

مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با جذب و تجمع بُر در بخش هوایی جو در مراحل رویشی و رسیدگی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

Mapping QTLs related to boron uptake and accumulation in shoots of barley at seedling and maturity stages using microsatellite markers

مهری عباس‌زاده^۱، سید ابوالقاسم محمدی^۲، محمد مقدم^۳ و بهزاد صادق‌زاده^۴

چکیده

عباس‌زاده، م.، س. ا. محمدی، م. مقدم و ب. صادق‌زاده. ۱۳۹۲. مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با تجمع بُر در بخش هوایی جو در مراحل رویشی و رسیدگی با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره. مجله علوم زراعی ایران. ۱۵(۱): ۸۸-۷۱.

بُر یکی از ریزمغذی‌های ضروری برای رشد و نمو گیاهان محسوب شده و نقش آن در دیواره سلولی، حفظ فعالیت غشای پلاسمایی و چندین مسیر متابولیتی به خوبی شناخته شده است. در آزمایش حاضر که در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه تبریز اجرا شد، ۱۵۰ لاین هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771، برای شناسایی نواحی ژنومی موثر در کارایی جذب بُر ارزیابی شدند. صفات مورد بررسی شامل میزان و غلظت بُر و وزن خشک تک بوته در مراحل گیاهچه‌ای و رسیدگی در شرایط گلخانه بودند. تجزیه پیوستگی با استفاده از ۱۲۵ نشانگر SSR چند شکل و براساس حداقل LOD برابر با ۳ و حداکثر فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵۰ سانتی‌مورگان انجام شد. نقشه پیوستگی حاصل، ۱۵۲۱/۸ سانتی‌مورگان ژنوم جو را با متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۴/۰۹ سانتی‌مورگان پوشش داد. براساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، QTL۲۳ برای صفات مورد مطالعه مکان‌یابی شد. برای وزن تک بوته، یک و سه، غلظت بُر، شش و پنج و محتوای بُر تک بوته، چهار و چهار QTL به ترتیب در مراحل گیاهچه‌ای و رسیدگی شناسایی شدند. در مجموع، QTL‌های مکان‌یابی شده برای وزن تک بوته، غلظت و محتوای بُر در مرحله گیاهچه‌ای به ترتیب ۲۸، ۶۱ و ۴۰ درصد و در مرحله رسیدگی ۳۴، ۵۱ و ۳۶ درصد تغییرات فنوتیپی صفات را تبیین کردند. برای کلیه صفات مورد ارزیابی، تفکیک متجاوز مشاهده شد که نشان‌دهنده وجود ترکیبات آللی مطلوب والدین در نتاج بود. اثر افزایشی مثبت و منفی برای QTL‌های شناسایی شده بیان‌گر انتقال آلل‌های مطلوب از هر دو والد به نتاج در جایگاه‌های مذکور بود. چهار QTL مشترک برای صفات مورد مطالعه مکان‌یابی گردید که ممکن است ناشی از پیوستگی ژنی یا اثر پلیوتروپیک باشد. نشانگرهای دارای پیوستگی شدید با QTL‌های بزرگ اثر، می‌توانند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر برای گزینش لاین‌های برتر و نیز انتقال آلل‌های مطلوب به ارقام اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اثر پلیوتروپیک، جو، ریزمغذی‌ها، مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب و نشانگرهای SSR.

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۱۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- استاد دانشکده کشاورزی و قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)

(پست الکترونیک: mohammadi@tabrizu.ac.ir)

۳- استاد دانشکده کشاورزی و قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز

۴- استادیار موسسه تحقیقات دیم کشور

مقدمه

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین غلات محسوب شده و رتبه چهارم تولید غلات در جهان را به خود اختصاص داده است. این گیاه دیپلوئید ($2n=2x=14$) بوده و اندازه ژنوم آن $5/3 \times 10^9$ bp/IC است (Ramsay et al., 2000). سطح زیر کشت جهانی جو در سال ۲۰۱۰ برابر ۵۴۰۵۹۷۰۵ هکتار با متوسط عملکرد دانه ۲۸۱۴ کیلوگرم در هکتار و میزان تولید آن ۱۵۲۱۲۵۳۲۹ تن بود. در آسیا و ایران به ترتیب سطح زیر کشت ۱۱۱۶۶۷۶۳ و ۱۶۷۵۶۵۴ هکتار، عملکرد دانه ۱۹۱۲ و ۲۰۵۷ کیلوگرم در هکتار و میزان تولید ۲۱۳۵۴۱۰۳ و ۳۴۴۶۲۳۰ تن گزارش شده است (FAO, 2011).

