهچه‌ها در شرایط تنش نسبت به شرایط شاهد در گندم توسط نعیمی و همکاران (۱۸) نیز گزارش شده است. که در این مطالعه هم اغلب گیاهچه‌های تحت تنش از نظر اغلب صفات مورد بررسی نسبت به شرایط شاهد رشد کمتری داشتند.

در شرایط شاهد نتایج ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه نشان داد که بین اکثر صفات همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. بیشترین مقدار همبستگی مثبت را صفت طول ریشه با طول کل گیاه (۰/۹۲۵) و بیشترین همبستگی منفی را صفت وزن خشک اندام هوایی با نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۰/۶۲۸-) نشان دادند (جدول ۳). همبستگی ساده برای صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش بور نیز نشان داد که بیشترین مقدار همبستگی مثبت را صفت طول ریشه با طول کل گیاه (۰/۹۳۴) و بیشترین همبستگی منفی را صفت وزن خشک اندام هوایی با نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۰/۶۵۲-) نشان دادند (جدول ۴). مطالعه سراجی (۲۰) روی ۱۶۷ اینبرد لاین نو ترکیب گندم حاصل از تلاقی Seri M82 و Babax به همراه دو والد تحت شرایط بدون تنش و تنش شوری در محیط کشت هیدروپونیک حاکی از وجود تفاوت معنی‌داری بین لاین‌ها برای اکثر صفات مورد بررسی بود و همچنین حداکثر همبستگی بین وزن تر بخش هوایی با وزن خشک بخش هوایی (۰/۹۴**) گزارش شد.

نتایج حاصل از QTL‌های شناسایی شده برای میانگین داده‌های حاصل از صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف شده جو در شرایط شاهد در جدول ۵ نشان داده شده است. برای ۱۱ صفت مورد مطالعه در مجموع ۱۷ عدد QTL شناسایی شد. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL‌ها در دامنه ۱۰/۹۳ تا ۲۰/۷۲ درصد متغیر بود که بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی به ترتیب متعلق به صفات نسبت طول ریشه به ساقه و وزن خشک اندام هوایی بود. LOD در دامنه ۴/۳۲-۲/۵۱ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD به ترتیب مربوط به QTL‌های نسبت طول ریشه به ساقه و وزن تر اندام هوایی بود.

برای صفت نسبت طول ریشه به ساقه دو QTL یافت شد که به ترتیب در جایگاه ۲۲ و ۳۶/۶ سانتی‌مورگانی و بر روی کروموزوم 2H شناسایی گردید و در مجموع ۳۲/۲۲ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمود و دارای اثرات افزایشی ۰/۱۶ و -۰/۱۳ بود. برای طول برگ یک QTL در

جایگاه ۳۲/۷ سانتی‌مورگان بر روی کروموزوم 7H شناسایی گردید که ۲۰/۷۲ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود و دارای اثر افزایشی ۱/۲۵ بود. سه QTL برای وزن تر ریشه در جایگاه‌های ۱۶/۳، ۱۴۴/۲ و ۱۵۴/۲ سانتی‌مورگان به ترتیب بر روی کروموزوم‌های 3H و 7H شناسایی گردید که در مجموع ۴۵/۰۸ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود. این QTL‌ها با نشانگرهای ABC171، ABC461 و ksud14G همبستگی داشته و دارای اثر افزایشی پایین بودند. یک QTL برای وزن تر اندام هوایی در جایگاه ۲۲/۳ سانتی‌مورگان بر روی کروموزوم 3H شناسایی گردید که ۱۱/۳۹ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد این QTL با نشانگر MWG584 همبستگی داشته و اثر افزایشی آن ۰/۱۸ بود. یک QTL برای صفت نسبت وزن تر ریشه به اندام هوایی شناسایی شد، که روی کروموزوم 4H در جایگاه ۱۵۴/۷ سانتی‌مورگان قرار داشت و ۱۴/۵۳ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کرد و دارای اثر افزایشی ۰/۰۲- بود. یک QTL برای صفت وزن تر کل گیاه شناسایی شد که روی کروموزوم 3H و در جایگاه ۱۰۴/۱۰ سانتی‌مورگان قرار داشت. این QTL ۱۷/۱۹ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کرد و نزدیک نشانگر MWG555b قرار داشته و دارای اثر افزایشی ۰/۰۲ بود. چهار QTL برای صفت وزن خشک ریشه شناسایی شدند، که روی کروموزوم‌های 2H و 7H در جایگاه‌های ۷، ۲۲/۵، ۱۴۴/۲ و ۱۵۱/۵ سانتی‌مورگان قرار داشتند و در مجموع ۵۵/۰۳ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد. این QTL‌ها نزدیک نشانگرهای ABC703b، ABC008، ABC170A و ABC310b قرار داشتند، و دارای اثرات افزایشی مثبت و پایینی بودند. برای صفت وزن خشک اندام هوایی سه QTL شناسایی شد که روی کروموزوم‌های 3H، 6H و 7H و در جایگاه‌های ۱۱۷/۴، ۹۷ و ۱۲۰/۸ سانتی‌مورگان قرار داشتند و ۳۸/۸۶ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه نمود. این QTL‌ها به ترتیب با نشانگرهای ABC307B، ABC170A و ABC310b همبستگی داشته و اثرات افزایشی مثبت و پایینی داشتند. دو QTL برای نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی شناسایی شدند که روی کروموزوم‌های 3H و 5H به ترتیب در جایگاه ۳/۸۱ و ۰/۰۰ سانتی‌مورگان قرار داشتند. QTL‌های شناسایی شده ۲۳/۳۲ از تنوع کل صفت را توجیه نمودند و به ترتیب دارای اثرات افزایشی ۰/۰۳- و ۰/۰۲- بودند. برای صفات طول ریشه، طول ساقه و طول کل گیاه در شرایط شاهد هیچ QTL یافت نشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین و ۲ والد جو در شرایط شاهد

