

شناسایی QTL‌های مرتبط با تحمل شوری در مراحل اولیه جوانه‌زنی جو

معروف خلیلی^{۱*}، رحیم محمدیان^۲

۱. استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام نور، تهران
۲. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۳/۲۲)

Identifying QTLs associated with salinity tolerance in early stages of barley germination

Marouf Khalili^{1*}, Rahim Mohammadian²

1. Assistant Professor, Department of Crop Science and Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran.
2. M.Sc. Student, Department of Crop Science and Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran.

(Received: Jan. 2, 2016 - Accepted: Jun. 11, 2016)

Abstract

Salinity is one of the main osmotic stresses that limit plants growth and development through changes in osmotic and ionic balances. In order to mapping of genomic regions of controlling quantitative trait locus (QTLs), related to salinity tolerance in grain barley and assessment of associated indices, an experiment was conducted during 2015 using 72 double haploid lines of barley along with their parents (Stepto and Morex) in randomized complete block design (RCBD) with two replications, at three conditions including normal and two salinity levels of NaCl (100 and 200 mM NaCl). Investigated traits in this study were coefficient of velocity of germination, final germination percentage, mean germination time, germination rate index and average germination speed. QTL analysis using composite interval mapping (CIM) was performed based on mean of three environments. Overall, for different traits 47 QTL with $LOD \geq 2.5$ was identified and 7 additive-by-additive significant epistatic effects were observed. Total phenotypic variance explained by the QTLs varied from 29.97 to 77.15 percent, which the lowest related to germination rate index under stress conditions of 200 mM and the highest related to coefficient of velocity of germination in normal conditions. The highest LOD (8.27) was obtained for coefficient of velocity of germination on chromosome of 4Hb under 100 mM stress conditions. Stable QTLs in three environments as well as linked markers could be used in the marker assisted selection (MAS) to improve germination characteristics under salinity conditions at different trials replicated over years.

Keywords: Barley, Germination, Identification of QTL, Salinity stress.

چکیده

شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های اسمزی است که رشد و تولید گیاهان را از طریق تغییر در تعادل یونی و اسمزی محدود می‌کند. به منظور مکان‌یابی نواحی ژنومی کنترل کننده صفات کمی (QTLs) مرتبط با تحمل به شوری در دانه جو و ارزیابی شاخص‌های مربوطه، آزمایشی در سال ۱۳۹۴ با استفاده از ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف به همراه والدین آنها (استپتو و مورکس) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با دو تکرار در سه شرایط شامل وضعیت نرمال و دو سطح شوری (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl) اجرا گردید. صفات مورد بررسی در این تحقیق عبارت بودند از ضریب سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی نهایی، میانگین زمان جوانه‌زنی، شاخص میزان جوانه‌زنی و میانگین سرعت جوانه‌زنی. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) بر اساس میانگین در هر سه محیط انجام گرفت. در مجموع ۴۷ عدد QTL با $LOD \geq 2.5$ برای صفات مختلف شناسایی و ۷ اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار به دست آمد. واریانس فنوتیپی کل توجیه شده بوسیله این QTL‌ها از ۲۹/۹۷ تا ۷۷/۱۵ درصد متغیر بود که کمترین آن برای صفت شاخص میزان جوانه‌زنی در شرایط تنش ۲۰۰ میلی مولار و بیشترین آن مربوط به صفت ضریب سرعت جوانه‌زنی در شرایط نرمال بود. بیشترین $LOD = 8.27$ برای شاخص ضریب سرعت جوانه‌زنی روی کروموزوم 4Hb در شرایط تنش ۱۰۰ میلی مولار به دست آمد. از QTL‌های پایدار در هر سه محیط و نشانگرهای جفت شده با آنها در روش گزینش به کمک نشانگر (MAS) می‌توان برای بهبود صفات جوانه‌زنی در شرایط شوری پس از آزمایش و تکرار در چند سال استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، جو، جوانه‌زنی، شناسایی QTL.

مقدمه

به دلیل کشاورزی فشرده و صنعتی و مدیریت نامناسب، متأسفانه شور شدن اراضی کشاورزی در حال گسترش است. بخش بزرگی از مناطق تحت کشت به دلیل افزایش آبیاری، مشکل شوری آن‌ها افزایش پیدا کرده است (Zhu, 2001). تقریباً ۷٪ از خشکی‌های جهان و ۲۰٪ از مناطق زیر کشت جهان و حدود نیمی از زمین‌های آبیاری شده تحت تأثیر تنش شوری قرار دارند (Sudhir and Murthy, 2004). در ایران نیز طبق گزارش Kafi (2008)، ۵۰٪ اراضی کشاورزی فاریاب تحت تأثیر انواع آثار شوری قرار دارند. وسعت اراضی شور ایران بر اساس آمار منابع مختلف بین ۲۳-۲۴ میلیون هکتار برآورد شده است. به طوری که آمار FAO در سال ۲۰۱۰ حاکی از این است که ۲۵/۵ میلیون هکتار از اراضی ایران شور و ۸/۵ میلیون هکتار بسیار شور هستند (Farhodi, 2013). گیاه جو (*Hordeum vulgare*) از نظر میزان تولید پنجمین غله در دنیا است و از نظر اهمیت، پس از گندم، ذرت و برنج چهارمین غله مهم دنیا به‌شمار می‌رود، اما از نظر کشت و کار در شرایط متنوع آب و هوایی، مقام اول را دارا است (FAO, 2013). همچنین جو یکی از غلات اساسی در تهیه غذای انسان و دام به حساب می‌آید. جو از غلات سردسیری و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان است و به علت تحمل در مقابل ناسازگاری‌های محیطی و نیز به سبب نیاز کم به رطوبت، تحمل به شوری و تطابق با مناطق آب و هوایی مختلف، دوره رشد سریع و فصل رشد کوتاه می‌تواند گیاه مناسبی جهت تولید در شرایط نامساعدتر نسبت به سایر غلات باشد (Matus and Hayes, 2002). همچنین این گیاه یک مدل مهم برای مطالعات ژنتیکی و فیزیولوژی است، چون: ۱- دیپلوئید با تعداد کروموزوم‌های کم ($2n=2x=14$) و نسبتاً بزرگ (۸-۶ میکرومتر) است. ۲- دوره زندگی نسبتاً کوتاهی دارد. ۳- نقشه‌های ژنتیکی کاملاً تشریح شده آن بر اساس

مارکرهای مولکولی، پروتئینی، سیتولوژیکی و مورفولوژیکی وجود دارد. پتانسیل جوانه‌زنی یک صفت کمی بوده و احتمالاً کنترل پلی ژنیک داشته باشد که توسط عوامل خارجی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Zhang et al., 2005). جوانه‌زنی یکی از بحرانی‌ترین مراحل رشد گیاه در شرایط تنش شوری می‌باشد. بررسی و بازیابی مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه برای مشخص کردن تحمل گیاهان به شوری مؤثر و کاربردی‌تر بوده و مرحله مناسبی برای شناسایی گیاهان متحمل به شوری است (Greenway and Munns, 1980; Blum, 1988). بررسی اثر تنش شوری بر سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در بسیاری از گیاهان زراعی نشان داده است که تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی یک آزمون قابل اطمینان در ارزیابی تحمل به شوری، بسیاری از گونه‌ها است (Munns, 2002).