بُر ریزمغذی ضروری برای رشد و نمو گیاهان آوندی به حساب می‌آید که میزان کم آن باعث کمبود و زیادی آن سبب سمیت در گیاهان می‌شود (Loomis and Durst, 1992). گیاهان بُر را به صورت اسید بوریک از خاک جذب می‌کنند و آن را به وسیله ناقلین فعال موجود در غشای پلازما انتقال می‌دهند (Tanaka and Fujiwara, 2008). اولین ناقل بُر در بخش‌های مختلف گیاهی عبارت از BORI است که برای اولین بار در *Arabidopsis thaliana* شناسایی شد (Takano et al., 2002). وظیفه اصلی بُر هنوز در گیاهان به‌طور کامل شناخته نشده است و به نظر می‌رسد در نگهداری ساختار غشای پلاسمایی نقش مهمی ایفا می‌کند. این عنصر غشای پلاسمایی را در برابر تخریب‌های اکسیژنی ناشی از سمیت انواع مواد اکسیژن‌دار محافظت می‌کند (Cakmak and Romheld, 1997). افزون بر این، بُر نقش مهمی در فرآیندهای جوانه‌زنی دانه‌گرده و طویل شدن لوله‌گرده ایفا می‌کند (Blevins and Lukaszewski, 1998). کمبود بُر موجب نرغیمی در برنج (Garg et al., 1979)، ذرت (Rerkasem and Jamjod, 1981) و جو (Agrawala et al., 1981)

(1989; Ambak and Tadano, 1991) شده است. کاهش عملکرد ۱۳۲ گیاه مختلف در نتیجه کمبود بُر در بیش از ۸۰ کشور جهان در طول ۶۰ سال اخیر گزارش شده است (Shorrocks, 1997).

در مناطق خشک آسیای غربی و شمال آفریقا، سمیت بُر یک مشکل اساسی به شمار می‌آید که در نتیجه آب آبیاری آلوده به پساب‌های صنعتی، باقیمانده‌های حاصل از معادن، خاکستر و مواد شیمیایی صنعتی ایجاد می‌شود (Gupta et al., 1995; Nable et al., 1997). غلظت بالای بُر در خاک، دارای اثر فیتوتوکسیتی است. سمیت بُر موجب کاهش طول ریشه و گسترش بخش هوایی، افزایش جذب بُر در بخش هوایی و یا ریشه، تشدید علائم برگ‌گی، کلروز و نکروزه شدن برگ‌ها و کاهش تولید ماده خشک می‌شود (Power and Woods, 1997; Quinn et al., 2003). اوچیایی و همکاران (Ochiai et al., 2008) سمیت بُر را به عنوان مانعی برای جوانه‌زنی بذور و غلظت بالای بُر را عاملی برای کاهش عملکرد دانستند.

در ایران به دلیل شرایط خشک و نیمه خشک، کمی بارندگی، شرایط آهکی اغلب خاک‌ها، کاهش درصد مواد آلی در خاک‌ها، حلالیت کم عناصر ریزمغذی در pH آهکی، وجود یون‌های کربنات و بی‌کربنات در آب آبیاری و مصرف بالای فسفر، کمبود ریزمغذی‌ها بویژه رُوی، منگنز و بُر در اغلب باغ‌ها و مزارع عمومیت دارد. هر چند که در مناطق جنوبی کشور بالا بودن مقادیر بُر در منابع آبی زیرزمینی می‌تواند به علت سمیت آن عملکرد گیاهان را کاهش دهد (Malakoti and Tehrani, 1999). مطالعات محدودی در رابطه با تاثیر کمبود یا سمیت بُر روی گیاهان در کشور انجام شده است. صدوقی و همکاران (Sadoghi et al., 2008) در آزمایشی تاثیر سطوح صفر، ۲، ۴ و ۶ میلی‌گرم بُر در لیتر آب آبیاری را همراه با سه سطح شوری خاک با هدایت الکتریکی ۰/۴، ۰/۵ و ۹/۰

همکاران (Jefferies *et al.*, 1999) QTL‌هایی را روی کروموزوم‌های 2H، 3H، 4H و 6H برای تحمل به بُر در یک جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو گزارش کردند. هوین و همکاران (Huynh *et al.*, 2009) با استفاده از جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو، حاصل از تلاقی دو رقم Sahara3771 و Clipper، QTL‌هایی را روی کروموزوم‌های 2H، 3H، 5H و 6H برای کاهش غلظت مواد قندی در نوک ریشه تحت سمیت بُر مکان‌یابی نمودند. QTL‌های موجود روی کروموزوم‌های 2H و 4H با بروز علائم برگگی، 6H با جذب بُر، 3H و 5H با طول شدن ریشه مرتبط بودند.

