

Identification of QTLs associated with some (*Hordeum vulgare* L.) traits in a germination stage under salt stress conditions

Sanaz Ghaffari Moghaddam¹, Hossein Sabouri^{1*}, Abdollatif Gholizadeh¹, Hossein Ali Fallahi²

1. Department of Plant Production, Collage of agriculture Science and natural resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous University, Iran

2. Horticulture Crops Research Department, Mazandaran Agricultural and Education Center, AREEO, Sari, Iran

Abstract

Salinity is one of the main osmotic stresses that limit plants growth and development through changes in osmotic and ionic balance. In order to locate genomic regions controlling quantitative traits locus (QTLs), related to salinity tolerance in the barley and evaluating the relevant indices at germination stage, an experiment in 2016 and 2017 using 100 F₃ families of the Badia × Comino cross with their parents in a completely randomized design with three replications and six treatments including normal and five levels of salinity (4, 8, 12, 15 and 20 dS/m) was performed. QTL analysis was performed by composite location method based on each of the six treatments. A total of three QTLs were identified under normal conditions and 23 QTLs under stress conditions. The total phenotypic variance explained by these QTLs varied from 9.1 to 15.4 percent, with the lowest and the most related to root length in terms of 20 dS/m. Sustained QTLs in each of the six environments and linked markers in the selection method can be used to improve germination traits under salt stress conditions after several years of testing and repeat.

Keywords: Germination, Salinity stress, Barley and QTL identification

* Corresponding Author: hos.sabouri@gmail.com

شناسایی مکان‌های ژنی مرتبط با برخی از صفات‌های کمی جو (*Hordeum vulgare*) در مرحلهٔ جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری

ساناز غفاری مقدم^۱، حسین صبوری^{۱*}، عبداللطیف قلی‌زاده^۱، حسینعلی فلاحتی^۲

۱ گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

۲ بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

چکیده

شوری یکی از اصلی‌ترین تنش‌های اسمزی است که رشد و تولید گیاهان را از طریق تغییر در تعادل یونی و اسمزی محدود می‌کند. به‌منظور مکان‌یابی نواحی ژنومی کنترل‌کنندهٔ صفت‌های کمی (QTLs) مرتبط با تحمل به شوری در جو و ارزیابی صفت‌های مربوط به مرحلهٔ جوانه‌زنی، آزمایشی طی سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ با استفاده از ۱۰۰ خانوادهٔ F_3 حاصل از تلاقی بادیا×کومینو به همراه والدین آنها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و شش تیمار شامل وضعیت طبیعی و پنج سطح شوری (۴، ۸، ۱۲، ۱۵ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر) اجرا شد. تجزیهٔ مکان ژنی به روش مکان‌یابی مرکب بر اساس شش تیمار انجام شد و در مجموع، سه مکان ژنی در شرایط طبیعی 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 به صفت طول ریشه‌چه در شرایط ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. از مکان‌های ژنی پایدار در هر شش محیط و نشانگرهای پیوسته با آنها در روش گزینش به کمک نشانگر می‌توان برای بهبود صفت‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری پس‌از آزمایش و تکرار در چند سال استفاده کرد.

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

* نگارندهٔ مسئول: نشانی پست الکترونیک: hos.sabouri@gmail.com. شمارهٔ تماس: ۰۱۷۲۲۳۳۷۵۰۸

مقدمه

آنها از نظر ژنتیکی است (Hussain et al., 1997). معرفی و اصلاح ارقام متحمل به شوری از روش‌های مؤثر مقابله با شوری محسوب می‌شود که در ترکیب با برنامه‌های مدیریتی، امکان بهره‌برداری از زمین‌های شور را فراهم می‌کند (Mohamadi, 2003)؛ مقاومت به شوری در گیاهان زراعی، صفت کمی ژنتیکی و فیزیولوژیکی پیچیده‌ایست که چندین مکان ژنی آن را کنترل می‌کنند (Flowers, 2004). یکی از چالش‌های اصلاح نباتات، نبود اطلاعات کافی دربارهٔ ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفت‌های کمی است. مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفت‌های کمی، یکی از روش‌هایی است که به‌تازگی برای مطالعهٔ ژنتیکی صفت‌های کمی استفاده می‌شود؛ با شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کنندهٔ صفت‌های کمی و تعیین سهم هر یک از این نواحی در ایجاد تنوع مشاهده‌شدهٔ صفت در جمعیت، کارایی برنامه‌های به‌نژادی افزایش یافته است و با اطمینان بیشتری می‌توان به اصلاح جمعیت پرداخت (Collard and Mackill, 2008). Czychylo- Mysza و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی مکان‌های ژنی کنترل مرحلهٔ جوانه‌زنی و رویشی در ۹۰ هاپلوئید مضاعف گندم بهاره، در مجموع ۳۸ مکان ژنی برای تمام صفت‌های مربوط به مراحل جوانه‌زنی و رویشی شناسایی کردند. Shahraki و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعهٔ صفت‌های فنولوژیکی ۷۲ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی استپتو و مورکس در شرایط تنش شوری، ۳۱ مکان ژنی را مکان‌یابی کردند. Colmer و همکاران (۲۰۰۶) در شرایط تنش شوری با استفاده از جمعیت هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی بین دو وارستهٔ جو

جو (*Hordeum vulgare* L.) از غلات مهم ایران و جهان و از نظر اهمیت، چهارمین غلهٔ مهم دنیا پس از گندم، ذرت و برنج است که مقام اول را از نظر کشت‌وکار در شرایط متنوع آب‌وهوایی به‌ویژه آب‌وهوای گرم و خشک دارد (FAO, 2013). شوری از جمله خطرهای جدی تهدیدکنندهٔ محیط و کشاورزی در بسیاری از بخش‌های جهان است که عملکرد محصولات را به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ این مشکل هر ساله با تغییرات آب‌وهوایی و مدیریت ضعیف سیستم‌های آبیاری افزایش می‌یابد. میزان تحمل به شوری گیاه زراعی بایستی در مراحل مختلف رشد به‌ویژه در مرحلهٔ جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و مراحل رویشی و زایشی بررسی شود (Mohamadi, 2003). جوانه‌زنی یکی از بحرانی‌ترین مراحل رشد گیاه در شرایط تنش شوری است. Etesami و Galeshi (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای، اثر سطوح مختلف تنش شوری را در مرحلهٔ جوانه‌زنی جو بررسی و مشخص کردند سرعت جوانه‌زنی حساس‌ترین مرحله نسبت به تنش شوری است. کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری ممکن است راهکار سازگاری بذر به شرایط تنش محیطی در راستای استقرار بهتر گیاهچه باشد. James و Munns (۲۰۰۳) گزارش کردند گونه‌های بسیاری مانند گندم و جو می‌توانند در غلظت زیاد (۳۰ دسی‌زیمنس بر متر) نمک جوانه بزنند، اما ریشه‌چه نمی‌تواند در این سطح از شوری رشد کند. ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی در برابر تنش شوری نشان می‌دهند که به‌علت تفاوت

دسی‌زیمنس بر متر) به ترتیب T0، T1، T2، T3، T4 و T5 ارزیابی شدند. تیمارهای یادشده از اضافه‌شدن به ترتیب ۲/۲۵، ۴/۲۵، ۷/۵، ۱۱ و ۱۳/۵ گرم در لیتر NaCl (آب نمک) به دست آمدند. شمارش بذرهاى جوانه‌زده به‌شکل روزانه و در ساعت‌های معین به‌مدت ۷ روز انجام شد. سرعت جوانه‌زنی بر حسب جوانه‌زنی نسبی بذرها در روز به‌ترتیب بر اساس روابط ۱ و ۲ محاسبه شد (Maguire, 1962).
 قوه نامیه بذر از نسبت تعداد بذرهاى جوانه‌زده بر تعداد بذرهاى کاشته‌شده ضرب در ۱۰۰ محاسبه شد.