تجزیه QTL پلی است که رابطه بین تنوع پیوسته فنوتیپی (قابل اندازه‌گیری) و مکانیزم‌های توارثی حاصل از تنوع ژنتیکی مکان‌های ژنی منفرد را برقرار می‌سازد (Collard et al., 2005). شناسایی QTL، امکان گزینش به کمک نشانگر (MAS) را فراهم می‌سازد (Koroff et al., 2008; Emebiri et al., 2009). در واقع QTL به قسمتی از ژنوم گفته می‌شود که روی صفت کمی تأثیر می‌گذارد و معمولاً شامل تعداد زیادی ژن یا مکان‌های ژنی می‌باشند که همه یا بعضی یا گاهی حتی یکی از آن‌ها به صفت کمی مربوط می‌شوند. این مکان همراه یک فنوتیپ ویژه است و مکانش معمولاً با استفاده از مارکرهای مولکولی دربرگیرنده آن تعیین می‌شود. بیشتر QTLها اثرات کوچکی دارند و فقط تعدادی از آن‌ها اثرات قوی نشان می‌دهند، بنابراین شناسایی QTLهای با اثر بزرگ بر روی فنوتیپ امکان‌پذیر می‌شود (Brem and Kruglyak, 2005). با مطالعه تفرق همزمان صفت کمی و نشانگرهای مولکولی، تعداد QTLها، مکان

آن‌ها روی ژنوم، نوع عمل آن‌ها و میزان اثر فنوتیپی هر یک برآورد می‌شود و سپس، نتایج حاصل در برنامه‌های اصلاحی مانند انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از چالش‌های اصلاح نباتات نبود اطلاعات کافی در مورد ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی است. مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی یکی از روش‌هایی است که اخیراً برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. با شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات کمی و تعیین سهم هر یک از این نواحی در ایجاد تنوع مشاهده شده صفت در جمعیت، کارایی برنامه‌های به‌نژادی افزایش یافته و با اطمینان بیشتری می‌توان به اصلاح جمعیت پرداخت (Collard and Mackill, 2008). با وجود اینکه در دهه‌های گذشته QTL های مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در جو در مراحل مختلف رشد انجام گرفته است، ولی تعداد اندکی مطالعه فقط روی صفات مربوط به کمیت و کیفیت جوانه‌زنی در جو انجام گرفته است.

بررسی‌های انجام شده در ارتباط با شناسایی QTL های مرتبط با جوانه‌زنی گندم در شرایط معمولی و تنش خشکی نشان‌دهنده تظاهر مثبت QTL های شاخص میزان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مربوط به کمیت و کیفیت جوانه‌زنی در هر دو شرایط می‌باشد (Khalili and Mohammadi, 2015). این محققان در کل یازده QTL را برای صفات مورد مطالعه شناسایی کردند که واریانس فنوتیپی کل تبیین‌شده به وسیله این QTL ها از ۱۱/۸۲ تا ۲۱/۴۲ درصد متغیر بود (بیشترین مقدار LOD برای QTL کنترل‌کننده سرعت جوانه‌زنی $6/65 = LOD$ روی کروموزوم 4B (Sg-Normal) به دست آمد. همچنین محققان مذکور در شرایط تنش خشکی مجموعاً چهار QTL را با اثرات مختلف روی کروموزوم 4B مکان‌یابی کردند. آنها بیان کردند که برای ضریب سرعت جوانه‌زنی QTL اصلی

(Qcvg4B-Stress) با $LOD=3/11$ بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل این صفت داشت که در مجموع ۱۱/۸۲ درصد از تغییرات کل را توجیه می‌کرد و برای صفت سرعت جوانه‌زنی یک QTL، مکان‌یابی روی کروموزوم 4B مکان‌یابی کردند. آنها در مورد صفت شاخص میزان جوانه‌زنی که توسط دو QTL بزرگ اثر، (Qgri4B-Stress) با $LOD=5/61$ نزدیک نشانگر Wms121- Sukkula.1300 کنترل می‌شود اظهار کردند که بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل (R^2 فنوتیپی) دارد. تجزیه و تحلیل مکان‌یابی داخلی نواحی کنترل‌کننده ژنومی برای تحمل به شوری جو توسط Mano and Takeda (1997) نشان داد که QTL هایی برای تحمل به شوری در مرحله‌ی جوانه‌زنی در جمعیت‌های استپتو و مورکس بر روی کروموزوم‌های 4H، 5H و 6H و در جمعیت‌های هارینگتون و TR306 بر روی کروموزوم‌های 1H و 5H وجود دارند. محققان مذکور در تجزیه‌ی 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 TR306 بر روی کروموزوم‌های 5H، 6H و 7H مکان‌یابی کردند. بررسی‌های انجام شده توسط Dadshani و همکاران (2004) در رابطه با تجزیه QTL های مرتبط با شوری در مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در جمعیت OWB نشان داد که در غلظت‌های پایین نمک تقریباً تمام لاین‌ها جوانه‌دار شدند و با افزایش غلظت NaCl نسبت جوانه‌زنی کاهش پیدا کرد. همچنین آنها سه ناحیه از کروموزوم را در جمعیت OWB پیدا کردند (دو تا بر روی کروموزوم 5H و یکی بر روی کروموزوم 7H) که با علامت ارزیابی شوری همبستگی داشت. Dadshani و همکاران (۲۰۰۴) در تحقیق خود، QTL هایی در ناحیه‌ی سانترومر کروموزوم 5H بین نشانگرهای BmAc0047 و ABC302 با $LOD=9/66$ که

بررسی‌های انجام شده در ارتباط با شناسایی QTL های مرتبط با جوانه‌زنی گندم در شرایط معمولی و تنش خشکی نشان‌دهنده تظاهر مثبت QTL های شاخص میزان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مربوط به کمیت و کیفیت جوانه‌زنی در هر دو شرایط می‌باشد (Khalili and Mohammadi, 2015). این محققان در کل یازده QTL را برای صفات مورد مطالعه شناسایی کردند که واریانس فنوتیپی کل تبیین‌شده به وسیله این QTL ها از ۱۱/۸۲ تا ۲۱/۴۲ درصد متغیر بود (بیشترین مقدار LOD برای QTL کنترل‌کننده سرعت جوانه‌زنی $6/65 = LOD$ روی کروموزوم 4B (Sg-Normal) به دست آمد. همچنین محققان مذکور در شرایط تنش خشکی مجموعاً چهار QTL را با اثرات مختلف روی کروموزوم 4B مکان‌یابی کردند. آنها بیان کردند که برای ضریب سرعت جوانه‌زنی QTL اصلی

۴۱٪ از واریانس کل را توجیه می‌کرد، پیدا کردند. کروموزم 5H مکان‌یابی شده توسط مانو و تاکدا با مطالعات دانشانی و همکاران مرتبط بود. مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با شوری در دو شرایط تنش شوری (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl) و بدون تنش در بین لاین‌های دابل هاپلوئید برای شاخص‌های جوانه‌زنی، برآورد میزان تأثیر هر یک از این QTL‌ها، تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTL‌ها و پیشنهاد آنها برای گزینش به‌کمک نشانگر از اهداف این تحقیق می‌باشند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از بذور ۷۲ لاین جو هاپلوئید مضاعف (*Hordeum vulgare* L., $2n=2x=14$) که از تلاقی رقم Steptoe با رقم Morex به‌وسیله برنامه اصلاح جو دانشگاه ایالت اورگون (OSUBBP) توسط Hayes و همکاران (1993) برای پروژه تعیین نقشه ژنوم جو آمریکای شمالی (NABGMP) به‌دست آمده به‌همراه والدین استفاده شد. بذور لاین‌های هاپلوئید مضاعف مورد استفاده به‌همراه والدین آنها از دانشگاه تهران دریافت گردید. این پژوهش در سال ۱۳۹۴ به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در آزمایشگاه دانشگاه مهاباد انجام گردید. برای ایجاد تنش شوری از نمک کلرید سدیم با سطوح شوری به‌شرح زیر استفاده گردید: ۱- S_0 بدون شوری (تیمار شاهد)، ۲- S_1 با شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl که EC آن به ۱۳/۵ دسی‌زیمنس بر متر رسانده شد. ۳- S_2 با شوری ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl که EC آن به ۲۷ دسی‌زیمنس بر متر رسانده شد. به‌منظور نقشه‌یابی QTL‌های مرتبط با شوری در مراحل اولیه جوانه‌زنی دانه جو تحت شرایط تنش شوری در آزمایشگاه

(داخل دستگاه ژرمیناتور: مدل X680)، ابتدا بذور ۷۲ ژنوتیپ جو هاپلوئید مضاعف همراه با والدین (Morex و Steptoe) با دقت ضدعفونی شدند، برای این منظور، ابتدا بذرها به‌مدت ۱۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد، قرار گرفتند و پس از آن چندین بار با آب مقطر استریل شست‌وشوی داده شدند. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی ابتدا بذور سالم از هر لاین به‌طور تصادفی جدا و ضدعفونی شدند. آن‌گاه بذور به پتری‌دیش‌های از قبل استریل شده‌ای (در آن با دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ساعت) که در کف آنها یک عدد کاغذ صافی واتمن قرار گرفته بود، منتقل گردیدند. تعداد بذر در هر پتری‌دیش ۲۵ عدد در نظر گرفته شد. سپس به هر پتری‌دیش ۴ میلی لیتر آب مقطر با محلول‌های کلور سدیم (سنجیده شده با EC متر از نوع جن‌وی مدل ۴۵۱۰) مشخص افزوده شد. پتری‌دیش‌ها در طول اجرای آزمایش در داخل ژرمیناتور و در دمای ۲۱-۱۹ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰ درصد و تاریکی مطلق نگهداری شدند. هر روز بذور را از نظر جوانه‌زنی، سایر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات مربوطه مورد بررسی قرار دادیم و بعد از هفت روز درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و... اندازه‌گیری شدند. شمارش بذور جوانه‌زده از روزهای دوم تا هفتم صورت گرفت. براساس داده‌های به‌دست آمده از این شمارش‌ها، ضریب سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی نهایی، شاخص میزان جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی و میانگین جوانه‌زنی روزانه محاسبه شد. در این تحقیق بذری جوانه‌زده محسوب گردید که طول ریشه‌چه آن به اندازه قطر بذر (تقریباً ۲ میلی‌متر) ظاهر شده بود.