در سایر گیاهان نیز مطالعاتی در رابطه با مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده بُر انجام شده است. جفریز و همکاران (Jefferies *et al.*, 2000) با استفاده از نشانگرهای RFLP و AFLP در ۱۶۱ لاین هاپلوئید مضاعف گندم، حاصل از تلاقی رقم متحمل به سمیت بُر Halberd و رقم نیمه حساس Cranbrook، جایگاه‌هایی را در کروموزوم 7B و 7D مرتبط با بروز علائم برگگی، 7B برای میزان جذب بُر و کاهش اثر سمیت آن در جلوگیری از رشد ریشه شناسایی کردند. لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2009) پنج QTL مرتبط با غلظت B را در اندام‌های هوایی لاین‌های هاپلوئید مضاعف کلزا تحت شرایط عادی و کمبود بُر در شرایط کشت هیدروپونیک مکان‌یابی کردند. زو و همکاران (Xu *et al.*, 2001) در جمعیت F₂ متشکل از ۱۲۸ فرد، حاصل از تلاقی ارقام متحمل و حساس به سمیت بُر (Qingyou10 و Bakow)، یک QTL بزرگ اثر با درجه تبیین فنوتیپی ۶۴ درصد و سه QTL کوچک اثر برای کارایی بُر را گزارش کردند. تاکانو و همکاران (Takano *et al.*, 2006) در آرآیدوپسیس، ژن‌های رمزکننده *AtBOR1* وابسته به خانواده ناقلین بُر را که باعث جذب بُر در شرایط کمبود بُر می‌شود، شناسایی کردند. با توجه به کمبود بُر در اغلب خاک‌های ایران، پژوهش حاضر با هدف شناسایی QTL‌های مرتبط با

دسی‌زیمنس بر متر را در شرایط گلخانه‌ای روی عملکرد دانه جو و جذب عناصر غذایی بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش مقدار بُر آب آبیاری، عملکرد دانه افزایش ولی غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در کلش و دانه جو کاهش یافت. در بررسی اثر باقیمانده کودهای آلی، عناصر بُر و روی بر ویژگی‌های خاک و وزن خشک و ترکیب شیمیایی گندم، از کمپوست زباله شهری و کود گاوی در مقادیر ۲۵ تن در هکتار، روی در دو سطح صفر و ۵۰ کیلوگرم در هکتار و بُر در دو سطح صفر و ۱۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. نتایج نشان داد که تیمار ۱۰ کیلوگرم در هکتار بُر سبب افزایش ۲ درصدی آهن، ۱/۴ درصدی مس و ۶۵/۶ درصدی میزان بُر دانه گندم گردید (Nejad-Hosseini and Astarai, 2010).

شناسایی مکان‌های ژنی دخیل در تجمع و تحمل به سمیت بُر، گام اساسی در اصلاح و تولید ارقام متحمل به شمار می‌آید. ساتون و همکاران (Sutton *et al.*, 2007) ژن *Bot1* را روی کروموزوم 4H جو به‌عنوان اولین ژن کنترل‌کننده تحمل به سمیت بُر شناسایی کردند. اشنوربوش و همکاران (Schnurbusch *et al.*, 2010) ژن رمزکننده *HVNIP2;1* را که موجب تحمل به سمیت بُر در جو می‌شود، مکان‌یابی و عنوان کردند که جهش در این ژن باعث کاهش تجمع بُر در برگ در مقایسه با نوع وحشی از طریق کاهش بیان *HVNIP2;1* می‌شود. مک دونالد و همکاران (McDonald *et al.*, 2010) ژن‌های مرتبط با تحمل به بُر را در لاین‌های بک کراس حاصل از تلاقی Sahara3771 با دو والد تکراری Sloop و VB9104 روی کروموزوم‌های 2H و 4H شناسایی کردند. لونرگان و همکاران (Lonergan *et al.*, 2009) در بررسی اثر سمیت بُر در لاین‌های هاپلوئید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper، QTL‌هایی را در رابطه با تجمع بُر روی بازوی بلند کروموزوم‌های 4H و 6H با تبیین ۸۰ درصد واریانس فنوتیپی مکان‌یابی کردند. جفریز و

گلدان تقلیل یافت و به منظور کاهش تاثیر میکروکلیمای داخل گلخانه، محل گلدان‌ها هر روز به صورت تصادفی تغییر داده شد. آبیاری هر روز تا سقف ۹۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای انجام و نیاز آبی با توزین گلدان‌ها با آب دیونیزه تامین شد. برای جلوگیری از هر نوع آلودگی احتمالی، کلیه مراحل آزمایش در محیط‌های عاری از آلودگی به عناصر رُوی و بُر اجرا گردید و تمامی ظروف مورد استفاده با اسید شستشو داده شدند.