Table 1. The results of analysis of variance for studied traits in 72 barley lines with two parents in normal condition

** : اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین و ۲ والد جو در شرایط تنش یور

Table 2. The results of analysis of variance for studied traits in 72 barley lines with two parents in boron stress condition

** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱.

حدوا، ۳- نتایج ضرب همستگ، بن، صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین، و ۲ والد حو در شرایط شاهد

Table 3. The results of correlation coefficient between studied traits in 72 barley lines with two parents in normal conditions

****:** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱.

• اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵.

جدول ۴- نتایج ضریب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین و ۲ والد جو در شرایط تنش بور
Table 4. The results of correlation coefficient between studied traits in 72 barley lines with two parents in boron stress conditions

صفت	طول ریشه	طول ساقه	طول ریشه / ساقه	طول برگ	طول کل گیاه	وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن تر ریشه / اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه / اندام هوایی
طول ریشه	۱										
طول ساقه	۰/۴۹۴***	۱									
طول ریشه / ساقه	۰/۷۲۴***	۰/۲۲۳	۱								
طول برگ	۰/۴۴۰***	۰/۶۰۴**	۰/۰۲۶	۱							
طول کل گیاه	۰/۹۳۳***	۰/۷۷۲**	۰/۴۲۸**	۰/۵۶۹**	۱						
وزن تر ریشه	۰/۵۲**	۰/۳۸۸**	۰/۲۶۵*	۰/۳۶۸**	۰/۵۳۹**	۱					
وزن تر اندام هوایی	۰/۵۴۹***	۰/۷۶۶**	۰/۰۰۳	۰/۷۳۲**	۰/۷۱۶**	۰/۵۵۲**	۱				
وزن تر ریشه / اندام هوایی	۰/۰۱۲۳	۰/۴۹۶**	۰/۲۵*	۰/۴۲۹**	۰/۲۹۴*	۰/۳۵۷**	۰/۵۶***	۱			
وزن خشک ریشه	۰/۳۵۵***	۰/۳۴۴**	۰/۱۱۵	۰/۲۵۸*	۰/۴۰۰**	۰/۷۸*	۰/۳۸۶**	۰/۳۲۱*	۱		
وزن خشک اندام هوایی	۰/۴۴۱***	۰/۵۹۳**	۰/۰۱۶	۰/۶۴۱**	۰/۵۶۵**	۰/۷۷۶**	۰/۷۷۶**	۰/۲۵۲**	۰/۲۷۲**	۱	
وزن خشک ریشه / اندام هوایی	۰/۰۱۹۲	۰/۳۲۵**	۰/۰۴۳	۰/۴۰۷**	۰/۲۷۴*	۰/۱۰۴	۰/۴۵۴**	۰/۰۶۳**	۰/۳۹۷**	۰/۶۵۲**	۱