صفات مورد اندازه‌گیری مرتبط با شاخص‌های جوانه‌زنی در این تحقیق عبارتند از: ضریب

در جمعیت حاصل از تلاقی استپتو و مورکس شناسایی شده است. تجزیه QTL با نرم افزار تجزیه WinQTL cartographer نسخه ۱۱-۲/۵ (Wang *et al.*, 2007)، برای تعیین نواحی کروموزومی ژن های کنترل کننده مقاومت به شوری انجام گرفت. تجزیه QTL به روش نقشه یابی فاصله ای مرکب (CIM) برای داده های شرایط نرمال و تنش شوری بطور مجزا و با استفاده از میانگین داده ها انجام گردید. برای تعیین QTL ها و برآورد اثر افزایشی آنها، از مدل ۶ برنامه Zmapqtl و روش نقشه یابی فاصله مرکب استفاده گردید (Doerage and Churchill, 1996). سپس با فرض اینکه مکان ژنی موجود روی کروموزوم بر صفت مورد نظر اثر گذار است (H_1)، در برابر فرض صفر (H_0) اینکه مکان ژنی بر صفت مؤثر نیست آزمون شد. در نهایت، برای شناسایی تأثیرات متقابل بین مکان ژنی یا ایستازی، آزمون تأثیرات اصلی QTL های شناسایی شده و معنی دار بودن یا نبودن تأثیرات آنها، آزمون معنی دار بودن اثر ایستازی در تجزیه همزمان QTL ها در یک مدل رگرسیون چندگانه، از روش مکان یابی فاصله ای چندگانه (MIM) در برنامه QTL Cartographer استفاده شد. دیگر محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS9.2 انجام گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب صفات (جدول ۱) مورد مطالعه پس از بررسی و تأیید برقراری مفروضات، نشان داد که ژنوتیپ های مورد بررسی از نظر کلیه صفات شامل ضریب سرعت جوانه زنی، شاخص میزان جوانه زنی، درصد جوانه زنی نهایی، میانگین زمان جوانه زنی و میانگین سرعت جوانه زنی اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد دارند. تأثیر سطوح مختلف شوری نیز بر صفات یاد شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار گردید و همچنین بین ژنوتیپ ها از نظر کلیه صفات اختلاف معنی دار وجود

سرعت جوانه زنی، شاخص میزان جوانه زنی، درصد جوانه زنی نهایی، میانگین زمان جوانه زنی و میانگین سرعت جوانه زنی که بر اساس روش های Almudaris (1998) و De and Kar (1994) اندازه گیری شدند و محاسبه آنها از روابط ذیل برآورد گردید.

$$CVG = 100 \times \frac{\sum N_i}{\sum N_i T_i}$$

ضریب سرعت جوانه زنی:

شاخص میزان جوانه زنی:

$$RGI = \frac{G_1}{1} + \frac{G_2}{2} + \dots + \frac{G_i}{i}$$

درصد جوانه زنی نهایی:

$$FGP = \frac{N_g}{N_t} \times 100$$

میانگین جوانه زنی روزانه:

$$MDG = \sum \left(\frac{N_i}{\sum N} \right)$$

میانگین سرعت جوانه زنی:

$$MSG = \sum_i^n T = \frac{N}{T}$$

T_i و N_i به ترتیب تعداد بذرهاى جوانه زده در هر روز و تعداد روز از شروع آزمایش. G_i : درصد جوانه زنی در روز i ام. N_t و N_g : به ترتیب تعداد کل بذرهاى جوانه زده و تعداد کل بذرهاى مورد ارزیابی.

نقشه ژنتیکی جو جامعه حاصل از تلاقی استپتو × مورکس توسط پروژه نقشه یابی ژنوم جو آمریکای شمالی تهیه گردیده است (Hayes *et al.*, 1993). این نقشه نسبتاً اشباع، مرکب از ۳۲۷ نشانگر RFLP با طول ۱۲۲۶/۳ و متوسط فاصله ۳/۷۵ سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بوده و با تابع مکان یابی کوزامبی تهیه شده است. این نقشه از سایت <http://barleygenomics.Wsu.edu/> باز یابی و برای مکان یابی صفات مربوطه استفاده قرار گرفت. در این نقشه هفت گروه لینکاژی برای تجزیه QTL

داشت و از طرف دیگر اثر متقابل شوری \times ژنوتیپ در ارتباط با کلیه صفات معنی‌دار به‌دست آمد. این نتیجه، نشان‌دهنده تنوع فنوتیپی بالا در داخل جمعیت می‌باشد. به‌طور کلی نتایج تجزیه واریانس مرکب نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات وجود دارد که این اختلاف آماری معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالا بین مواد گیاهی مورد ارزیابی و احتمالاً مکانیسم‌های متفاوت بین آنها در واکنش به تنش شوری است که می‌توانند در انتخاب ژنوتیپ مناسب و تولید جمعیت‌های در حال تفرق جهت مکان‌یابی ژنی مورد استفاده قرار گیرند. معنی‌دار شدن اثرات متقابل شوری \times ژنوتیپ در

شرایط تنش نشان‌دهنده واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری می‌باشد. کمترین ضریب تغییرات مربوط به ضریب سرعت جوانه‌زنی (۴/۵۷) و بیشترین ضریب تغییرات مربوط به شاخص میزان جوانه‌زنی (۸/۹۹) بود. بنابراین صفت ضریب سرعت جوانه‌زنی کمتر در معرض سطوح شوری قرار می‌گیرد. Chalish and Houshmand (2011)، اثر ژنوتیپ را در تجزیه آزمایش گلدانی و مزرعه‌ای برای ۱۰۴ لاین خالص گندم و والدین آنها برای تمام صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک معنی‌دار اعلام کردند. Zaare and Jafary (2013) اثرات متقابل ژنوتیپ در شوری در شرایط تنش را برای اکثر صفات معنی‌دار گزارش کردند.

جدول ۱. تجزیه واریانس مرکب صفات مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و بدون تنش

| S.O.V | منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | | CVG ¹ | FGP ² | RGI ³ | MDG ⁴ | MSG ⁵ |
| Replication | تکرار | 1 | 0.0001 | 21.8 | 2.0 | 0.44 | 0.001 |
| levels Salinity | سطح شوری | 2 | 0.57** | 29353.6** | 12300.1** | 599.05** | 43.15** |
| Ea | خطای اول | 2 | 0.0009** | 45.0** | 17.3** | 0.91** | 0.05** |
| Genotype | ژنوتیپ | 73 | 0.005** | 741.1** | 183.4** | 15.12** | 0.38** |
| Genotype \times Salinity levels | سطح شوری \times ژنوتیپ | 160 | 0.002** | 124.2** | 27.8** | 2.53** | 0.20** |
| Eb | خطای دوم | 219 | 0.0002 | 33.1 | 6.5 | 0.67 | 0.01 |
| CV% | ضریب تغییرات | - | 4.57 | 8.19 | 8.99 | 8.19 | 4.93 |

ns عدم معنی‌داری، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

۱- CVG: ضریب سرعت جوانه‌زنی ۲- FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی ۳- RGI: شاخص میزان جوانه‌زنی ۴- MDG: میانگین زمان جوانه‌زنی روزانه ۵- MSG: میانگین سرعت جوانه‌زنی.