برای اندازه‌گیری غلظت بُر در مرحله پنج برگی، چهار بوته از هر گلدان برداشت و پس از شستشو با آب دیونیزه و آب دوبار دیونیزه، در آن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک شد. بعد از توزین، نمونه‌ها در آسیاب پودر شدند. سپس ۰/۵ گرم از هر نمونه در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در کوره به مدت ۱۴ ساعت به خاکستر تبدیل شد. خاکستر حاصل از هر ژنوتیپ در ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک به مدت ۳۰ دقیقه حل شد. محلول حاصل بعد از ته‌نشینی مواد ریزمعلق (بعد از یک روز) توسط دستگاه ICP-MS برای تعیین میزان عناصر قرائت شد. اندازه‌گیری غلظت بُر در مرحله رسیدگی کامل روی سه بوته، پس از جداسازی سنبله‌ها، مانند مرحله پنج برگی صورت گرفت (Sadeghzadeh, 2008). محتوای بُر در هر دو مرحله از حاصل ضرب وزن خشک تک بوته در غلظت بُر آن محاسبه شد. علاوه بر این صفات، وزن خشک تک بوته نیز در مرحله گیاهچه‌ای و رسیدگی اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی ژنوتیپی

برای استخراج DNA، نمونه برگی از ۱۵ بوته از هر لاین و والدین برداشت و DNA از نمونه‌های ادغام شده هر لاین به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1984) استخراج گردید. کمیت و کیفیت نمونه‌ها با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتر تعیین شد.

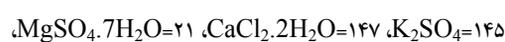
کارایی جذب بُر براساس میزان و غلظت بُر در بخش هوایی جو در مراحل گیاهچه‌ای و رسیدگی در جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی

این آزمایش در سال ۱۳۸۹ در آزمایشگاه ژنومیکس و اصلاح نباتات مولکولی دانشگاه تبریز اجرا شد، مواد گیاهی مورد استفاده شامل جمعیت مرکب از ۱۵۰ لاین هاپلوئید مضاعف جو، حاصل از تلاقی دو رقم Sahara3771 و Clipper بود که از دانشگاه استرالیای غربی دریافت گردید. Sahara3771 رقم بومی زمستانه، متحمل به سمیت بُر و نیز با کارایی بالای بُر، شش ردیفه، پابند و مقاوم به شوری با منشاء الجزایر است. Clipper رقم بهاره، حساس به سمیت و کارایی پایین جذب بُر، اصلاح شده در استرالیا، دو ردیفه و حساس به شوری است.

ارزیابی‌های فنوتیپی در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. افراد جمعیت هاپلوئید مضاعف به همراه والدین در گلدان‌هایی به ابعاد ۲۰۰×۷۰×۷۰ میلی‌متر حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک شنی بسیار فقیر از لحاظ مواد غذایی با $pH=6/1$ ، ۱/۲ درصد مواد آلی، ۳/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم فسفر، ۰/۰۴ میلی‌گرم در کیلوگرم Zn و ۰/۱۲ میلی‌گرم در کیلوگرم بُر کشت شدند. مقدار بُر کمتر از مقدار بهینه آن تعیین گردید تا تفاوت کارایی والدین در جذب این عنصر مشخص شود. برای رشد عادی گیاهان تا رسیدگی کامل، مواد غذایی لازم شامل $KH_2PO_4=9$ ،



(میلی‌گرم در کیلوگرم) به خاک اضافه شد. نیتروژن مورد نیاز گیاهان نیز هر دو هفته یک بار تأمین گردید. در مرحله دو برگی تعداد بوته‌ها به هفت بوته در هر

حداقل LOD برابر با ۳ و حداکثر فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵۰ سانتی مورگان با استفاده از نرم افزار MapDisto (Lorieux, 2007) انجام شد. با در نظر گرفتن حداقل LOD برابر ۳ با استفاده از برنامه QTL Carthographer ver 2.5 (Wang et al., 2005) صورت گرفت. برای شناسایی شده اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی صفت محاسبه شد.