رابطه ۱ $PG=Ni/N \times 100$

رابطه ۲ $PG=X1/Y1+(X2-X1)/Y2+\dots+(Xn-X1)/Yn$

PG: درصد جوانه‌زنی، Ni: تعداد بذرهاى جوانه‌زده در روز nام، N: تعداد کل بذرها، RG: سرعت جوانه‌زنی، Yn: تعداد روز از آغاز آزمایش تا زمان شمارش nام و Xn: درصد بذرهاى جوانه‌زده در شمارش nام است.

درنهایت، ۵۰ گیاهچه به‌طور تصادفی (نمونه‌ای از کل گیاهچه‌ها) نمونه‌برداری و صفت‌های وزن تر دانه (به کمک ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، وزن خشک دانه (پس از قراردادن در آون و دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت به کمک ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم)، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در هر سطح و در هر تکرار (با خط‌کش ۰/۱ میلی‌متر)، طول و قطر دانه (با کولیس)، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه (به کمک ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم)، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه (پس از قراردادن نمونه‌ها در آون و دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت) اندازه‌گیری شدند.

(CT9993×IR62266)، ۱ مکان ژنی روی کروموزوم ۲ برای صفت طول ساقه‌چه ردیابی کردند. از آنجا که شناسایی ژن‌ها و مکان‌های ژنی مؤثر در تحمل به شوری در جو می‌تواند درک بهتری از اصلاح و تحمل به شوری در اختیار اصلاحگر قرار دهد و کمک شایانی برای شناخت بهتر سازوکارهای مولکولی و فیزیولوژیکی باشد، پژوهش حاضر با هدف شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده مؤلفه‌های جوانه‌زنی جو در جمعیت F₃ حاصل از تلاقی رقم‌های بادیا×کومینو در شرایط طبیعی و شوری و اشباع نقشه پیوستگی جو توسط نشانگرهای SSR، ISSR و iPBS انجام شد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی‌های فنوتیپی: به‌منظور مکان‌یابی صفت‌های مرتبط با جوانه‌زنی، آزمایشی طی سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبد کاووس روی ۱۰۰ ژنوتیپ نسل F₃ جو حاصل از تلاقی دو رقم بادیا×کومینو در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

به‌منظور آزمون جوانه‌زنی بذرها، ۱۰۰ خانواده نسل F₃ جو حاصل از تلاقی دو رقم بادیا و کومینو به همراه والدین آنها به‌دقت ضدعفونی شدند؛ به‌این ترتیب که بذرها ۵۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۲ درصد قرار گرفتند و سپس به‌خوبی با آب مقطر استریل شستشو شدند؛ سپس ۱۰۰ بذر از هر خانواده روی کاغذ واتمن درون پتری‌دیش‌های استریل قرار گرفتند و درنهایت، در شش تیمار شامل تیمار بدون تنش شوری (آب مقطر) و پنج سطح تنش شوری (۴، ۸، ۱۲، ۱۵ و ۲۰

Taq DNA Polymerase با غلظت ۰/۰۴ واحد بر میکرولیتر، بافر PCR با غلظت نهایی 1x، $MgCl_2$ با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، dNTPs با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، DNA رقیق‌شده و آغازگرهای مورد استفاده) در تیوپ‌های PCR حاوی DNA ریخته شد. برای آغازگرهای SSR، غلظت هر کدام از آغازگرهای رفت و برگشت ۶۰ نانوگرم به میزان ۰/۷۵ میکرولیتر و برای آغازگرهای تصادفی ISSR و iPBS، غلظت ۶۰ نانوگرم به میزان ۱/۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد. در نهایت، ۴ میکرولیتر روغن معدنی برای جلوگیری از تبخیر مواد درون هر تیوپ اضافه شد. تیوپ‌های PCR در دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler (BIORAD ساخت کشور آمریکا) قرار داده شدند. چرخه‌های حرارتی برای تمام نشانگرها به‌طور تاج داون تنظیم شد. چرخه‌های حرارتی برای نشانگرهای SSR شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگرها به‌مدت ۱ دقیقه در دمای اختصاصی آنها و بسط در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه و در نهایت، مرحلهٔ تکثیر نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد بود. چرخه‌های حرارتی برای نشانگرهای ISSR و iPBS شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد، مرحلهٔ واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، ۱۰ چرخهٔ اتصال آغازگرها در دمای ۵۲ تا ۶۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه، ۲۵ چرخهٔ اتصال آغازگرها در دمای اختصاصی آنها

تجزیه واریانس صفت‌های مختلف در وضعیت تنش خشکی و وضعیت طبیعی با نرم‌افزار SAS انجام شد؛ سپس میانگین صفت‌ها در والدین و خانواده‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و به روش LSD مقایسه شد تا علاوه بر بررسی آثار تنش خشکی بر صفت‌های مختلف، ژنوتیپ‌های متحمل و حساس تعیین شوند.

آزمایش‌های مولکولی: ارزیابی‌های مولکولی در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گنبد کاووس انجام شدند. استخراج DNA به روش CTAB انجام شد (Saghi Maroof *et al.*, 1994) و DNAهای استخراجی در دمای منفی ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. از ۲۸ نشانگر چندشکل SSR، ۱۰ آلل چندشکل ISSR و ۹۰ آلل چندشکل iPBS برای اشباع نقشهٔ پیوستگی (Kaviani charati *et al.*, 2017) استفاده شد (جدول ۱). منای انتخاب نشانگرهای تصادفی، میزان چندشکلی آنها در مطالعه‌های پیشین بود. نشانگرهای SSR نیز به‌گونه‌ای انتخاب شدند که روی هر کروموزوم، نشانگر یادشده وجود داشته باشد. از آنجا که میانگین فاصلهٔ بین دو نشانگر در پژوهش حاضر کمتر از ۲۰ سانتی‌مورگان بود، این تعداد نشانگر برای نقشه‌یابی مناسب تشخیص داده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونهٔ DNA انجام شد. به‌منظور انجام PCR، ابتدا ۲ میکرولیتر DNA ژنومی رقیق‌شده با غلظت ۰/۷۵ نانوگرم در هر تیوپ PCR ریخته و سپس ۸ میکرولیتر از محلول مادری PCR (غیر از DNA ژنومی) به هر تیوپ اضافه و به آرامی تکان داده شد. گفتنی است برای تهیهٔ مخلوط واکنش در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری به ترتیب آب دو بار تقطیر، محلول مادری (با ترکیب

وجود مکان ژنی شناسایی شد. در تمام موارد از پرمیوتیشن و Resampling 1000 استفاده و برای هر پایش ۰/۵ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد و بر اساس آن، LOD ۲ به بالا حد بحرانی در نظر گرفته شد. نظر به اینکه برخی از صفت‌ها توزیع نرمال نداشتند، از تبدیل داده‌ها و همچنین روش حداکثر درست‌نمایی برای جلوگیری از اربیی نتایج استفاده شد (Haley and Knott, 1992). به‌منظور تهیه نقشه ژنتیکی از اسکورهای ۱ برای وجود باند و ۲ برای وجودنداشتن باند در نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد. درمورد نشانگرهای iPBS، از اسکورهای ابرای وجود باند و ۳ برای وجودنداشتن باند در مواقعی که باند در والد اول تکثیر یافته بود، استفاده شد. همچنین درمورد نشانگرهای iPBS از نمره‌های ۲ برای وجود باند و ۴ برای وجودنداشتن باند در مواقعی که باند در والد دوم تکثیر یافته بود، استفاده شد. گفتنی است برچسب‌زدن نشانگرهای تصادفی به نشانگرهای ریزماهواره برای کروموزوم‌ها جداگانه انجام شد.