هاپلوئیدهای مضاعف ممکن حاصل از تلاقی استپتو \times مورکس بوده و شاخص‌های مورد بررسی عمدتاً با اثرات جمع‌پذیر ژنها کنترل می‌شوند. برای تمامی شاخص‌های مورد بررسی بهترین لاین هاپلوئید مضاعف در مقایسه با بهترین والد، مقادیر بیشتری را نشان داد، که این مقادیر برای کلیه شاخص‌ها به جز میانگین سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردیدند. لذا برای این

پارامترهای آماری و ژنتیکی بین ۷۲ لاین دابل هاپلوئید مورد مطالعه به‌همراه دو والد (\times Steptoe Morex) در میانگین سه محیط در جدول ۲ درج شده است. اختلاف بین والدین برای صفات شاخص میزان جوانه‌زنی و میانگین زمان جوانه‌زنی روزانه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد و برای بقیه صفات غیرمعنی‌دار به‌دست آمد. در نتیجه، هاپلوئیدهای مضاعف مورد مطالعه نماینده کل

کیفیت جوانه‌زنی در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی والدین $\text{Steptoe} \times \text{Morex}$ بر اساس شرایط نرمال و تنش شوری در دو سطح (۱۰۰ میلی‌مولار و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl)، شامل موقعیت، نشانگرهای مجاور، LOD، اثر افزایشی، اثر اپیستازی $A \times A$ و درصد‌های تبیین واریانس فنوتیپی در جدول ۳ و شکل ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده‌اند. برای ۵ صفت مورد مطالعه در مجموع ۴۷ عدد QTL برای سه شرایط محیطی (برای هر صفت ۲ تا ۴ QTL) و ۷ اثر اپیستازی افزایشی \times افزایشی معنی‌دار به‌دست آمد. از این ۴۷ عدد QTL شناسایی شده، ۱۵ عدد QTL در شرایط نرمال (برای هر صفت ۲ تا ۴ QTL) و دو اثر اپیستازی افزایشی \times افزایشی معنی‌دار، ۱۷ عدد QTL در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl (برای هر صفت ۳ تا ۴ QTL) و سه اثر افزایشی \times افزایشی معنی‌دار، ۱۵ عدد QTL در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl (برای هر صفت ۲ تا ۴ QTL) به‌دست آمدند. که از میان آنها ۶ عدد QTL در هر سه شرایط محیطی، پایدار و از تظاهر خوبی برخوردار بودند. واریانس فنوتیپی کل توجیه شده به‌وسیله این QTL ها از ۲۹/۹۷ تا ۷۷/۱۵ درصد متغیر بود که کمترین آن برای صفت شاخص میزان جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl و بیشترین آن مربوط به صفت ضریب تغییرات جوانه‌زنی در شرایط نرمال بود. LOD در دامنه ۸/۲۷-۲/۸ قرار داشت. بیشترین و کمترین LOD به‌ترتیب برای QTL های ضریب تغییرات جوانه‌زنی (QCVG4Hb) در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl و شاخص میزان جوانه‌زنی (QGR1H) در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl به‌دست آمد.

شرایط نرمال

در شرایط نرمال ۱۵ عدد QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H، 4Ha، 4Hb، 4Hc

شاخص‌ها تفکیک متجاوز از والدین در جهت مثبت وجود داشت. به‌عبارتی بین نتاج حاصل از تلاقی استپتو \times مورکس برای شاخص‌های مورد بررسی تنوع با طیف گسترده‌ای وجود دارد. وجود تفکیک متجاوز و پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت نشان‌دهنده ترکیب آل‌های والدینی مناسب در نتاج است. این نتایج با تحقیقات Han و همکاران (۱۹۹۹) دربارهٔ همین والدین مطابقت دارد. معنی‌دار بودن پیشرفت ژنتیکی در جهت مثبت و منفی، نشان می‌دهد که آل‌های کاهنده و افزایشنده، در بین والدین وجود دارد. در گزارش‌های متعدد تأکید شده است که بدون پیشرفت ژنتیکی، مقادیر وراثت‌پذیری اهمیت کاربردی در گزینش بر اساس فنوتیپ نخواهد داشت (Ehdaie & Waines, 1989). از اینرو در برنامه‌های اصلاحی برای گزینش توأم، پیشرفت ژنتیکی باید همراه با وراثت‌پذیری در نظر گرفته شود. در این تحقیق، مقادیر وراثت‌پذیری خصوصی با پیشرفت ژنتیکی زیاد برای برخی از صفات مانند درصد جوانه زنی نهایی و شاخص میزان جوانه‌زنی (جدول ۲) نشان داد که در مورد این صفت، ماهیت افزایشی واریانس ژنتیکی از والدین به نتاج انتقال می‌یابد. همچنین، این صفات به‌راحتی می‌توانند از طریق گزینش در نسل‌های اولیه در ژنوتیپ‌ها تثبیت شوند. ضرایب تنوع فنوتیپی کلیه صفات مورد بررسی بیشتر از ضرایب تنوع ژنتیکی بودند. با توجه به بالا بودن ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای صفت سرعت جوانه‌زنی، می‌توان گفت این صفت نقش تعیین‌کننده‌ای در تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی دارد. در شدت انتخاب ۵ درصد، میزان بازده ژنتیکی مورد انتظار که به‌صورت درصدی از میانگین بیان شده است از ۰/۲۹ برای صفت سرعت جوانه‌زنی تا ۱۷/۲۳ برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی متغیر بود.

تجزیه QTL در شرایط مختلف محیطی

نتایج تجزیه QTL برای صفات مربوط به کمیت و

عوامل اصلی در تعیین کمیت و کیفیت جوانه‌زنی، در شرایط نرمال توسط سه QTL بر روی کروموزوم‌های 2H، 3H و 4H مکان‌یابی گردید که در مجموع ۵۴/۰۲ درصد از تنوع کل را برای این صفت توجیه کردند، که نشان‌دهنده توارث آلل افزایشده سرعت جوانه‌زنی از والد استپتو به نتاج می‌باشد. برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی دو QTL بر روی کروموزوم‌های 5H و 7H مکان‌یابی شدند، که در مجموع ۳۶/۲۸ درصد از تنوع کل را با اثرات آلی افزایشی مثبت برای هر دو QTL شناسایی شده توجیه کردند.

5H و 7H مکان‌یابی شدند. چهار QTL بر روی کروموزوم‌های 2H، 4Ha، 4Hb و 4Hc برای توجیه ضریب تغییرات جوانه‌زنی مکان‌یابی گردید. اثر متقابل افزایشی-افزایشی QTL‌ها بین کروموزوم‌های 2H×4Ha معنی‌دار شد. مجموع چهار QTL و اثر اپیستازی ۷۷/۱۵ درصد از واریانس فنوتیپی کل را برای این صفت توجیه کردند که با مطالعات Khalili و همکاران (2014) روی همین جمعیت برای صفات مربوط به مالت برای توجیه تغییرات پروتئین همخوانی دارد. سرعت جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از

جدول ۲. پارمترهای آماری و تنوع صفات مورد مطالعه بین ۷۲ لاین دابل هاپلوئید به‌همراه دو والد (Steptoe×Morex) در میانگین سه محیط

| Parameter | پارامتر | CVG | FGP | MSG | RGI | MDG |
|-----------------|----------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Morex (P1) | والد مورکس | 0.38 | 70 | 2.73 | 29.19 | 10 |
| Steptoe (P2) | والد استپتو | 0.38 | 64 | 2.62 | 26.92 | 9.14 |
| (P1-P2) | اختلاف والدین | 0 ^{ns} | 6 ^{ns} | 0.11 ^{ns} | 2.27** | 0.86** |
| Xp=(P1+P2)/2 | میانگین والدین | 0.38 | 67 | 2.68 | 28.06 | 9.57 |
| B.DH | بهترین لاین | 0.43 | 95.67 | 3.44 | 39.30 | 13.67 |
| W.DH | بدترین لاین | 0.31 | 51.33 | 2.35 | 18.06 | 7.33 |
| .DH | میانگین لاین‌ها | 0.37 | 69.84 | 2.84 | 28.12 | 9.98 |
| R | دامنه تغییرات | 0.12 | 44.34 | 1.09 | 21.24 | 6.34 |
| X.DH-XP | اختلاف میانگین لاین‌ها از والدین | 0.02* | -2.84 ^{ns} | -0.16 ^{ns} | -0.07 ^{ns} | -0.41** |
| GGp=B.DH-Bp | تفکیک متجاوز مثبت | 0.04** | 25.67** | 0.71 ^{ns} | 10.11** | 3.67** |
| GGn=W.DH-Wp | تفکیک متجاوز منفی | -0.08** | -12.67* | -0.27 ^{ns} | -8.86** | -1.81 ^{ns} |
| GCV(%) | ضریب تنوع ژنوتیپی | 10.55 | 25.01 | 31.05 | 25.01 | 10.64 |
| PCV(%) | ضریب تنوع فنوتیپی | 11.23 | 26.31 | 32.32 | 26.30 | 11.21 |
| h _{N2} | وراثت پذیری خصوصی | 0.44 | 0.45 | 0.46 | 0.45 | 0.45 |
| GC5% | بازده ژنتیکی ۵٪ | 0.04 | 17.23 | 0.29 | 8.73 | 2.46 |
| LSD5% | حداقل اختلاف معنی‌دار ۵٪ | 0.02 | 9.44 | 4.18 | 1.34 | 0.16 |
| LSD1% | حداقل اختلاف معنی‌دار ۱٪ | 0.03 | 13.46 | 5.97 | 1.92 | 0.23 |

ns: عدم معنی‌داری، * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱ و ۵٪ آماری.