نتایج و بحث

توزیع فنوتیپی صفات مورد مطالعه در جمعیت

بین لاین‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود داشت. وزن خشک تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای در محدوده ۰/۳۷-۰/۲۴ با میانگین ۰/۲۹ گرم بود. ارقام Clipper و Sahara 3771 به ترتیب وزن خشک تک بوته ۰/۳۱ و ۰/۲۵ گرم داشتند و اختلاف بین میانگین والدین معنی‌دار بود (LSD_{0.05}=۰/۰۴). میانگین وزن خشک تک بوته در مرحله رسیدگی، ۱/۳۰ گرم با دامنه تغییرات ۲/۶۵-۰/۸۵ گرم بود. در این مرحله بین Clipper (۱/۲۸ گرم) و Sahara3771 (۱/۲۲ گرم) تفاوت معنی‌داری از نظر وزن خشک تک بوته مشاهده نشد (LSD_{0.05}=۰/۱۶). غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای، در محدوده ۵/۵۳ تا ۱۸/۰۵ با میانگین ۹/۹۹ میلی گرم در کیلوگرم به دست آمد. در والد Clipper، غلظت بُر ۹/۱ و در والد Sahara 3771 ۸/۵۵ میلی گرم در کیلوگرم بود، ولی اختلاف میانگین آن‌ها معنی‌دار نبود (LSD_{0.05}=۳/۰۸). غلظت بُر در مرحله رسیدگی، از ۹/۱۲ تا ۲۱/۴۶ با میانگین ۱۴/۱۰ میلی گرم در کیلوگرم متغیر بود. ارقام Clipper و Sahara3771 به ترتیب دارای ارزش‌های ۱۶/۶۰ و ۱۲/۴۱ میلی گرم در کیلوگرم برای این صفت بودند و از این نظر بین آنها تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (LSD_{0.05}=۲/۴۹). محدوده محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای در افراد جمعیت بین ۱/۵۶ تا ۴/۷۶

چندشکلی والدین با ۲۸ جفت آغازگر ریزماهواره ارزیابی و ۱۲۶ جفت آغازگر چند شکل با الگوی نواری مناسب شامل ۷۷ جفت آغازگر EBmac, Bmac و EBmatc (Ramsay et al., 2000)، ۶ جفت آغازگر GMS (Struss and Plieske, 1998)، ۴ جفت آغازگر GBMS (Li et al., 2003)، ۹ جفت آغازگر HVM (Saghai Maroof et al., 1994)، ۱۵ جفت آغازگر GBM (Thiel et al., 2003)، ۳ جفت آغازگر scssr (Ramsay et al., 2004)، ۷ جفت آغازگر Hv (Pillen et al., 2000)، ۳ جفت آغازگر WMC1E8 و TacMAD برای غربال جمعیت استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای اختصاصی آن‌ها به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ سانتیگراد به مدت یک دقیقه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ سانتیگراد بود. محصولات تکثیر به کمک الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید ۴ درصد در دستگاه ژل اسکن مدل ۳۰۰۰ (Corbet, Australia) تفکیک شد.

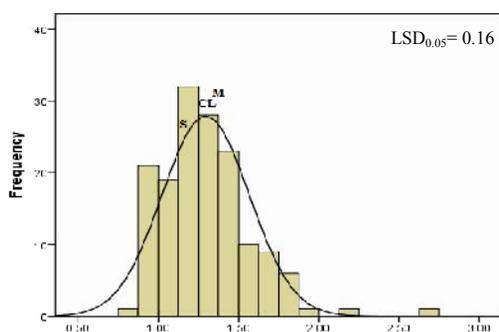
تجزیه‌های آماری

الگوی نواری نشانگرهای چندشکل در جمعیت به صورت A برای افراد مشابه با والد Clipper و B برای افراد مشابه با والد Sahara3771 امتیازدهی شد. در صورت تکثیر یک نشانگر در یک والد و عدم تکثیر آن در والد دیگر از سیستم امتیازدهی A-C و B-D استفاده شد. الگوی نواری ارقام والدینی Clipper و Sahara3771 و تعدادی از لاین‌های هاپلوئید مضاعف در جایگاه ریزماهواره scssr07759 در شکل یک نشان داده شده است. تجزیه پیوستگی پس از آزمون انحراف از نسبت مندلی ۱:۱، با در نظر گرفتن