به‌مدت ۴۵ ثانیه و درنهایت، یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه بود. فرآورده‌های واکنش PCR با الکتروفورز روی ژل پلی‌اکریل‌آمید واسرشته‌ساز ۶ درصد تفکیک و نمایان‌سازی باندها با روشی موسوم به روش سریع رنگ‌آمیزی نقره (Caetano Anolles and Gresshoff, 1994) انجام شد. نظر به اینکه نشانگرهای نقشه‌شده مانند SSR جایگاه ژنومی مشخصی دارند، برای تهیه نقشه پیوستگی ابتدا با نشانگرهای SSR آغاز کردیم و پس از تعیین نقشه اولیه، انکور کردن نشانگرهای تصادفی به نقشه اولیه انجام شد. به‌منظور تهیه نقشه ژنتیکی در جمعیت F_3 از نرم‌افزار Map Manager QTX استفاده شد؛ فواصل نشانگری در این نقشه بر اساس تابع کوزامبی محاسبه شدند (Kosambi, 1994). به‌منظور یافتن مکان‌های ژنی از QGENE استفاده شد (Nelson, 1997). به‌منظور تعیین مکان‌های ژنی و برآورد اندازه آثار آنها از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب CIM استفاده شد و نقطه‌ای که بیشترین مقدار LOD را داشت، ناحیه با بیشترین احتمال

جدول ۱- نشانگرهای SSR، ISSR و iPBS چندشکل مورد استفاده در تهیه نقشه پیوستگی جمعیت F_3 جو حاصل از تلاقی ارقام

بادیا×کومینو (برنامه حرارتی و غلظت‌ها در متن درج شده است)

آغازگر	کروموزوم	توالی آغازگر (۳'–۵')
ریزماهواره (SSR)		
Bmag0782	1	F: ATGTACCATTACGCATCCA R: GAAATGTAGAGATGGCACTTG
Bmag0718	1	F: ATCGTGACATCTCAAGAACA R: CCTGATACTGCCTAGCATTAG
Bmag0211	1	F: ATTCATCGATCTTGTATTAGTCC R: ACATCATGTGCGATCAAAGC
HVM20	1	F: CTCCACGAATCTCTGCACAA R: CACCGCCTCCTCTTTCAC
EBmac624	2	F: AAAAAGCATTCAACTTCATAAGA R: CAACGCCATCACGTAATA
Bmag382	2	F: TGAAAACCCATAGAGAGTGAGA R: TCAAAAAGTTTCGTTCCAAATA
GBMS0160	2	F: ATCCAGTGGCCTTTGTATGG R: TCAGTCTCTCTCTTCATGTG
HVM36	2	F: TCCAGCCGAACAATTTCTTG R: AGTACTCCGACACCAGTCC

HVM33	3	F: ATATTAATAAAGGTGGAAAGCC R: CACGCCCTCCTCCTAGAT
Bmac0209	3	F: CTAGCAACTTCCCAACGAC R: ATGCCTGTGTGGACCAT
GBMS0046	3	F: CACACAAAAGCTGACTTAATTCC R: TGGAAACCAAGCCTTACCAC
Bmag0225	3	F: AACACACCAAAAAATATTACATCA R: CGAGTAGTCCCATGTGAC
HVM67	4	F: GTCGGGCTCCATTGCTCT R: CCGGTACCCAGTGACGAC
EBmac0755	7	F: GCTTCCTTCATAGACCCAT R: ATATCATGCCAATGGTGTG
EBmac0701	4	F: ATGATGAGAAGCTTTCACCC R: TGGCACTAAAGCAAAAGAC
D4ff	4	F: CAATCCTTGCATCAAATGTGC R: GGCCCTAAGATAGAAGCACAAG
MGB402	4	F: CAAGCAAGCAAGCAGAGAGA R: AACTTGTGGCTCTGCCGACTC
HVM30	5	F: AGTGGGGAATGAGAGAATGG R: TGCTTGTGGGTCATCACAC
GBMS0032	5	F: CAGCATCCATCAGCAATGTT R: ATGTTTGGCTTCTTCGTCGT
Bmag0223	5	F: TTAGTCACCTCAACGGT R: CCCCTAACTGCTGTGATG
GMS001	5	F: CTGACCCTTGTCTAACATGC R: TCAGCGTGACAAACAATAAAGG
HVM65	6	F: AGACATCCAAAAAATGAACCA R: TGGTAACTTGCCCCAAAG
GBMS180	6	F: GGAACATAATGCTTCGGTCCA R: TGGTGCAAGTGAGCACCTAC
MGB371	6	F: CACCAAGTTCACCTCGTCCT R: TTATTACAGGCAGCACCATTG
Bmac0040	6	F: AGCCCGATCAGATTTACG R: TTCTCCCTTGGTCCTTG
HVM49	7	F: CTCTATAGGCACGAAAAATTCC R: TTGCACATATCTCTGTGCACA
GBMS0183	7	F: TAATGGTGATGGTCTTGAGGC R: AAGACTCGCGTGCCTTTTAA
MGB318	7	F: CGGCTCAGGTCTCTTCTTC R: TATCTAGATGCCCTTTCC

بین ریزماهورهای (ISSR)

نام آغازگر	توالی آغازگر (۵'-۳')
ISSR16	CTCTCTCTCTCTCTG
ISSR29	TCTCTCTCTCTCTCA
ISSR20	TCTCTCTCTCTCTG
ISSR13	GACAGAGAGAGAGAGAA

رتروترانسپوزون (iPBS)

2240	AACCTGGCTCAGATGCCA
2232	AGAGAGGCTCGGATACCA
2222	ACTTGGATGCCGATACCA
2244	GGAAGGCTCTGATTACCA
2400	CCCCTCCTTCTAGCGCCA
2221	ACCTAGTTCATGATGCCA
2239	ACCTAGGCTCGGATGCCA
2077	CTCACGATGCCA
2274	GCTCTGATACCA
2083	CTTCTAGCGCCA
2076	GCTCCGATGCCA
2074	CTCATGATGCCA
2241	ACCTAGTTCATGATGCCA
2231	ACTTGGATGCTGATACCA

نتایج و بحث

تجزیه واریانس، توزیع فنوتیپی و مقایسه میانگین صفات‌های موردبررسی در والدین: نتایج تجزیه واریانس صفات‌های مورد مطالعه در مرحله جوانه‌زنی (جدول ۲) پس از بررسی و تأیید برقراری مفروضات نشان داد ژنوتیپ‌های بررسی شده از نظر تمام صفات‌های ارزیابی شده در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار دارند. تأثیر سطوح مختلف شوری بر صفات‌های یادشده نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. این نتیجه نشان‌دهنده تنوع فنوتیپی زیاد در جمعیت است. اختلاف آماری معنادار بین ژنوتیپ‌ها بیان‌کننده وجود تنوع زیاد بین مواد گیاهی ارزیابی شده و احتمالاً سازوکارهای متفاوت آنها در واکنش به تنش شوری است که می‌توانند در انتخاب ژنوتیپ مناسب و تولید