***: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱

*: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

جدول ۵- QTLهای شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در ۷۲ لاین و ۲ والد جو در شرایط شاهد
Table 5. Identified QTLs for studied traits in 72 barley lines with two parents in normal conditions

صفت	شرایط شاهد	نام کروموزوم	نزدیک‌ترین نشانگر	موقعیت QTL	حدود اعتماد ۹۵٪ QTL	LOD	اثر آلی (افزایشی)	R ²	R ² کل
طول ریشه									
طول ساقه									
طول ریشه / ساقه									
طول برگ									
طول کل گیاه									
وزن تر ریشه									
وزن تر اندام هوایی									
وزن تر ریشه / اندام هوایی									
وزن خشک ریشه									
وزن خشک اندام هوایی									
وزن خشک ریشه / اندام هوایی									

مورگان قرار داشتند و ۳۷/۵۴ درصد از واریانس فنوتیپی کل را توجیه کردند. این QTLها نزدیک نشانگرهای ABG453 و MWG514B قرار داشت، و دارای اثرات افزایشی مثبت ۰/۳۷ و ۰/۵۴ بود. برای صفت نسبت طول ریشه به ساقه سه QTL یافت شد که به ترتیب در جایگاه ۱۲۴/۲، ۷۴/۶ و ۶ سانتی مورگان و بر روی کروموزوم‌های 5H، 6H و 7H شناسایی گردید و مجموعاً ۴۹/۴۲ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه نمود و دارای اثرات افزایشی منفی و پائین بود. برای طول برگ دو QTL در جایگاه ۳۲/۷ و ۱۸/۲ سانتی مورگان بر روی کروموزوم 3H و 4H شناسایی گردید که در مجموع ۲۴/۴۱ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه نمود و به

در جدول ۶، QTLهای صفات مربوط به ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف شده جو در شرایط تنش بور نشان داده شده است. برای ۱۱ صفت مورد مطالعه در مجموع ۱۲ QTL شناسایی شد. واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTLها در دامنه ۱۰/۰۰ تا ۲۷/۵۶ درصد متغیر بود، که بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی متعلق به صفت نسبت طول ریشه به ساقه بود. LOD در دامنه ۲/۵۰-۴/۲۷ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD نیز مربوط به QTLهای صفات نسبت طول ریشه به ساقه و طول برگ بود. دو QTL برای صفت طول ساقه شناسایی شدند، که روی کروموزوم 3H و 5H در جایگاه ۱۱۰/۴ و ۱۲۵/۲ سانتی

اختصاصی هستند و در صورت عدم تکرار در محیط شناسایی نخواهند شد. گرچه جامعه گیاهی، نرم افزار، تابع نقشه کشی، اندازه جامعه و تعداد و نوع نشانگرهای مورد استفاده نیز عواملی هستند که ممکن است، سبب تغییر در نتایج به دست آمده شوند. اثر متقابل QTL و محیط در مطالعات زیادی مشاهده شده است (۲۴، ۵۱۳).

در مجموع برای صفات مورد بررسی در این تحقیق، ۲۹ QTL (۱۷ عدد برای شرایط شاهد و ۱۲ عدد برای شرایط تنش بور) بدست آمد که واریانس فنوتیپی توجیه شده به وسیله این QTL ها از ۲۷/۵۶-۱۰ متغیر بود. بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی برای صفت نسبت طول ریشه به ساقه در شرایط تنش بدست آمد. LOD در دامنه ۴/۳۲-۲/۵۰ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD به ترتیب مربوط به QTL های صفات نسبت طول ریشه به ساقه و طول برگ بود. در هر یک از محیط ها تعدادی از QTL های کنترل کننده صفات مختلف هم مکان بودند، این هم مکانی که باعث همبستگی بالای صفات می شود ممکن است در اثر پلیوتروپی، لینکاژ یا تحت تأثیر ژن های خوشه ای باشد. برای تشخیص ماهیت نواحی کنترل کننده بیشتر از یک صفت، نقشه با چگالی بسیار بالا برای نقشه یابی مورد نیاز می باشد.