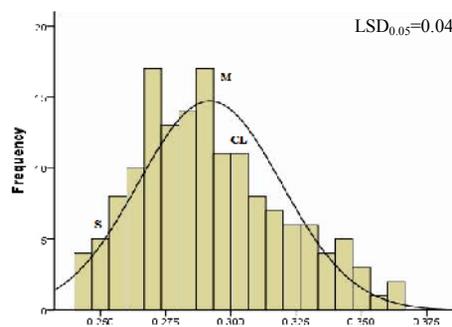


شکل ۱- الگوی نواری ارقام Clipper و Sahara3771 و تعدادی از لاین های هاپلوئید مضاعف جو در جایگاه ریزماهواره scs07759. S: Sahara3771 و CL: Clipper

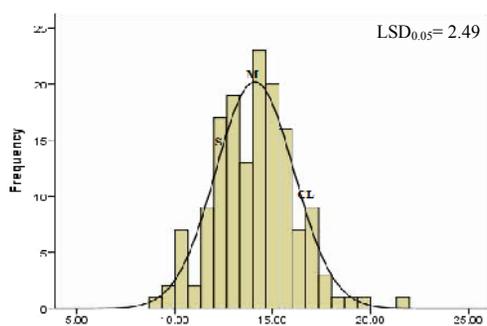
Fig. 1. Banding pattern of Clipper and Sahara3771 barley varieties and some doubled haploid lines in scs07759 microsatellite locus. S: Sahara3771; CL: Clipper



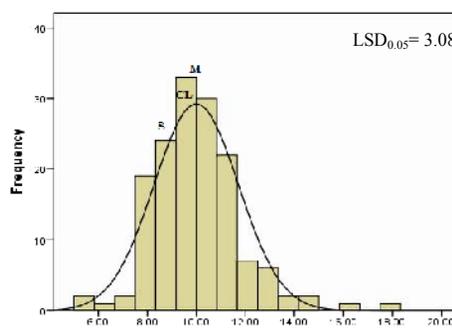
وزن خشک تک بوته لاین های جو در مرحله رسیدگی
Plant dry weight of barley lines at maturity stage



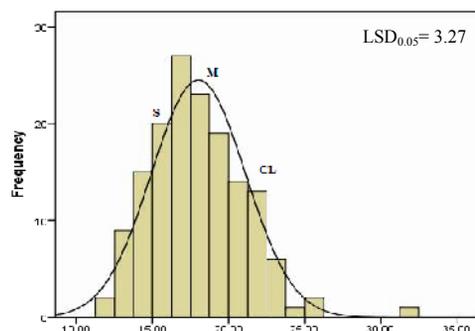
وزن خشک تک بوته لاین های جو در مرحله پنج برگی
Plant dry weight of barley lines at five-leaf stage



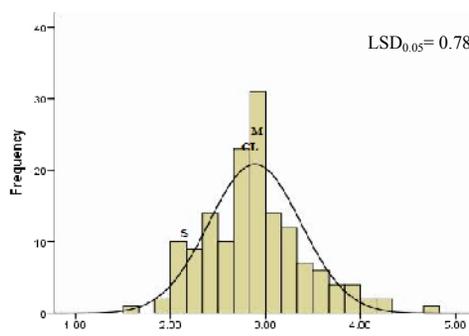
غلظت بُر لاین های جو در مرحله رسیدگی
Boron concentration of barley lines at maturity stage



غلظت بُر لاین های جو در مرحله پنج برگی
Boron concentration of barley lines at five-leaf stage



محتوای بُر تک بوته لاین های جو در مرحله رسیدگی
Boron content (plant⁻¹) of barley lines at maturity stage



محتوای بُر تک بوته لاین های جو در مرحله پنج برگی
Boron content (plant⁻¹) of barley lines at five-leaf stage

شکل ۱- توزیع فنوتیپی صفات گیاهی در لاین های هاپلوئید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771 در مراحل پنج برگی و رسیدگی. M: میانگین جمعیت، S: میانگین Sahara 3771 و CL: میانگین Clipper

Fig. 1. Phenotypic distribution of plant characteristics in barley double haploid lines derived from the Clipper and Sahara3771 cultivars cross at five-leaf and maturity stages. M: population mean, S: Sahara3771 and CL: Clipper means

جدول ۱- جایگاه، فاصله از نشانگر سمت چپ، کروموزوم، LOD، اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فنوتیپی QTLهای مرتبط با صفات گیاهی جمعیت لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو

Table 1. Locus, distance from the left marker, chromosome, LOD, additive effect and percentage of phenotypic variance determination of QTLs related to plant characteristics in barley double haploid lines population

Trait	صفت	نشانگرهای مجاور Flanking markers	فاصله از نشانگر چپ (cM) Distance from the left marker	کروموزوم Chromosome	LOD	اثر افزایشی Additive effect	اثر QTL QTL effect (%)
Plant dry weight (plant ⁻¹) of barley lines at five-leaf stage	وزن خشک تک بوته لاین‌های جو در مرحله پنج‌برگی	GBM1363-GBMS141	2.55	5	11.54	-0.015	28
Plant dry weight (plant ⁻¹) of barley lines at maturity stage	وزن خشک تک بوته لاین‌های جو در مرحله رسیدگی	Bmac0125-Bmag0378	0.03	2	12.72	-0.13	22
		Bmag0347-EBmac0695	0.56	1	3.95	0.06	5
		EBmac0695-Bmag0345	0.60	1	4.67	0.06	7
		Bmac0096-Bmac0163	0.81	5	4.30	-0.5	8
Boron concentration of barley lines at five-leaf stage	غلظت بُر لاین‌های جو در مرحله پنج‌برگی	Bmac0163-Bmac0306	0.91	5	3.14	-0.47	7
		Bmag0812-GBM1363	2.31	5	7.55	0.7	15
		GBMS180-Bmag0496	0.58	6	4.67	-0.54	8
		EBmac0874(c)-EBmac0874(a)	0.70	6	4.87	-0.55	8
		EBmac0679-TacMAD	1.24	4	8.03	-0.72	15
		HVM60-Bmag0603	0.60	3	3.60	-0.67	11
Boron concentration of barley lines at maturity stage	غلظت بُر لاین‌های جو در مرحله رسیدگی	Bmac0125-Bmag0378	0.02	2	5.36	0.73	12
		Bmac0096-Bmac0163	0.82	5	3.77	-0.61	9
		Bmac0306-MGB384	1.01	5	4.49	-0.7	11
		TacMAD-Bmag0419	1.41	4	3.66	-0.6	8
		Bmac0125-Bmag0378	0.01	2	3.20	0.12	5
Boron content (plant ⁻¹) of barley lines at five-leaf stage	محتوای بُر تک بوته لاین‌های جو در مرحله پنج‌برگی	Bmac0096-Bmac0163	0.84	5	4.30	-0.16	9
		EBmac0874(c)-EBmac0874(a)	0.70	6	6.35	-0.20	12
		TacMAD-Bmag0419	1.33	4	5.71	-0.20	14
Boron content (plant ⁻¹) of barley lines at maturity stage	محتوای بُر تک بوته لاین‌های جو در مرحله رسیدگی	Bmac0125-Bmag0378	0.02	2	4.87	-1.13	10
		Bmag0140-Bmag0813	0.48	2	3.48	-0.92	7
		Bmag0347-EBmac0695	0.57	1	4.48	0.88	8
		HVM03-GBM1509	0.63	4	3.88	1.60	11

طول ۱۱۹/۹ سانتی‌مورگان و کروموزوم ۲ با ۱۸ نشانگر و طول ۲۹۰/۴ سانتی‌مورگان بود. در کروموزوم ۳ (دو گروه پیوستگی) و ۴ به ترتیب ۲۲ و ۱۷ نشانگر قرار داشتند و نقشه‌ای به طول ۲۰۳/۵ و ۱۶۳/۴ سانتی‌مورگان ایجاد کردند. کروموزوم ۵ (دو گروه پیوستگی) شامل ۱۸ نشانگر با طول ۲۷۶/۸ سانتی‌مورگان و کروموزوم ۶ با طول ۸۲/۲ سانتی‌مورگان شامل ۱۳ نشانگر بود. در کروموزوم ۷، با طول ۳۸۵/۶ سانتی‌مورگان، ۲۱ نشانگر ریزماهواره قرار داشت.