P1: parent 1, P2: parent 2, (P1- P2): Difference between parents, XP: Mean parents, B.DH: Best double haploids, W.D.H: Worst of double haploids, X.D.H: Mean of double haploids, V.R: Range of variation, S.D: Standard deviation, X.DH-XP: Mean of double haploids minus mean of parents, TS: Transgressive segregations'. GCV(%): Genetic coefficient of variations, PCV (%): Phenotypic coffenetic of variations, h_{N2}: narrow sense heritability. (GC5% genetic gain respectively. LSD: least significant difference.

3H و 5H مکان‌یابی گردید. QTL بزرگ اثر LOD=۵/۴۸ در شرایط نرمال با بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل داشت.

شاخص میزان جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از عوامل اصلی در تعیین کمیت و کیفیت جوانه‌زنی، در شرایط نرمال توسط سه QTL بر روی کروموزوم‌های 1H،

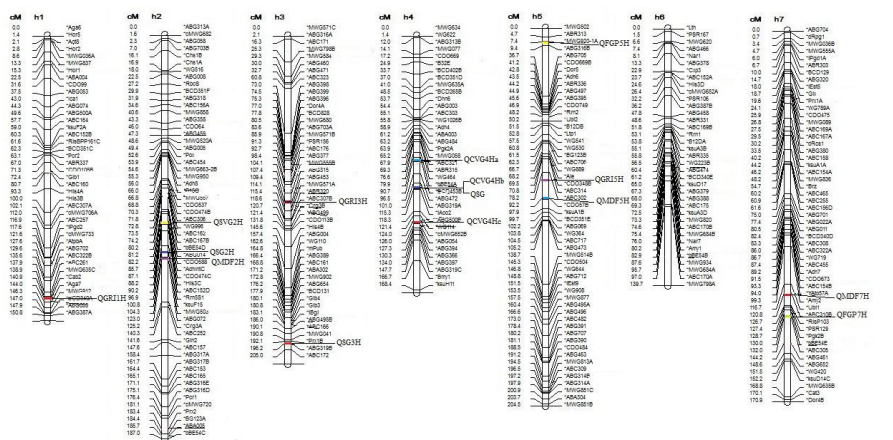
جدول ۳. QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی دو والد

(STEPTOE × MOREX) بر اساس میانگین شرایط نرمال و شوری

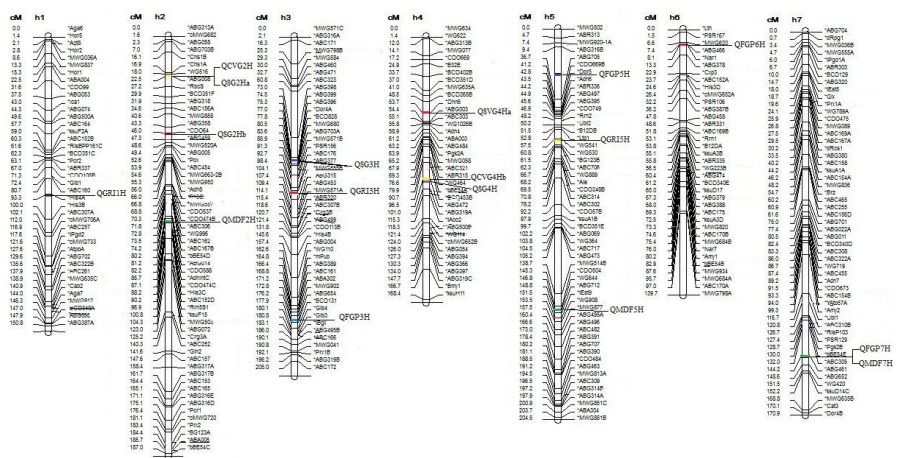
| Salinity Level | Trait | QTL name | Chr. name | Markers interval | Position (cM)* | LOD | Additive** | R ² b | Total R ² | Epistatic Effect A*A |
|----------------|-------|----------|-------------------|-------------------|----------------|------|------------|------------------|----------------------|--|
| 0 | CVG | QCVG2H | 2H | CDO588-AdhIntc | 82.2 | 3.14 | -0.033 | 13.45 | 77.15 | 2H*4Ha, AA=0.21, LOD=2.08, R ² b=10.2 |
| | | QVCG4Ha | 4Ha | BCD453B-ABG472 | 92.7 | 3.55 | -0.22 | 15.19 | | |
| | | QCVG4Hb | 4Hb | ABG319A-iAco2 | 105 | 5.58 | -0.39 | 24.53 | | |
| | | QCVG4Hc | 4Hc | cMWG652B-ABG054 | 124 | 3.31 | -0.26 | 13.87 | | |
| | SG | QSG2H | 2H | Rm5s1-KSUF15 | 96.90 | 3.37 | 0.24 | 14.29 | 54.02 | |
| | | QSG3H | 3H | ABG319B-ABC172 | 198.2 | 5.48 | -0.34 | 22.75 | | |
| | | QSG4H | 4H | ABG319A-iAco2 | 107 | 3.82 | 0.33 | 16.98 | | |
| | MDF | QMDF2H | 2H | KSUF15-MWG503 | 100.8 | 4.09 | 0.97 | 16.75 | 67.92 | 2H*7H, AA=-0.75, LOD=1.54, R ² =7.2 |
| | | QMDF5H | 5H | CD057B-KSUA1B | 92.2 | 5.38 | 1.53 | 21.85 | | |
| | | QMDF7H | 7H | ABC310B-RiSP103 | 120.8 | 5.52 | -2.29 | 22.12 | | |
| | GRI | QGR11H | 1H | cab2-Aga7 | 140.9 | 4.66 | -0.74 | 16.48 | 48.83 | |
| | | QGR13H | 3H | ABG315-ABG453 | 107.4 | 5.48 | -0.79 | 19.83 | | |
| | | QGR15H | 5H | ABC302-CDO57B | 84.2 | 3.62 | -0.62 | 12.52 | | |
| | FGP | QFGP5H | 5H | MWG920-1A-ABG316B | 7.4 | 5.16 | 0.98 | 21.27 | 36.28 | |
| | | QFGP7H | 7H | ABC305-ABG461 | 132 | 3.73 | 1.73 | 15.01 | | |
| 100 | CVG | QCVG2H | 2H | ABG008-Rbcs | 24 | 4.81 | 0.35 | 17.8 | 65.14 | 2H*4Hb, AA=.11, LOD=1.12, R ² =4.11 |
| | | QVCG4Ha | 4Ha | Dhnb-ABG003 | 52.7 | 3.54 | 0.24 | 11.12 | | |
| | | QCVG4Hb | 4Hb | ABG319A-ABG472 | 93.7 | 8.27 | -0.49 | 32.11 | | |
| | | QCVG4Hc | 4Hc | ABG319A-ABG472 | 93.7 | 8.27 | -0.49 | 32.11 | | |
| | SG | QSG2Ha | 2H | ABG008-Rbcs | 21.5 | 5.54 | -0.42 | 22.34 | 75.58 | |
| | | QSG2Hb | 2H | CDO64-ABG459 | 44 | 4.77 | 0.27 | 18.17 | | |
| | | QSG3H | 3H | MWG680-ABG703A | 80.5 | 4.21 | 0.24 | 17.53 | | |
| | MDF | QMDF2H | 2H | ABG319A-ABG472 | 95.5 | 4.11 | 0.24 | 17.45 | 61.01 | 2H*5H, AA=1.19, LOD=2.31, R ² =14.3 |
| | | QMDF5H | 5H | WG644-ABG712 | 145.8 | 3.14 | 0.72 | 12.19 | | |
| | | QMDF7H | 7H | ABC310B-RiSP103 | 124.2 | 4.35 | -2.25 | 20.71 | | |
| | GRI | QGR11H | 1H | Cab2-Aga7 | 142.5 | 3.17 | 0.58 | 11.87 | 51.41 | 1H*3H, AA=0.36, LOD=1.16, R ² =6.81 |
| | | QGR13H | 3H | ABG377-MWG555B | 102.25 | 4.73 | -0.45 | 17.89 | | |
| | | QGR15H | 5H | WG541-WG530 | 74.5 | 3.65 | -0.68 | 14.84 | | |
| | FGP | QFGP3H | 3H | MWG902-ABG654 | 173 | 3.64 | -0.75 | 14.31 | 63.22 | |
| | | QFGP5H | 5H | MWG920-1A-ABG316B | 15.5 | 3.12 | 0.71 | 11.13 | | |
| QFGP6H | | 6H | NAr1-ABG376 | 8.6 | 3.39 | 0.81 | 14.13 | | | |
| QFGP7H | | 7H | ABG461-ABG562 | 142.2 | 7.81 | 1.95 | 23.65 | | | |
| 200 | CVG | QCVG2H | 2H | BCD351F-ABG318 | 29.6 | 5.62 | 0.54 | 20.77 | 77.07 | 4Hb*7H, AA=0.17, LOD=1.18, R ² =4.2 |
| | | QVCG4Ha | 4H | Dhnb-ABG003 | 51.5 | 3.23 | 0.32 | 12.55 | | |
| | | QCVG4Hb | 4H | BCD453B-ABG472 | 93.4 | 6.12 | -0.48 | 24.97 | | |
| | | QCVG4Hc | 4H | BCD453B-ABG472 | 93.4 | 6.12 | -0.48 | 24.97 | | |
| | SG | QSG2H | 2H | ABC156D-ABG701 | 61.5 | 3.53 | 0.33 | 14.58 | 23.61 | 2H*4H, AA=-0.21, LOD=1.43, R ² =6.3 |
| | | QSG3H | 3H | ABG008-Rbcs | 22.5 | 5.96 | -0.54 | 23.61 | | |
| | | QSG4H | 4H | PSR156-ABC176 | 91.3 | 3.18 | 0.13 | 12.21 | | |
| | MDF | QMDF3H | 3H | ABG319A-ABG472 | 95.5 | 5.91 | 0.39 | 21.39 | 16.12 | |
| | | QMDF5H | 5H | PSR156-MWG571B | 82.6 | 3.88 | -1.37 | 16.12 | | |
| | | QMDF7H | 7H | ABC302-CDO578 | 87.5 | 5.71 | 1.81 | 19.82 | | |
| | GRI | QGR11H | 1H | ABC310B-RiSP103 | 122.5 | 3.54 | -1.43 | 14.78 | 29.97 | |
| | | QGR13H | 3H | Cab2-Aga7 | 141.1 | 2.76 | -0.54 | 12.81 | | |
| | | QGR15H | 5H | MWG555B-ABG315 | 101.4 | 4.57 | 1.67 | 17.16 | | |
| | FGP | QFGP1H | 1H | ABA004-CDO99 | 22.5 | 4.93 | -1.22 | 20.9 | 49.73 | |
| | | QFGP2H | 2H | ABGO08-RbcS | 21.5 | 3.72 | -0.31 | 11.96 | | |
| QFGP5H | | 5H | MWG920-1A-ABG316B | 14.5 | 4.36 | 0.54 | 16.87 | | | |