پایداری QTL ها در محیط ها و زمینه های ژنتیکی مختلف، مهم ترین بخش گزینش به کمک نشانگر است. QTL هایی که حدود اعتماد آنها در محیط های متفاوت همپوشانی دارند یکسان یا پایدار بوده و QTL هایی که فقط در یک محیط ظاهر می یابند، ناپایدار می باشند (۱۱). در مجموع QTL های یافت شده در این تحقیق فقط یک جایگاه واجد QTL در یک مکان قرار داشتند و پایدار بودند (طول برگ در موقعیت ۳۲/۷ سانتی مورگان روی کروموزوم 3H) و سایر QTL ها از پایداری لازم برخوردار نبودند به عبارت دیگر برای یک صفت در دو شرایط مورد بررسی، QTL های متنوعی بدست آمد یا اینکه محل قرارگیری آنها کمی تفاوت داشت و یا اینکه اثرات آلی آنها متفاوت بود. از آنجا که تظاهر ژن ها بستگی به محیط خاص دارد، صفات کمی در محیط های متفاوت پایدار نیستند (۱۵). با توجه به این مسائل، برای اهداف اصلاحی پایداری QTL ها در محیط ها و زمینه های ژنتیکی مختلف، مهم ترین بخش گزینش به کمک نشانگر است. برای ارزیابی پایداری اثرات QTL، جامعه نقشه کشی باید در سال ها، شرایط محیطی و زمینه های ژنتیکی متفاوت، مورد مطالعه قرار گیرد. QTL های پایدار، موجب پایداری نسبی کنترل ژنتیکی می شوند و بر اثر متقابل Q×E فائق می آیند. عوامل محیطی از جمله تنش ها اندازه های کمی صفات را تحت تأثیر قرار می دهند. به عبارت دیگر میزان تنوع ممکن است در درجات متفاوت تنش ها متنوع باشد و موجب ناپایداری QTL ها گردند. علاوه بر این مقادیر متفاوت خطا در آزمایشات متفاوت نیز ممکن است موجب ناپایداری QTL گردد. لذا برای اینکه بتوان از QTL ها در جهت بهبود ارقام زراعی استفاده نمود، نیاز به مطالعات زیادی در سال ها، مکان ها، زمینه های ژنتیکی متفاوت و همچنین جمعیت های مختلف می باشد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات در شرایط شاهد و تنش بور نشان داد که برای تمامی صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ اختلاف معنی داری وجود داشت، که این نتایج حاکی از وجود اختلاف و تنوع کافی در بین لاین های مورد مطالعه می باشد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، از بین ۷۲ لاین مورد بررسی در شرایط شاهد، ۷ لاین (۴، ۵، ۳۰، ۳۳، ۴۹، ۶۷ و ۷۲) و در شرایط تنش بور، ۱۱ لاین (۱۳، ۲۳، ۲۶، ۳۴، ۴۵، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۶۲ و ۶۵) برای صفات مختلف در کلاس A قرار گرفتند. نتایج نشان داد که لاین ها از نظر اکثر صفات مورد بررسی در شرایط شاهد و برای تمامی صفات مورد مطالعه در شرایط تنش بور برتر از والدین بودند. نتایج ضرایب همبستگی ساده بین صفات در شرایط شاهد و تنش بور نشان داد، بین اکثر صفات همبستگی مثبت و معنی داری وجود دارد و هم در شرایط شاهد و تنش بور بیشترین مقدار همبستگی مثبت بین صفت طول ریشه به طول کل گیاه به ترتیب (۰/۹۲۵) و (۰/۹۳۴) مشاهده شد. به منظور برنامه ریزی برای انتخاب بهتر در برنامه های اصلاحی، همبستگی های بین صفات از اهمیت زیادی برخوردار است. در این تحقیق در شرایط شاهد، QTL های نسبت طول ریشه به ساقه و وزن خشک ریشه بر روی یک کروموزوم (2H) و QTL های طول برگ، وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی نیز بر روی یک کروموزوم (3H) و همچنین QTL های وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی نیز بر روی یک کروموزوم (7H) واقع شده بودند. در شرایط تنش بور نیز QTL های طول ساقه، طول برگ و نسبت وزن تر ریشه به اندام هوایی بر روی یک کروموزوم (3H) واقع شده بودند، که ارتباط این صفات با یکدیگر را نشان می دهد. در نتایج همبستگی هم ارتباط بالای این صفات قبلاً دیده شد. هم مکانی و یا نزدیکی دو QTL بر روی یک کروموزوم می تواند مؤید همبستگی فنوتیپی معنی دار بین دو صفت باشد. همچنین روی هم افتادن QTL های صفات مختلف در یک منطقه کروموزومی می تواند وجود پدیده پلیوتروپی و یا لینکاژ شدید بین تمام این QTL ها و یا تعدادی از آنها را در این منطقه کروموزومی آشکار کند، که البته به علت همبستگی ذاتی برخی صفات احتمال حضور پلیوتروپی بیش از لینکاژ است (۱۴).