جمعیت‌های درحال تفرق به‌منظور مکان‌یابی ژنی استفاده شوند. مشابه نتایج پژوهش حاضر از مطالعه Fakheri و Khalegh Babaki (۲۰۱۴) روی نقشه‌یابی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مرتبط با جوانه‌زنی گندم نان در وضعیت طبیعی و تنش اسمزی بین دو محیط طبیعی و تنش به دست آمده است که اختلاف معنادار بین ژنوتیپ‌ها را مشاهده کردند. طبق نتایج حاصل از آماره‌های توصیفی چولگی و کشیدگی، توزیع فنوتیپی صفات‌ها به‌شکل نرمال بود و بررسی مقایسه میانگین صفات‌های موردبررسی در والدین تلاقی بادیا×کومینو در جدول ۳ به روش آزمون t محاسبه شد. نرمال بودن صفات‌ها نشان از ماهیت کمی آنها دارد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس خانواده F_3 حاصل از تلاقی بادیا×کومینو مرحله جوانه‌زنی در شرایط طبیعی و شوری

وزن خشک	ریشه‌چه	وزن خشک	ساقچه	وزن تر ریشه‌چه	وزن تر ساقچه	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	قطر دانه	طول دانه	وزن تر دانه	وزن خشک دانه	وزن دانه	قوة ناپه‌پذیر	درصد ناپه‌پذیری	تغییرات	درجه آزادی	مقدار
میانگین مربعات شرایط طبیعی																	
۰/۰۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۰۲**	۲/۴۵**	۶/۶۳**	۱۶/۴۹**	۲۴/۱۰**	۴/۷۳**	۲۸/۵۳**	۲/۴۳**	۰/۰۰۱**	۰/۶۷**	۱۱۳/۰۲**	۶۲۱/۶۷**	۰/۰۶**	۱۰۱	ژنوتیپ		
۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۲	۰/۲۴	۰/۱۱	۰/۰۰۵	۰/۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۲	۵/۳۸	۵۲/۳۹	۰/۰۰۵	۲۰۴	خطا		
میانگین مربعات تنش ۴ دسی‌زیمنس بر متر																	
۰/۰۰۰۰۹**	۰/۰۰۰۰۱**	۲/۷۵**	۷/۳۰**	۱۶/۳۵**	۱۵/۷۰**	۵/۴۷**	۲۷/۹۰**	۲/۱۹**	۰/۰۰۱**	۰/۶۰**	۱۳۸/۳۸**	۵۴۳/۸۲**	۰/۰۵**	۱۰۱	ژنوتیپ		
۰/۰۰۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۰۰۹	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۰۷	۰/۶۷	۰/۲۴	۰/۰۱	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۵	۱۲/۸۴	۳۰/۶۰	۰/۰۰۳	۲۰۴	خطا		
میانگین مربعات تنش ۸ دسی‌زیمنس بر متر																	
۰/۰۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۰۷**	۲/۶۷**	۶/۹۸**	۱۶/۱۱**	۱۵/۸۴**	۲۷/۵۱**	۵/۱۲**	۲/۴۱**	۰/۰۰۱**	۰/۵۷**	۳۹۰/۱۷**	۱۰۵/۳۷**	۰/۰۱**	۱۰۱	ژنوتیپ		
۰/۰۰۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۰۱	۰/۰۷۶	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۶۷	۰/۰۸	۰/۳۸	۰/۱۲	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۹	۲۳/۱۲	۲۲/۲۶	۰/۰۰۲	۲۰۴	خطا		

ضرب	۲/۲۷	۲/۲۶	۶/۱۸	۲/۵۵	۵/۶۲	۵/۰۳	۵/۲۶	۰/۷۱	۲/۰۱	۱/۲۱	۴/۵۶	۴/۶۶	۱۹/۲۰	۲۴/۸۶
تغییرات														
(درصد)														
میانگین مربعات تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر														
ژنوتیپ	۱۰۱	۰/۰۱۲**	۱۲۴/۴۰**	۳۷۸/۳۲**	۰/۵۱**	۰/۰۰۰۵**	۴/۲۳**	۲۰/۴۱**	۲/۶۵**	۱۰/۶۳**	۱۲/۵۶**	۶/۸۱**	۲/۶۲**	۰/۰۰۰۰۴**
خطا	۲۰۴	۰/۰۰۱	۱۸/۱۵	۱۰/۴۹	۰/۰۷	۰/۰۰۰۰۰۸	۰/۰۰۳	۰/۶۳	۰/۰۲	۳/۲۲	۰/۲۲	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۰۰۰۰۰۴
ضرب	۱/۹۹	۱/۹۸	۵/۰۸	۷/۳۲	۴/۲۹	۰/۷۹	۲/۰۰۷	۱/۳۵	۴/۷۸	۱/۶۱	۳/۳۲	۳/۶۰	۱۶/۸۲	۱۸/۲۸
تغییرات														
(درصد)														
میانگین مربعات تنش ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر														
ژنوتیپ	۱۰۱	۰/۰۰۳**	۳۸/۵۸**	۴۴۶/۱۴**	۰/۳۹**	۰/۰۰۰۳**	۱/۷۰**	۲۲/۱۶**	۲/۵۳**	۱۰/۱۲**	۸/۷۲**	۲/۵۹**	۰/۱۳**	۰/۰۰۰۰۰۱**
خطا	۲۰۴	۰/۰۰۱	۱۶/۱۰	۴۱/۳۰	۰/۰۷	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۶۵	۰/۰۷	۰/۴۴	۰/۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۲
ضرب	۱/۹۹	۱/۹۹	۱۰/۹۰	۷/۲۴	۹/۲۳	۳/۱۶	۰/۳۰	۱/۲۳	۲/۸۳	۱/۱۷	۱۸/۶۱	۲۲/۵۵	۱۱/۴۷	۴۲/۶۷
تغییرات														
(درصد)														
میانگین مربعات تنش ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر														
ژنوتیپ	۱۰۱	۰/۰۷	۲۸۰/۹۵**	۱۶۳/۲۹**	۰/۳۹**	۰/۰۰۰۱**	۱/۷۱**	۱۷/۶۳**	۲/۶۶**	۶/۴۲**	۸/۴۶**	۲/۱۷**	۲/۵۶**	۰/۰۰۰۰۰۴**
خطا	۲۰۴	۰/۰۰۱۱	۱۱/۵۱۷	۱۳/۴۰	۰/۰۷	۰/۰۰۰۰۰۶	۰/۰۳	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۳۵	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۰۰۰۰۰۰۹
ضرب	۱/۳۰۶	۱/۷۷۱	۸/۵۴	۷/۲۴	۴/۲۲	۳/۱۶	۰/۶۷	۱/۰۷	۰/۸۸	۲/۶۹	۱۷/۳۷	۲۳/۳۲	۱۲/۱۰	۳۱/۴۳
تغییرات														
(درصد)														

** معنادار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۳- مقایسه میانگین صفت‌های موردبررسی در مرحلهٔ جوانه‌زنی برای والدین تلاقی (بادیا × کومینو)