* Canti Mrgan

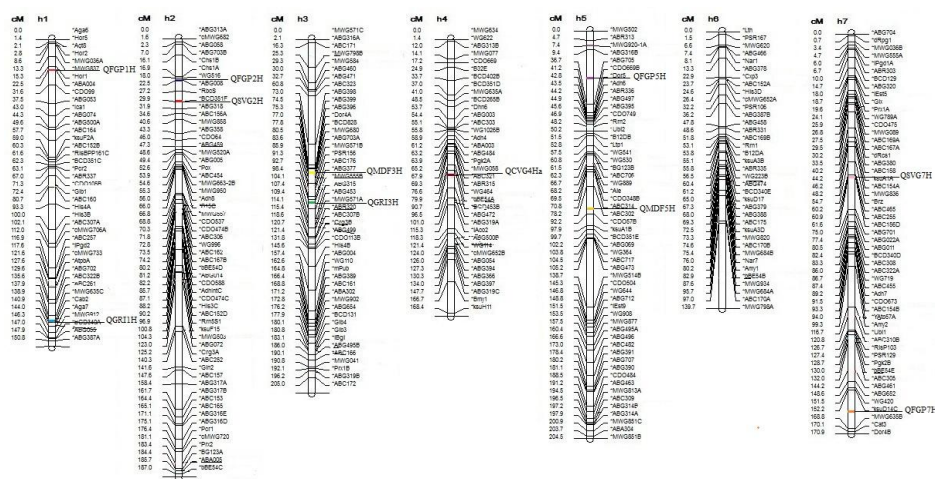
**Additive effect of QTLs



شکل ۱. نقشه پیوستگی و QTL های مکان‌یابی شده صفات تحت مطالعه در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی (Steptoe × Morex) در شرایط نرمال



شکل ۲. نقشه پیوستگی و QTL های مکان‌یابی شده صفات تحت مطالعه در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی (Steptoe × Morex) در شرایط ۱۰۰ میلی مولار



شکل ۳. نقشه پیوستگی و QTL های مکان‌یابی شده صفات تحت مطالعه در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی (Steptoe × Morex) در شرایط ۲۰۰ میلی مولار

شرایط تنش ۱۰۰ میلی مولار

در شرایط تنش ۱۰۰ میلی مولار، ۱۷ عدد QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H، 4Ha، 4Hb، 5H، 6H و 7H مکان‌یابی شدند. در شرایط تنش ۱۰۰ میلی مولار NaCl، سه QTL روی کروموزوم‌های 2H، 4Ha و 4Hb برای توجیه ضریب تغییرات جوانه‌زنی مکان‌یابی گردید که اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی QTL ها بین کروموزوم‌های 2H × 4Hb معنی‌دار شد. این QTL ها و اثر اپیستازی در مجموع ۶۵/۱۴ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند که QCVG4Hb دارای بیشترین مقدار LOD (۸/۲۷) با اثر آلی افزایشی ۰/۴۹- بود. سرعت جوانه‌زنی به‌عنوان یکی از عوامل اصلی در تعیین کمیت و کیفیت جوانه‌زنی، توسط چهار QTL، مکان‌یابی گردیدند، این چهار QTL در مجموع ۷۵/۵۸ درصد از تنوع کل را برای صفت سرعت جوانه‌زنی توجیه کردند. در بین QTL های شناسایی شده QSG2Ha دارای اثر افزایشی منفی (۰/۴۲-) با بیشترین سهم واریانس فنوتیپی بود. برای میانگین جوانه‌زنی روزانه به‌عنوان یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار در کمیت و کیفیت جوانه‌زنی سه QTL، روی کروموزوم‌های 2H، 5H و 7H مکان‌یابی شدند. همچنین یک اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار QTL ها بین کروموزوم‌های 2H × 5H مکان‌یابی شد که دارای $R^2 = ۱۴/۳$ بود. شاخص میزان جوانه‌زنی، توسط سه QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 3H و 5H در مجاورت نشانگرهای cab2، ABG377 و WG541 قرار داشتند که در مجموع ۵۱/۴۱ درصد از تنوع کل واریانس فنوتیپی را توجیه کردند. یک اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی معنی‌دار بین کروموزوم‌های 1H × 3H با $R^2 = ۶/۸۱$ مکان‌یابی گردید. در شرایط تنش ۱۰۰ میلی مولار NaCl، برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی چهار QTL، بر روی کروموزوم‌های 3H، 5H، 6H و 7H مکان‌یابی شدند. این چهار QTL با اثرات آلی افزایشی منفی برای QFGP3H و مثبت برای سه

QTL دیگر، در مجموع ۶۳/۲۲ درصد از تنوع کل واریانس فنوتیپی را برای این صفت توجیه کردند.

شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار

در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار ۱۵ عدد QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H، 4H، 5H و 7H مکان‌یابی شدند. برای صفت ضریب سرعت جوانه‌زنی چهار QTL شناسایی شد که بر روی کروموزوم‌های 2H، 4H، 4H و 7H قرار داشتند. QTL، QCVG4Hb با اثر آلی افزایشی ۰/۴۸- دارای سهم بیشتری نسبت به سه QTL دیگر (اثر آلی مثبت) در توجیه واریانس فنوتیپی این صفت بود. اثر اپیستازی افزایشی × افزایشی QTL ها بین کروموزوم‌های 4Hb × 7H برای این صفت معنی‌دار شد. سه QTL بر روی کروموزوم‌های 2H، 3H و 4H برای توجیه سرعت جوانه‌زنی مکان‌یابی شدند. مجموع سه QTL مکان‌یابی شده و اثر اپیستازی 2H × 4H، ۶۳/۵۱ درصد از تنوع فنوتیپی کل را توجیه کردند. شاخص میزان جوانه‌زنی توسط دو QTL روی کروموزوم‌های 1H و 3H در موقعیت‌های ۱۴۱/۱ و ۱۰۱/۴ سانتی‌مورگان به‌ترتیب با اثرات آلی افزایشی ۰/۵۴- و ۱/۶۷ در مجاورت نشانگرهای Cab2 و MWG555B مکان‌یابی شدند که در مجموع ۲۹/۹۷ درصد از تنوع کل را برای این صفت توجیه کردند. Ullrich *et al* (2009) QTL های خواب بذر و جوانه‌زنی را هم‌مکان و در روی کروموزوم 1H گزارش کردند. برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار NaCl، سه QTL بر روی کروموزوم‌های 1H، 2H و 5H به‌ترتیب در جایگاه‌های ۲۲/۵، ۲۱/۵ و ۵۵ سانتی‌مورگان مکان‌یابی گردیدند. این سه QTL در مجموع ۴۹/۷۳ درصد از تنوع کل واریانس فنوتیپی را برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی توجیه کردند. برای صفت ضریب تغییرات جوانه‌زنی QTL، QCVG4Ha، در هر سه محیط از تظاهر و پایداری خوبی برخوردار بود.

نتیجه احتمالاً مؤید نمک دوست بودن این QTL در حد متوسط می‌باشد. در حالیکه مانو و تاکدا در تحقیق خود QTL‌هایی را با بیشترین اثر در تنش شوری بر روی کروموزوم 2H گزارش کردند. برای میانگین جوانه‌زنی روزانه یک QTL پایدار و بزرگ اثر، QMDF7H شناسایی شد که هر از پایداری و بیان ژن خوبی برخوردار بود که QMDF5H در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌مولار با $LOD=5/71$ و اثر آلی مثبت نقش اساسی را در تظاهر این صفت داشت. Dadshani و همکاران (2004) در پژوهش خود بر روی جمعیت OWB، سه ناحیه از کروموزوم (دو تا بر روی کروموزوم 5H و یکی بر روی کروموزوم 7H) را پیدا کردند که با ارزیابی شاخص‌های مربوط به شوری همبستگی داشت. همچنین این محققان گزارش کردند که با احتمال اینکه QTL‌های مرتبط به مقاومت به شوری بر روی ناحیه سانترومر کروموزوم 5H وجود داشته باشد با افزایش غلظت NaCl مرتبط است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. Khalili و همکاران (2014) برای صفت انرژی جوانه‌زنی سه QTL را بر روی کروموزوم‌های 2H، 5H و 7H مکان‌یابی کردند که این سه QTL به اضافه اثر متقابل افزایشی \times افزایشی QTL‌ها بین کروموزوم‌های $2H \times 7H$ مقدار زیادی از واریانس فنوتیپی را توجیه کردند. گزارشات این محققان برای اثر متقابل افزایشی \times افزایشی QTL‌ها بین کروموزوم‌های $2H \times 7H$ با نتایج این تحقیق در شرایط نرمال همخوانی داشت. QTL‌های شاخص میزان جوانه‌زنی (QGRI3H و QGRI1H)، در هر سه محیط در مجاورت نشانگرهای Cab2 و ABG315 مکان‌یابی شدند. این دو QTL در شرایط مختلف محیطی ارتباط نزدیکی با هم دارند و می‌توان این صفت را در کمیت و کیفیت جوانه‌زنی تأثیر گذار به‌شمار آورد. Khalili و همکاران (۲۰۱۴) QTL‌های خواب بذر، چاقی بذر و پوسته بذر را بر روی کروموزوم 1H در موقعیت ۱۴۰ و ۱۴۰/۹

در همین راستا Zaare and Jafary (2013) در تحقیق خود در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl برای کروموزوم‌های 2H و 4H یک QTL به‌ترتیب برای طول ریشه‌چه و ساقه‌چه مکان‌یابی کردند. اما QTL (QCVG4Hc) فقط در شرایط نرمال یافت شد که نشان‌دهنده حساس بودن این QTL به شوری می‌باشد. همچنین QTL QCVG7H در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl، خود را بروز داد که این نشان از همبسته بودن این صفت با افزایش غلظت نمک می‌باشد. Fakhari & Mehravaran (2013) برای کروموزوم 7H مربوط به صفت تعداد پنجه در بوته در شرایط تنش خشکی یک QTL را در مجاورت نشانگر ABC154A گزارش کردند.

بر اساس نتایج حاصل یک QTL پایدار برای سرعت جوانه‌زنی (QSG4H) در هر سه محیط آزمایشی بیان گردید که نشان‌دهنده پایداری این QTL می‌باشد. همچنین Jafary و همکاران (2013) در تحقیق خود دو QTL بزرگ اثر بر روی کروموزوم‌های 3H و 4H در رابطه با فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری مکان‌یابی کردند. QSG4H در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl با $LOD=5/91$ با اثر آلی مثبت نقش اساسی را در تظاهر این صفت داشت. Zaare & Jafary (2013) در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در جمعیت $L \times V$ برای طول ریشه‌چه بر روی کروموزوم 4H QTL بزرگ اثر گزارش کردند. در دو شرایط تنش شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl، QTL بزرگ اثر و پایدار QSG4H مجاور نشانگر ABG319A روی کروموزوم 4H مکان‌یابی شد. QTL QSG2H در شرایط نرمال و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl تظاهر پیدا کرد که نشان‌دهنده غیر حساس بودن این QTL به شرایط مختلف محیطی می‌باشد. QTL‌های QSG2Ha و QSG2Hb فقط در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl بیان شدند که این

انرژی جوانه‌زنی دارند که با تحقیق حاضر همخوانی داشت. Orf و همکاران (1999) QTL‌های خوشه‌ای با تأثیرات شدید بر گلدهی، رسیدگی، ارتفاع بوته و ورس را گزارش کرده‌اند. Ullrich و همکاران (2009) در اغلب موارد QTL‌های خواب بذر و جوانه‌زنی را هم‌مکان و در روی کروموزوم 1H گزارش کردند. آنها QTL‌های کنترل‌کننده خواب بذر را در روی کروموزوم‌های 1H، 2H و 7H و جوانه‌زنی را روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 3H و 7H شناسایی کردند.

از صفات بسیار مهم مانند سرعت جوانه‌زنی، شاخص میزان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی نهایی که تأثیر اساسی در کیفیت و کمیت جوانه‌زنی دارند و همچنین اندازه‌گیری آنها از نظر زمان و هزینه نسبت به صفات پیچیده و هزینه‌بر در سطح میکرو و پوره کردن در سطح میکرو ساده و اقتصادی است، می‌توان برای ارزیابی و گزینش ارقام مناسب و مخصوص جوانه‌زنی جو استفاده کرد. علاوه بر این از QTL‌های پایدار و خوشه‌ای شناسایی شده برای صفات مهم کمی و کیفی مربوط به جوانه‌زنی در دانه جو می‌توان در برنامه گزینش به کمک نشانگر (MAS) استفاده کرد، مشروط به اینکه نشانگرهای پیوسته از نوع نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز باشند. همچنین می‌توان از برخی نشانگرهای شناسایی شده به‌عنوان نشانگر مثبت در گزینش برای افزایش جوانه‌زنی نهایی کمک گرفت.