در مقایسه وقوع یک QTL در دو محیط باید دقت شود که ممکن است، محل قرارگیری یک QTL در فاصله بین دو نشانگر خاص تعیین شود، در حالی که محل قرارگیری واقعی آن تا چندین سانتی مورگان از آن فاصله داشته باشد (۹). جوامع اصلاحی وقتی در محیط های متنوع آزمایش می شوند، معمولاً اثر متقابل ژنوتیپ × محیط (G×E) نشان می دهند. در این حالت حداقل پاره ای از ژن ها QTL هایی را بروز می دهند که اثر متقابل QTL×E نشان می دهند، این نوع اثر متقابل به صورت تغییر در تعداد QTL ها در محیط های متفاوت یا تغییر اندازه اثر آنها در محیط های متفاوت بروز می یابد (۸)، لذا در تجزیه QTL تکرار آزمایش در چند محیط می تواند از اهمیت خاصی برخوردار باشد. چرا که، بعضی از QTL ها محیط

شناسایی شده که فقط نوع و اثر یک عدد آن در دو شرایط مورد بررسی پایدار بود. بنابراین از آن می‌توان در گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود.

این تحقیق اولین گزارش تجزیه QTL مرتبط با صفات مورفولوژیک جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی استیتوته و مورکس در شرایط کشت هیدروپونیک و تحت تنش بور بود. در این مطالعه در مجموع ۲۹ عدد QTL

منابع

1. Amin Far, Z. 2008. Mapping QTL for salinity tolerance in. M.Sc. Thesis at University of Zabol. 125 pp.
2. Baum, M., S. Grando, G. Bakes, A. Jahoor and S. Ceccarelli. 2003. QTLs for agronomic traits in the Mediterranean environments identified in recombinant inbred lines of the cross Arta \times H. spontaneum 41-1. Theoretical and Applied Genetics, 107: 1215-1225.
3. Brown, H.P. and H. Hu. 1998. Boron mobility and consequent management in different crops. Better Crops, 2: 28-31.
4. Chatzissavvidis, C., I. Therios, C. Antonopoulou and K. Dimassi. 2008. Effect of high boron concentration and scion rootstock combination on growth and nutritional status of olive plants. Journal of Plant Nutrition, 31: 638-658.
5. Cogan, N.O.I., K.F. Smith, T. Yamada, M.G. Francki, A.C. VecchiesJones, E.S. Spangenberg and J.W. Forster. 2005. QTL analysis and comparative genomics of herbage quality traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Theoretical and Applied Genetics, 110: 364-380.
6. Eleuch, L., A. Jilal, S. Grando, S. Ceccarelli, MvK. Schmising, H. Tsujimoto, A. Hajer, A. Daaloul and M. Baum. 2008. Genetic diversity and association analysis for salinity tolerance, heading date and plant height of barley germplasm using simple sequence repeat markers. Journal of Integr Plant Biol, 50: 1004-1014.
7. Golshani, F. 2014. Mapping genomic regions of physiological and morphological traits of barely under nickel stress conditions in hydroponic culture. M.Sc. Thesis at University of Zabol, 130 pp.
8. Hayes, P.M., T. Blake, T.H.H. Chen, S. Tra Goonrung and F. Chen. 1993. Quantitative trait location barley chromosome 7 associate with components of winter hardiness. Genome, 36: 66-71.
9. Kearsey, M.J. and A.G.L. Farquhar. 1998. QTL analysis in plants: where are we now? Heredity, 80:137-142.
10. Kleinhofs, A., A. Kilian, M.A. Saghai Maroof, R.M. Biyashev, P. Hayes, F.Q. Chen, N. Lspitan, A. Fenwick, T. K. Blake, V. Kanazin, E. Ananiev, L. Dahleen, D. Kurdna, J. Bollinger, S.J. Knapp, B. Liu, M. Sorrells, M. Heun, J.D. Franckowiak, D. Hoffman, R. Skadsen and B.J. Steffenson. 1993. A molecular, isozymes, and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. Theoretical and Applied Genetic, 86: 705-712.
11. Lang, N.T.S., B.C. Yanagihara and G. Buu. 2008. A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages Genetics, 33: 1-10.
12. Lander, E.S. and D. Botstein. 1989. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. Genetics, 121: 185-199.
13. Lu, C., L. Shen, Z. Tan, Y. Xu, P. He, Y. Chen and L. Zhu. 1996. Comparative mapping of QTL for agronomic traits in rice across environments using a doubled haploid population. Theor Appl Genet, 93: 1211-1217.
14. Mansur, L.M., K.G. Lark, H. Kross and A. Oliveira. 1993. Interval mapping of quantitative trait loci for reproductive, morphological and seed traits of soybean (*Glycine max* L.). Theor Appl Genet, 86: 907-913.
15. Mather, K. 1941. Variation and selection of polygenic characters. Journal of Genet, 41: 159-193.
16. Mohammadi, M. and M. Baom. 2008. QTLs analysis for morphologic traits in double haploid population of barley. Journal of crop production and processing, 12(45): 111-120.
17. Nable, R.O., G.S. Banuelos and J.G. Paull. 1997. Boron toxicity. Plant and Soil, 193: 181-198.
18. Naemi, T., L. Fahmideh and B.A. Fakheri. 2018. The Impact of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activities, Containing of Proline and Carbohydrate in Some Genotypes of Durum Wheat(*Triticum turgidu* L.) at Seedling Stage. . Journal of Crop Breeding, 10(26): 22-31.
19. Paterson, A.H. 1998. QTL mapping in DNA marker-assisted plant and animal improvement. In: Patterson, A. H. (ed.). Molecular Dissection of Complex Traits. CRC Press LLC, New York, 131-143.
20. Seraji, M. 2013. Mapping genomic regions of morphological and physiological traits of wheat under salinity stress conditions in hydroponic environment. M.Sc. Thesis at University of Zabol, 123 pp.
21. Sims, J.T. and O.V. Johnson. 1991. Micronutrient soil tests, In Mortvedt et al.(ed.) Micronutrientsin agriculture., Soil Sciences Soc. Am. Madison, WI, 345-383.
22. Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology, Sinauer Associates, Inc., Publisher, Sanderland, 256 pp.
23. Xue, D., M. Chen, M. Zhou, S. Chen, Y. Mao and G. Zhang. 2008. QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content, 9(12): 938-943.
24. Yadav, G.R.S. and A.K. Jaiswal. 2003. Morpho-physiological changes and variable yield of wheat genotypes under moisture stress condition. Indian Journal Plant physiol, 6: 390-399.
25. Zare Kohan, M., N. Babaeian Jelodar, R. Aghnoum, S.A. Tabatabaee and S.K. Kazemi Tabar. 2018. Association Mapping of Some Phenological Traits in Barley under Salt Stress. Journal of Crop Breeding, 10(26): 10-21.