	T5		T4		T3		T2		T1		T0								
صفت	کومینو	بادیا	کومینو	بادیا	کومینو	بادیا	کومینو	بادیا	کومینو	بادیا	کومینو	بادیا							
سرعت جوانه‌زنی	۲/۰۰	۲/۰۰	*	۲/۰۰	۲/۰۶	ns	۲/۱۸	۲/۱۸	ns	۲/۰۵	۲/۰۶	*	۲/۱۰	۲/۳۵	ns	۲/۲۰	۲/۲۸		
درصد جوانه‌زنی	۹۰/۰۰	۹۰/۰۰	*	۹۰/۰۰	۹۳/۰۰	ns	۹۷/۰۰	۹۷/۰۰	*	۹۲/۰۰	۹۳/۰۰	**	۹۵/۰۰	۱۰۰/۰۰	ns	۱۰۰/۰۰	۱۰۰/۰۰		
قوةٔ نامیهٔ بذر	**	۱۰۰/۰۰	**	۲۷/۳۳	**	۱۰۰/۰۰	۳۷/۳۳	*	۶۷/۳۳	۶۴/۶۶	**	۹۰/۰۰	۷۲/۳۳	*	۹۴/۶۶	۸۹/۶۶	**	۱۰۰/۰۰	۸۷/۳۳
وزن خشک دانه (گرم)	*	۰/۰۹۲	*	۰/۰۶۲	*	۰/۰۹۲	۰/۰۷۵	*	۰/۰۷۷	۰/۱۰۰	*	۰/۰۴۲	۰/۰۵۲	*	۰/۰۴۰	۰/۰۶۰	*	۰/۰۴۵	۰/۰۶۷
طول دانه (میلی‌متر)	**	۴۱/۱۵	**	۳۶/۳۵	**	۲۶/۲۶	۳۶/۴۱	**	۴۱/۰۶	۳۶/۲۰	ns	۴۲/۲۰	۴۲/۳۶	*	۴۱/۹۵	۴۲/۳۶	ns	۴۲/۰۱	۴۲/۴۶
قطر دانه (میلی‌متر)	ns	۱۱/۱۶	ns	۱۱/۹۵	ns	۱۱/۲۶	۱۱/۷۵	ns	۱۱/۱۰	۱۱/۹۶	*	۱۱/۷۵	۱۰/۹۵	*	۱۱/۷۵	۱۰/۹۱	ns	۱۱/۷۰	۱۰/۹۶
طول ساقچه (سانتی‌متر)	**	۳۳/۵۵	**	۲۶/۳۱	**	۳۵/۵۶	۲۷/۵۶	**	۲۶/۴۰	۳۷/۳۱	*	۳۹/۰۰	۳۸/۱۱	*	۳۹/۲۵	۳۸/۶۰	*	۳۹/۳	۴۳/۷
طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	**	۲۵/۷۰	**	۱۵/۶۰	**	۲۸/۱۶	۲۱/۱۶	**	۳۴/۰۰	۲۶/۰۱	**	۳۱/۹	۲۶/۱	**	۳۱/۷	۲۶/۳	*	۳۶/۶	۳۱/۶
وزن تر ساقچه (گرم)	**	۵/۱۵۰	**	۲/۱۰۰	**	۵/۳۶۷	۲/۳۱۷	**	۷/۷۰۰	۴/۹۶۷	**	۷/۱۶۷	۵/۰۱۷	**	۷/۴۶۷	۵/۳۵۰	*	۷/۶۵۰	۵/۶۱۷
وزن تر ریشه‌چه (گرم)	**	۰/۷۶۱	**	۰/۵۴۳	**	۰/۸۸۳	۰/۶۰۵	**	۵/۱۵۰	۳/۶۵۰	**	۵/۳۶۷	۳/۷۱۷	*	۵/۶۶۷	۳/۹۱۷	*	۵/۹۰۰	۴/۳۵۰
وزن خشک ساقچه (گرم)	**	۱/۱۲۹	**	۱/۰۲۱	**	۱/۴۵۷	۱/۱۵۸	*	۱/۷۸۱	۱/۴۲۳	*	۲/۴۵۷	۱/۷۷۶	**	۲/۶۳۲	۱/۹۸۱	*	۲/۶۶۸	۲/۵۴۲
وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	**	۰/۰۹۶	*	۰/۰۶۸	*	۰/۴۷۲	۰/۲۵۳	**	۱/۵۴۳	۱/۲۲۵	**	۱/۷۷۸	۱/۵۳۶	**	۱/۸۵۸	۱/۶۵۳	*	۲/۰۳۹	۱/۷۰۱

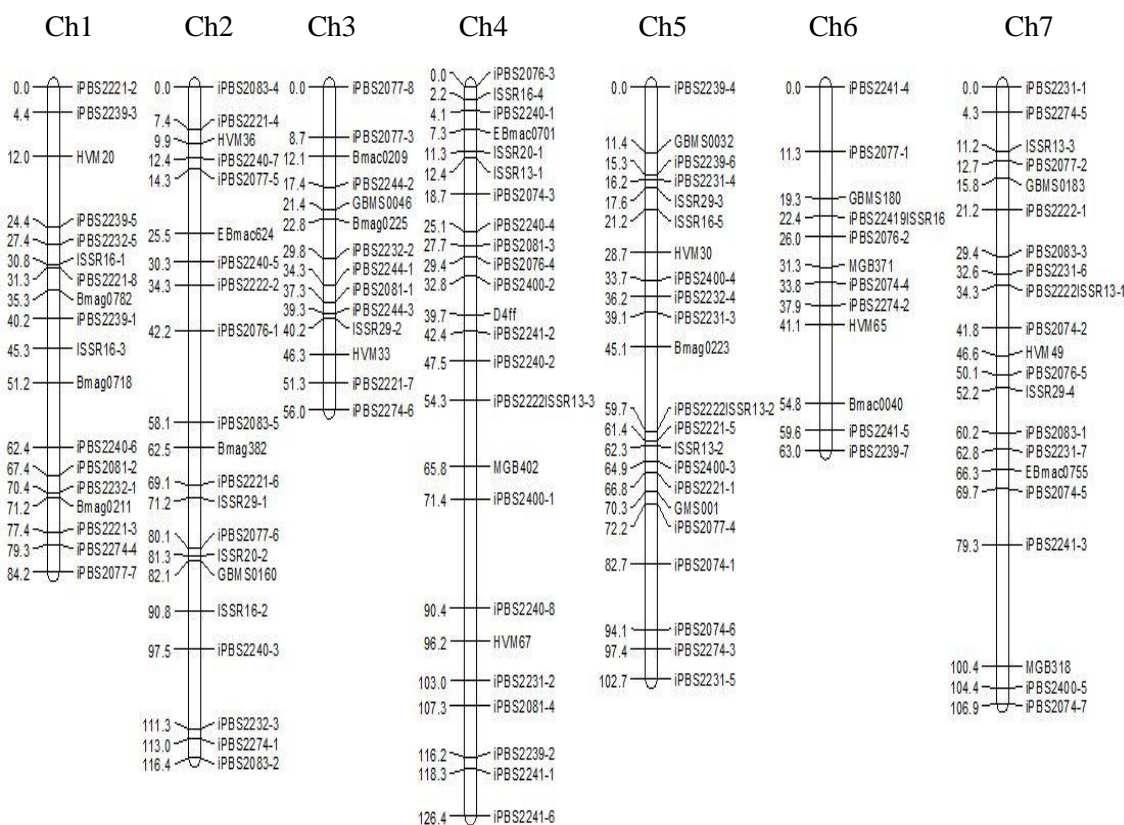
** ، * و ns به ترتیب نشان‌دهندهٔ معناداری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و غیرمعنادار است.

T0، T1، T2، T3، T4 و T5 به ترتیب تیمار بدون تنش شوری (آب مقطر) و پنج سطح تنش شوری ۴، ۸، ۱۲، ۱۵ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر را نشان می‌دهند.

طبیعی و تنش شوری، در مجموع ۲۶ عدد مکان ژنی برای صفات‌های مورد مطالعه شناسایی شدند (جدول ۴). نواحی ژنومی و کروموزومی مکان‌های ژنی مکان‌یابی شده در شرایط مورد ارزیابی به‌طور واضح‌تر در شکل ۱ مشاهده می‌شوند.