پژوهش حاضر نشان داد که بین لاین‌های هاپلوئید مضاعف تحت مطالعه و والدین آنها تنوع بسیار مطلوبی از نظر صفات کمیت و کیفیت جوانه‌زنی دانه جو وجود دارد، که از این تنوع می‌توان برای اهداف مختلف به‌نژادی استفاده کرد. 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

ساتی‌مورگان و هر سه در مجاورت نشانگر Cab2 و دارای اثر افزایشی منفی را برای همین جمعیت گزارش کردند و تأکید کردند که این سه صفت ارتباط بسیار نزدیکی با هم دارند و صفات تأثیرگذار بر کیفیت و کمیت مالت هستند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. برای صفت شاخص جوانه‌زنی QTL‌های، QGRI1H، QGRI3H و QGRI5H در شرایط نرمال و تنش ۱۰۰ میلی مولار NaCl با قرارگیری در جایگاه‌های تقریباً یکسان مکان‌یابی شدند که نشان‌دهنده تأثیر پذیرفتن جزئی از محیط است. ولی هیچ QTLی روی کروموزوم 5H در شرایط ۲۰۰ میلی مولار یافت نشد که می‌تواند نشان‌دهنده حساس بودن کروموزوم 5H برای صفت شاخص میزان جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری بالا باشد. در حالی که Mano and Takeda (1997) برای والدین استپتو و مورکس بر روی کروموزوم 5H در مجاور نشانگرهای ABC324-ABC302، یک QTL را برای سرعت جوانه‌زنی گزارش کردند.

QTL، QGRI3H در شرایط نرمال با LOD=۵/۴۸ دارای بیشترین اثر برای صفت شاخص میزان جوانه‌زنی بود. برای صفت درصد جوانه‌زنی نهایی یک QTL پایدار (QFGP5H) در هر سه شرایط محیطی شناسایی شد. مانو و تاکدا QTL‌هایی در پاسخ به تنش اسید آسبیزیک مربوط به جوانه‌زنی در پژوهش خود بر روی کروموزوم 5H پیدا کردند. این QTL در مجاورت نشانگر MWG920 مکان‌یابی گردید. QTL (QFGP7H) در محیط نرمال و تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار NaCl تظاهر پیدا کرد اما دو QTL، QFGP1H و QFGP2H تنها در شرایط ۲۰۰ میلی مولار مکان‌یابی شدند که نشان‌دهنده نمک دوست بودن این دو QTL می‌باشد. Khalili و همکاران (2014) گزارش کردند که دو QTL بزرگ اثر، QGE5H و QGE7H به‌ترتیب در مجاورت نشانگرهای CDO57B و ABC310B بیشترین سهم را در توجیه تغییرات کل

محیط‌های متفاوت ناشی از کنترل صفات به‌وسیله تعداد اندکی لوسای بزرگ اثر است. بنابراین بازده گزینش به‌کمک نشانگر در این جامعه از کارایی لازم برخوردار می‌باشد. برای تعیین اینکه ماهیت نواحی کنترل کننده بیشتر از یک شاخص، ناشی از پلیوتروپی، لینکاژ ژنی یا ژن‌های خوشه‌ای است نقشه با چگالی بسیار بالا برای نقشه‌یابی مورد نیاز می‌باشد.

نامطلوب، از مزایای گزینش به‌کمک نشانگرهاست. در این مطالعه از QTL‌های مکان‌یابی شده، ۶ QTL در شرایط متفاوت پایدار بودند، لذا از آنها می‌توان بعد از تایید در بررسی‌های بیشتر، در گزینش به‌کمک نشانگر استفاده نمود. QTL‌های پایدار، موجب پایداری نسبی کنترل ژنتیکی می‌شوند و بر اثر متقابل ژنوتیپ و محیط فائق می‌آیند. پایداری QTL‌ها در

REFERENCES

- Almudaris MA (1998) Notes on various parameters recording the speed of seed germination. *DerTropenlandwirt*. 99: 147-154.
- Bernestin L (1974) Crop growth and salinity. p.39 - 54.
- Blum A (1988) Plant breeding for stress environments. CRC Press. 163-181.
- Brem RB, Kruglyak L (2005) The landscape of genetic complexity across 5,700 gene expression traits in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102: 1572-1577.
- Chalish L, Houshmand S (2011) Estimate of Heritability and Relationship of Some Durum Wheat Characters Using Recombinant Inbred lines. *EJCP*. 4(2): 223-238.
- Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*. 142: 169-196.
- Collard BCY, Mackill DJ (2008) Marker assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Biological Sciences*. 363: 557-572.
- Dadshani SAW, Weidner A, Buck-Sorlin GH, Börner A, Asch F (2004) QTL Analysis for Salt Tolerance in Barley. University of Bonn, Institute of Plant Nutrition, Germany, Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany, Brandenburgisch-technische Universität (BTU).
- De F, Kar RK (1994) Seed germination and seeding growth of mung bean under water stress induced by PEG 6000. *Seed Science and Technology*. 23: 301-304.
- Doerage RW, Churchill GA (1996) Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics*. 142: 285-294.
- Ehdaie B, Waines JG (1989) Genetic variation, heritability and path analysis in land races of bread wheat from South Western Iran. *Euphytica*. 41: 183-190.
- Emebiri L, Michael P, Moody DB, Ogonnaya FC, Black C (2009) Pyramiding QTLs to improve malting quality in barley: gains in phenotype and genetic diversity. *Molecular Breeding*. 23: 219-228.
- Fakheri, BA, Mehravaran L (2012) Identify QTL controlling agronomic traits in barley doubled haploid population of Steptoe × Morex under drought stress. *Plant Science*, 47-57.
- FAO (2013) FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/site/>.
- FAO (2010) Extent and causes of salt-affected soils in participating countries. Available on URL:<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spuch/topic4.htm>.
- Farhoudi R (2013) Investigation the salinity tension effect on growth and physiological characteristics of nine wheat cultivars at vegetative growth

- stage. *Crop Physiology*. 5(20): 71-86.
- Greenway H, Munns R (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. 31(1): 149-190.
- Han F, Ullrich SE, Kleinhofs A, Jones B L, Wesenberg DM (1997) Fine structure mapping of the barley chromosome-1 centromere region containing malting-quality QTLs. *Theoretical & Applied Genetics*. 95: 903-910.
- Hayes PM, Liu BH, Knapp SJ, Chen F, Jones B, Blake T, Franckowiak J, Rasmussen D, Sorrells M, Ullrich SE, Wesenberg D, Kleinhofs A (1993) Quantitative traits locus effects and environmental interaction in a sample of North American barley germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 87: 392-401.
- Jafari H, Ansari MN, Ebrahimi MA, Taheri M, Dastkar E (2013) B Analyses of Quantitative Trait Loci Involved in Production of Enzymes Conferring Salt Tolerance in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Crop Biotech*. 5: 117-127.
- Kafi M (2008) Saline agriculture and its necessity in Iran. In: *Proceeding of 10th Iranian Crop Sciences Congress*, Karaj, Iran.
- Khalili M and Mohammadi S A (2015) Mapping QTLs associated with wheat seed germination under normal and drought stress conditions. *Crop Biotech*. 9: 1-14.
- Khalily M, Tourchi M, Aharizad S, Moghaddam Vahed M, Payghambari SA (2014) Detecting QTLs Related to Barley Seed Malt Under Water Deficit Stress. *Plant Science*. 201-212.
- Korff M, Wang H, Le'on J, Pillen K (2008) AB-QTL analysis in spring barley: III. Identification of exotic alleles for the improvement of malting quality. *Molecular Breeding*. 21: 81-93.
- Mano Y, 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.
- Matus IA, Hayes PM (2002) Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*. 45: 1095-1106.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25, 239-250.
- Sudhir P, Murthy S D S (2004) Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*. 42(4): 481-486.
- Wang S, Basten C J, 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/wQTL.htm/>).
- Zaare M, Jafari H (2013) Quantitative trait loci diversity for salt tolerance at the early growth stage of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Crop Breeding Journal*. 3(2): 69-77.
- Zhang ZH, Yu SB, Yu T (2005) Mapping quantitative trait loci (QTLs) for seedling Vigor using recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crop Res*. 91: 161-170.
- Zhu, JK (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science*. 6(2): 66-71.