QTLs Analysis for Morphologic Traits of Barley under Boron Stress Condition

Hasan Moslemi¹, Mahmoud Solouki² and Barat Ali Fakheri³

1 and 3- Graduated M.Sc. Student and Professor of Department of Plant Breeding and Biotechnology,
Zabol University

2- Associate Professor, of Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Iran
(Corresponding author: mahmood.solouki@gmail.com)

Received: November 9, 2015

Accepted: April 9, 2016

Abstract

In present study, 72 barley double haploid lines with two parents were studied. The experiment was arranged in a completely randomized block design with two replicates under normal and boron stress in hydroponic condition in 2013. The traits Fresh and dry weight of root and shoot, length of root and shoot, length of the largest leaf and the height of whole plant were measured. Statistical analysis was done for phenotypic surveys such as analysis of variance, mean comparison and correlation between traits. These results showed meaningful difference among the lines in most traits. Maximum correlation was seen between length of root and the height of whole plant (0/934,0/925). QTL analysis was carried out using genetic linkage map derived 327 AFLP molecular marker and using QTL cartographer software with composite interval mapping method. In general, 29 QTL were found for the studied traits (17 QTL for normal condition and 12 QTL for born stress condition, respectively), in which, explained that the phenotypic variance has been vitiated for 10 to 27.56 percent. The highest and the lowest phenotypic variances were belonging to root and shoot length ratio in born stress condition, The LOD ranged between 2/50-4/32. The highest and lowest LOD were attained for the QTL_s of root and shoot length ratio and leaf length, respectively. In percent study, only one QTL was placed at similar place and was stable (leaf length, 3H). Therefore, it can be used for marker assisted selection.

Keywords: Boron Stress, Barley, Correlation, Hydroponic Condition, QTL height of whole plant