مکان‌یابی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات‌های مورد بررسی: نقشه پیوستگی جو با استفاده از نشانگرهای SSR، ISSR و iPBS ترسیم شد و ۶۶۵/۶ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را پوشش داد (شکل ۱). طی مرحله جوانه‌زنی در شرایط

شکل ۱- نقشه پیوستگی حاصل از نشانگرهای SSR، ISSR و iPBS در جمعیت F_3 جو حاصل از تلاقی بادیا × کومینو (محل تقریبی QTLها در جداول ۴ و ۵ آمده است).



کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۳ جو برای وزن خشک دانه گزارش کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد. یک مکان ژنی روی کروموزوم ۲ برای صفت طول ساقچه و در فاصله ژنومی -IPBS2077-5 EBMAO624 شناسایی شد که ۱۴/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد. این مکان ژنی

الف- شرایط طبیعی: در شرایط طبیعی، یک مکان ژنی روی کروموزوم ۵ برای صفت وزن خشک دانه شناسایی شد. qSDW-5a توانست ۱۲/۳ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کند و والد بادیاء سبب افزایش وزن خشک دانه شد. Khalili و Mohammadi (۲۰۱۵) سه مکان ژنی روی

Liang و همکاران (۲۰۰۶) دو مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۳ و ۱۰ برای سرعت جوانه‌زنی تعیین کردند که با نتایج پژوهش حاضر کاملاً متفاوت است. از جمله دلایل مطابقت‌نداشتن نتایج پژوهش حاضر با نتایج سایر پژوهشگران را می‌توان تعداد و نوع نشانگرهای بررسی‌شده، نوع جمعیت، تعداد افراد استفاده‌شده در جمعیت، نوع والدین استفاده‌شده و شرایط محیطی دانست. دو مکان ژنی بزرگ‌اثر روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ برای صفت درصد جوانه‌زنی در فاصله نشانگری مشابه صفت سرعت جوانه‌زنی شناسایی شدند و در مجموع، ۲۲/۳ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. Miura و همکاران (۲۰۰۴) در وضعیت تنش دمایی، پنج مکان ژنی را برای درصد جوانه‌زنی روی کروموزوم‌های ۲، ۴، ۵ و ۱۱ (دو مکان ژنی) به ترتیب با ۱۱/۹، ۱۴/۹، ۱۰/۱، ۱۰/۶، ۱۱/۵ درصد توجیه تغییرات فنوتیپی ردیابی کردند که با مکان‌های ژنی شناسایی‌شده در پژوهش حاضر مطابقت ندارد. دو مکان ژنی روی کروموزوم‌های ۷ و ۲ برای قوه نامیه بذر شناسایی شدند که در مجموع، ۲۱/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت قوه نامیه بذر را توصیف کردند و آلل‌های والدین به ترتیب بادیا و کومینو باعث کاهش و افزایش این صفت شدند. یک مکان ژنی برای وزن خشک دانه روی کروموزوم ۴ مکان‌یابی شد؛ والد بادیا سبب افزایش این صفت شد. qSDW4-4a در فاصله نشانگری IPBS2240-IPBS2081-3، ۹/۷ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد. یک مکان ژنی برای صفت طول ساقه‌چه روی کروموزوم ۲ مکان‌یابی شد. qASL-2a در فاصله ژنومی IPBS2077-5-EBMAO624 قرار داشت و ۱۱/۴ درصد از

به‌عنوان مکان ژنی بزرگ‌اثر کنترل‌کننده طول ساقه‌چه در شرایط طبیعی شناسایی شد و برای گزینش پیشنهاد می‌شود. Sabouri و همکاران (۲۰۱۰) شش مکان ژنی مرتبط با طول ساقه‌چه را در شرایط تنش اسمزی ناشی از سوربیتول روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۴، ۵، ۷ و ۱۲ شناسایی کردند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. یک مکان ژنی روی کروموزوم ۴ برای صفت وزن خشک ساقه‌چه در فاصله نشانگری IPBS2239-2-IPBS2241-1 شناسایی شد. این مکان ژنی توانست ۹/۸ درصد از واریانس فنوتیپی وزن خشک ساقه‌چه را توجیه کند و آلل‌های والد کومینو سبب کاهش وزن خشک ساقه‌چه شدند. Rabie و همکاران (۲۰۱۳) یک مکان ژنی برای صفت وزن خشک ساقه‌چه در حدفاصل نشانگرهای RM5711-E36-M59-1 روی کروموزوم ۷ در دو وضعیت شوری و خشکی شناسایی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت ندارد.

ب- تنش ۴ دسی‌زیمنس بر متر: در تنش ۴

دسی‌زیمنس بر متر، دو مکان ژنی بزرگ‌اثر روی کروموزوم‌های ۶ و ۷ برای صفت سرعت جوانه‌زنی شناسایی شدند و این مکان‌های ژنی به ترتیب با نشانگرهای iPBS2077-2-GBMS0183 و HVM65-BMAC0040 پیوستگی داشتند و به ترتیب دارای واریانس فنوتیپی ۱۱/۶ و ۱۰/۶ درصد بودند. Zhang و همکاران (۲۰۰۵) مکان‌های ژنی مرتبط با سرعت جوانه‌زنی را روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۷ ردیابی کردند. موقعیت مکانی qGS4-7 در مطالعه حاضر با مکان‌های ژنی‌ای مطابقت دارد که Zhang و همکاران (۲۰۰۵) ردیابی کردند. در مقابل،

مکان ژنی در مجموع ۴۸/۸ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. یک مکان ژنی روی کروموزوم ۴ برای صفت وزن تر ساقه‌چه در فاصله نشانگری -D4ff-IPBS2241-2 شناسایی شد و ۹/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کرد. مکان‌های ژنی qRfW15-4a و qRfW15-7a برای صفت وزن تر ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۴ و ۷ شناسایی شدند. ضریب تبیین برای دو مکان ژنی به ترتیب برابر با ۱۰/۹ و ۹/۷ درصد بود. اثر افزایشی نیز به ترتیب افزایشی و کاهش‌دهنده بود که والد کومینو سبب افزایش این صفت و والد بادیا سبب کاهش این صفت شد. یک مکان ژنی برای صفت قوه نامیه بذر روی کروموزوم ۱ و در فاصله نشانگری 3-IPBS2239-2-IPBS2221 و ضریب تبیین برابر با ۱۱/۷ درصد مکان‌یابی شد. یک مکان ژنی در فاصله نشانگری -HVM36-IPBS2240-7 روی کروموزوم ۲ برای وزن خشک دانه شناسایی شد. qSV15-1a دارای LOD برابر با ۲/۲۸۰ و ضریب تبیین ۱۰ بود. در نهایت، یک مکان ژنی برای قطر دانه روی کروموزوم ۶ و در فاصله ژنومی 1-IPBS2077-4-IPBS2241 مکان‌یابی شد و ۱۲/۸ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد. اثر افزایشی برای این صفت منفی و از والد کومینو گرفته شد.

م- تنش ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر: در شرایط تنش ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر، دو مکان ژنی در کنترل صفت طول ریشه‌چه نقش داشتند که روی کروموزوم‌های ۲ و ۷ شناسایی شدند. ضریب تبیین برای این دو مکان ژنی به ترتیب برابر با ۱۵/۴ و ۹/۱ درصد بود.

واریانس تغییرات را توجیه کرد و آلل‌های والد کومینو باعث افزایش این صفت شدند. یک مکان ژنی دیگر در این سطح از تنش شوری برای صفت وزن تر ساقه‌چه روی کروموزوم ۲ مکان‌یابی شد. qSFw-2a دارای اثر افزایشی کاهش‌دهنده بود که از والد بادیا به نتایج منتقل شده بود.

ج- تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر: در شرایط تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، سه مکان ژنی برای صفت‌های ارزیابی شده در مرحله جوانه‌زنی شناسایی شدند (جدول ۴). دو مکان ژنی در کنترل صفت وزن خشک دانه نقش داشتند که در مجموع ۲۲/۵ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. یک مکان ژنی برای صفت طول ساقه‌چه روی کروموزوم ۱ مکان‌یابی شد؛ این مکان ژنی در فاصله نشانگری 3-IPBS2221-1-IPBS2221-BMAG0211 قرار داشت و ۱۲/۵ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه کرد. Rabei و همکاران (۲۰۱۴) مکان‌های ژنی مرتبط با تحمل به شوری و خشکی را در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای جمعیت $F_{2,4}$ با استفاده از ۱۰۵ نشانگر AFLP و ۱۳۱ نشانگر ریزوماهواره ردیابی کردند و یک مکان ژنی برای سرعت جوانه‌زنی، یک مکان ژنی برای درصد جوانه‌زنی و یک مکان ژنی برای طول ساقه‌چه در کروموزوم ۱ ردیابی کردند.

د- تنش ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر: در تنش ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر، سه مکان ژنی کنترل‌کننده طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های ۲، ۶ و ۷ مکان‌یابی شدند؛ این سه مکان ژنی در مجموع ۳۰/۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند. Khalili و همکاران (۲۰۱۷) سه مکان ژنی روی کروموزوم‌های 2A، 3B و 2D برای طول ریشه‌چه مکان‌یابی کردند؛ این سه

جدول ۴- مکان‌یابی مکان‌های ژنی کنترل‌کنندهٔ صفت‌های موردبررسی در مرحلهٔ جوانه‌زنی در شرایط طبیعی و تنش شوری

صفت	مکان ژنی	شمارهٔ کروموزومی	موقعیت	نشانه‌های مجاور	LOD	فاصلهٔ مکان ژنی تا نزدیک‌ترین نشانه‌گر	اثر افزایشی	ضریب تعیین	جهت آلل
شرایط طبیعی (Normal)									
وزن خشک دانه	qSDW-5a	۵	۶۰	iPBS2222ISSR13- -iPBS2221-5	۲/۸۵۲	۰/۳	۱۵/۷۲۵	۱۲/۳	بادیا
طول ساقه‌چه	qASL-2a	۲	۱۶	iPBS2077-5- EBMAO624	۳/۳۸۰	۱/۷	۲/۸۹۱	۱۴/۴	بادیا
وزن خشک ساقه‌چه	qSDW-4a	۴	۱۱۸	iPBS2239-2- iPBS2241-1	۲/۲۵۰	۰/۳	۰/۰۲۳	۹/۸	کومینو
۴ دسی‌زیمنس بر متر (4 dS/m)									
سرعت جوانه زنی	qGS4-7a	۷	۱۴	iPBS2077-2- GBMS0183	۲/۶۸۰	۱/۳	۰/۰۸۹	۱۱/۶	بادیا
	qGS4-6a	۶	۵۰	HVM65- BMAC0040	۲/۴۳۸	۴/۸	۰/۰۷۴	۱۰/۶	بادیا
درصد جوانه زنی	qGP4-7a	۷	۱۴	iPBS2077-2- GBMS0183	۲/۶۸۷	۱/۳	۸/۸۷	۱۱/۶	بادیا
	qGP4-6a	۶	۵۰	HVM65- BMAC0040	۲/۴۴۶	۴/۸	۷/۴۳۱	۱۰/۷	بادیا
قوه نامیه بذر	qSV4-7a	۷	۱۴	iPBS2077-2- GBMS0183	۲/۴۶۴	۱/۳	-۴/۱۸۰	۱۰/۷	بادیا
	qSV4-2a	۲	۶۴	BMAG382- iPBS2221-6	۲/۳۸۹	۱/۵	۳/۴۱۱	۱۰/۴	کومینو
وزن خشک دانه	qSDW4-4a	۴	۲۶	iPBS2240-4- iPBS2081-3	۲/۲۲۰	۰/۹	۰/۰۲۰	۹/۷	بادیا
طول ساقه‌چه	qASL4-2a	۲	۱۶	iPBS2077-5- EBMAO624	۲/۶۲۹	۱/۷	۲/۰۸۵	۱۱/۴	کومینو
وزن تر ساقه‌چه	qSFW4-2a	۲	۱۱۴	iPBS2274-1- iPBS2083-2	۲/۲۶۸	۱	-۱/۸۰۹	۹/۹	بادیا
۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (12 dS/m)									
وزن خشک دانه	qSDW12-6a	۶	۲	iPBS2241-4- iPBS2077-1	۲/۷۵۸	۲/۰	۰/۰۳۵	۱۱/۹	بادیا
	qSDW12-4a	۴	۱۲۲	iPBS2241-1- iPBS2241-6	۲/۴۲۲	۳/۷	۰/۰۱۳	۱۰/۶	بادیا
طول ساقه‌چه	qASL12-1	۱	۷۶	BMAG0211- iPBS2221-3	2.893	۱/۴	۱/۰۲۹	۱۲/۵	بادیا
۱۵ دسی‌زیمنس بر متر (15 dS/m)									
	qARL15-6a	۶	۴۶	HVM65- BMAC0040	۲/۴۳۷	۴/۹	-۰/۷۹۴	۱۰/۶	بادیا
طول ریشه‌چه	qARL15-2a	۲	۱۱۲	iPBS2232-3- iPBS2274-1	۲/۴۳۰	۱	۱۷۳/۶۸۶	۱۰/۶	کومینو

بادیا	۹/۲	-۰/۶۶۵	۰/۳	۲/۱۰۰	IPBS2231-7- EBMAC0755	۶۶	۷	qARL15- 7a	
بادیا	۹/۴	-۰/۳۷۸	۰/۲۶	۲/۱۳۲	D4ff-iPBS2241-2	۴۰	۴	qSFW15- 4	وزن تر ساقه‌چه
کومینو	۱۰/۹	۰/۲۳۳	۰/۹	۲/۴۹۹	iPBS2240-4- iPBS2081-3	۲۶	۴	qRFW15- 4a	وزن تر ریشه‌چه
بادیا	۹/۷	-۰/۶۶۸	۱/۳	۲/۲۲۰	iPBS2074-5- iPBS2241-3	۷۸	۷	qRFW15- 7a	
کومینو	۱۱/۷	۷/۸۳۷	۰	۲/۷۰۹	iPBS2221-2- iPBS2239-3	۰	۱	qSV15-1	قوه نامیه بذر
بادیا	۱۰	-۰/۰۰۵	۰/۴	۲/۲۸۰	HVM36- iPBS2240-7	۱۲	۲	qSDW15- 2	وزن خشک دانه
کومینو	۱۲/۸	-۲۴۵۲۵۸	۰	۲/۹۸۰	iPBS2241-4- iPBS2077-1	۰	۶	qAGD15- 6	قطر دانه
۲۰ دسی‌زیمنس بر متر (20 dS/m)									
کومینو	۱۵/۴	۱۹۴/۹۵۶	۱	۳/۶۲۲	iPBS2232-3- iPBS2274-1	۱۱۲	۲	qARL20- 2a	طول ریشه‌چه
بادیا	۹/۱	-۰/۶۸۵	۳/۴	۲/۰۶۱	EBMAC0755- iPBS2074-5	۶۸	۷	qARL20- 7a	

شناسایی شده در مرحله جوانه‌زنی نشان داد برخی از مکان‌های ژنی روی نواحی ژنومی و کروموزومی مشترک قرار دارند؛ این موضوع احتمالاً به علت پیوستگی ژنتیکی یا اثر پلیوتروپیک ژنی است.

مکان‌های ژنی مکان‌یابی شده مشترک برای صفت‌های مطالعه شده: جایگاه کروموزومی مکان‌های ژنی مکان‌یابی شده مشترک برای صفت‌های مورد مطالعه در جدول ۵ ارائه شده است. مقایسه جایگاه کروموزومی مکان‌های ژنی

جدول ۵- مکان‌های ژنی مکان‌یابی شده مشترک برای صفت‌های مورد مطالعه در مرحله جوانه‌زنی

شرایط محیطی		شماره کروموزوم	فاصله نشانگری
۱۵ دسی‌زیمنس بر متر	۱۲ دسی‌زیمنس بر متر	۴ دسی‌زیمنس بر متر	شرایط طبیعی
طول ساقه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ساقه‌چه	۲
وزن تر ریشه‌چه	وزن خشک دانه	وزن خشک دانه	۴
قطر دانه	وزن خشک دانه	سرعت جوانه‌زنی + درصد جوانه‌زنی	۶
طول ریشه‌چه	سرعت جوانه‌زنی + درصد جوانه‌زنی	قوه نامیه بذر + سرعت جوانه‌زنی + درصد جوانه‌زنی	۷

بیشترین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفت‌های مورد بررسی در مرحله رشدی جوانه‌زنی در این نواحی می‌توانند به عنوان مکان و نواحی مهم و

باتوجه به نتایج، کروموزوم شماره ۷ و نواحی ژنومی iPBS2231-1-iPBS2274-5 و iPBS2077-2-GBMS0183 به علت شناسایی

زیادی از واریانس فنوتیپی صفت‌های وزن خشک دانه، طول ساقه‌چه، قطر دانه و طول ریشه‌چه را توجیه کردند و ضریب تبیین مربوط به آنها به ترتیب برابر با ۱۲/۳، ۱۴/۴، ۱۲/۵، ۱۲/۸ و ۱۵/۴ درصد بود. از این مکان‌های ژنی می‌توان پس از تعیین اعتبار، در جمعیت‌های دیگر و برای اصلاح ارقام و در نهایت شناسایی ارقام متحمل به شوری استفاده کرد.

References

- Caetano Anolles, G. and Gresshoff, P. M. (1994) Staining nucleic acids with silver: An alternative to radioisotopic and fluorescent labeling. *Promege Notes Magazine* 45: 13-21.
- Collard, B. C. Y. and Mackill, D. J. (2008) Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 363(1491): 557-572.
- Colmer, T. D., Flowers, T. J. and Munns, R. (2006) Use of wild relatives to improve salt tolerance in Barley. *Journal of Experimental Botany* 57: 1059-1078.
- 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.
- Etesami, M. V. and Galeshi, S. (2008) Evaluating the reaction of ten barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.) Salinity at germination stage and seedling growth. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 5: 39-46 (in Persian).
- Fakheri, B. and Khalegh Babaki, A. (2014) Study of genomic area mapping controlling the physiological and morphological traits associated with germination of bread wheat. *Iranian Journal of Field Crop Science* 45(1): 119-133 (in Persian).

تعیین‌کننده برای اصلاح و برنامه‌های به‌نژادی استفاده شوند. حضور یک مکان ژنی در شرایط مختلف بیان‌کنندهٔ ثبات ژن است؛ بنابراین به نظر می‌رسد بتوان این مکان‌های ژنی را در زمرهٔ مکان‌های ژنی پایدار و اصلی کنترل‌کنندهٔ صفت‌های موردبررسی محسوب کرد و با اطمینان بیشتر از آنها در برنامهٔ گزینش به کمک نشانگر به‌عنوان مکمل روش‌های اصلاح کلاسیک استفاده کرد؛ هرچند بین سایر مکان‌های ژنی کنترل‌کنندهٔ همین صفت‌ها یا سایر صفت‌ها، مکان‌های ژنی پراثری شناسایی شده‌اند که به یک محیط اختصاص دارند و استفاده از آنها در برنامه‌های به‌نژادی منطقه‌ای مؤثر است.

جمع‌بندی

نتایج تجزیه واریانس نشان دادند اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بین ژنوتیپ‌ها در تمام صفت‌های ارزیابی‌شده در مرحلهٔ جوانه‌زنی مشاهده می‌شود؛ از این رو می‌توان گفت تنوع ژنتیکی مطلوبی بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد. نواحی ژنومی HVM65- و iPBS2077-2-GBMS0183 Bmac0040 به‌علت شناسایی بیشترین مکان ژنی به‌عنوان مهم‌ترین فواصل نشانگری شناسایی شدند. 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. باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، پنج مکان ژنی بزرگ‌اثر به ترتیب در شرایط طبیعی، تنش ۱۲، ۱۵ و ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر شناسایی شدند که بخش

- FAO, Food and Agriculture Organization. Retrieved from <http://faostat.fao.org>. On: 16 May 2013.
- Flowers, T. J. (2004) Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany* 55(396): 307-319.
- Haley, C. S. and Knott, S. A. (1992) A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69(4): 315-324.
- Hussain, H., Al-Jaloud, A. A., Al-Shammary, S. A., Karimulla, S. and Al-Aswad, S. O. (1997) Effect of saline irrigation on germination and growth parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.) in a pot experiment. *Agricultural Water Management* 34: 125-135.
- Kaviani charati, A., Sabouri, H., Falahi, H. A. and Jorjani, E. (2017) QTL mapping of spike characteristics in Barley using F₃ and F₄ families derived from Badia × Komino cross. *Journal of Plant Genetic Research* 3(1): 13-28 (in Persian).
- Kosambi, D. D. (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Annual Eugene* 12(1): 172-175.
- Khalili, M. and Mohammadi, S. A. (2015) Mapping QTLs associated with wheat seed germination under normal and drought stress conditions. *Journal of Crop Biotechnology* 5(9): 1-14.
- 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).
- Liang, C., Lou, Q. J., Sun, Z. X., Xing, Y. Z., Yu, X. Q. and Luo, L. J. (2006) QTL mapping of low temperature on germination rate of rice. *Rice Science* 13: 93-98.
- Maguire, J. D. (1962) Seed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science* 2: 176-177.
- Munns, R. and James, R. A. (2003) Screening methods for salt tolerance: A case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil* 253: 239-250.
- Miura, K., Lin, S. Y., Araki, H., Nagamine, T., Kuroki, M., Shimizu, H., Ando, L. and Yano, M. (2004) Genetical studies on germination of seed and seedling establishment for breeding of improved rice varieties suitable for direct seedling culture. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ* 38: 1-5.
- Mohamadi, S. (2003) Investigation of physiological aspects of production of cold wheat in saline lands. PhD thesis, Islamic Azad University of Science Research Unit, Tehran, Iran (in Persian).
- Nelson, J. (1997) QGENE: Software for marker-based analysis and breeding. *Molecular Breeding* 3: 239-245.
- Rabei, B., Mardani, Z., Ghomi, K., Sabori, H. and Sabori, A. (2014) The Effect of Rice Chromosome 1 on traits associated with drought and salinity tolerance at germination and seedling stages. *Journal of Seed and Plant Seedlings* 30: 1-16 (in Persian).
- Sabouri, H., Biabani, A., Sabouri, A. and Mohammad Esmaili, M. (2010) The study of QTLs related to seed vigour under stress caused to Sorbitol in rice. *Journal of Plant Production* 17(2): 123-136 (in Persian).
- Saghi Maroof, M. A., Biyaoshev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. W. (1994) Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley: Species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91: 5566-5570.
- Shahraki, H., Fakheri, B. A. and Allahdou, M. (2013) Genomic regions mapping for some phenological traits associated with salt tolerance in doubled haploid lines of barley (*Hordeum Vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and*

crop science 67: 403-409 (in Persian).

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.