تجزیه QTL

وزن خشک تک بوته در مراحل گیاهچه‌ای و رسیدگی
با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب یک QTL برای وزن تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای بین نشانگرهای GBMS141 و GBM1363 در کروموزوم ۵ مکان‌یابی شد که ۲۸ درصد واریانس فنوتیپی صفت را تبیین کرد. اثر افزایشی منفی این QTL نشان دهنده توارث آلل مطلوب در این جایگاه از والد Sahara3771 به نتاج بود. در مرحله رسیدگی، سه QTL برای وزن تک بوته شناسایی شد که دو و یک QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 1H و 2H قرار داشتند. QTL واقع در کروموزوم 2H با تبیین ۲۲ درصد تغییرات وزن خشک تک بوته بین نشانگرهای Bmac0125 و Bmag0378 قرار داشت و دارای اثر افزایشی منفی بود. در کروموزوم 1H، QTL واقع بین نشانگرهای EBmac0695 و Bmag0347، پنج درصد و QTL مکان‌یابی شده در حد فاصل نشانگرهای EBmac0695 و Bmag0345، هفت درصد تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کردند و هر دو دارای اثر افزایشی مثبت بودند. سه QTL در مجموع ۳۴ درصد از تغییرات فنوتیپی وزن خشک تک بوته در مرحله رسیدگی را تبیین کردند (جدول ۱).

جفریز و همکاران (1999) یک QTL روی کروموزوم 4H که با نشانگر ریزماهواره

میکروگرم با میانگین ۲/۸۹ میکروگرم متغیر بود و بین لاین‌ها تفاوتی در حدود ۳/۲ میکروگرم وجود داشت. محتوای بُر در والد Clipper، ۲/۸۴ و در Sahara 3771 ۲/۱۰ میکروگرم بود و اختلاف بین میانگین دو والد معنی‌دار نشد ($LSD_{0.05}=0.78$). محدوده محتوای بُر تک بوته در مرحله رسیدگی در افراد جمعیت بین ۱۱/۶۱ تا ۳۱/۳۲ با میانگین ۱۷/۹۵ میکروگرم متغیر بود و بین لاین‌ها تفاوتی در حدود ۲۰ میکروگرم وجود داشت. والد Clipper با محتوای بُر تک بوته برابر با ۲۱/۲۰ و Sahara3771 با ۱۵/۱۸ میکروگرم تفاوت معنی‌دار داشتند ($LSD_{0.05}=3.27$). برای هر سه صفت مورد بررسی در جمعیت، تفکیک متجاوز مشاهده شد (شکل ۲) که نشان‌دهنده وجود ترکیب آلل‌های والدینی مناسب در نتاج بود.

لونرگان و همکاران (2009) (Lonergan et al.)، غلظت بُر بخش هوایی در مرحله رویشی را پس از ۲۸ روز رشد برای لاین‌های هاپلوئید مضاعف جو در محدوده ۲/۵ تا ۱۱/۵ و برای ارقام Sahara3771 و Clipper به ترتیب ۳/۵ و ۹/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم گزارش کردند. جفریز و همکاران (1999) (Jefferies et al.) نیز در همین جمعیت، غلظت بُر بخش هوایی را در محدوده ۶۱۰-۹۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و در ارقام Sahara 3771 و Clipper به ترتیب ۹۱ و ۵۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آوردند. نسیم (2010) (Nasim) بیان کرد که در سطوح مختلف Zn و B، غلظت بُر در بخش هوایی رقم Clipper به‌طور معنی‌داری بیشتر از Sahara 3771 است.

تجزیه پیوستگی

تجزیه پیوستگی، ۱۲۱ نشانگر را به ۱۰ گروه پیوستگی متعلق به ۷ کروموزوم جو با طول نقشه برابر با ۱۵۲۱/۸ سانتی‌مورگان و فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۴/۰۹ سانتی‌مورگان منتسب کرد و پنج نشانگر در هیچ گروهی قرار نگرفتند. کروموزوم ۱ (دو گروه پیوستگی) شامل ۱۲ نشانگر با

داده شده است.

در آزمایش‌های دیگر نیز QTL‌هایی برای غلظت بُر روی کروموزوم‌های 2H (Jenkin, 1993; Jefferies *et al.*, 2010) و 4H (Sutton *et al.*, 2007; 2010) شناسایی شده است (McDonald *et al.*, 2010; Lonergan *et al.*, 2009). جفریز و همکاران (Jefferies *et al.*, 1999) گزارش کردند که وجود آلل Sahara در کروموزوم 4H (پیوسته با نشانگر WG114) باعث کاهش ۶۴ درصد غلظت بُر در بخش هوایی نسبت به افراد حامل آلل Clipper می‌شود. همچنین ۳۱ درصد کاهش غلظت بُر بخش هوایی در نتیجه حضور آلل والد Sahara در جایگاه کروموزوم 6H (Amy-1(A)) عنوان شد. افراد دارای آلل Sahara در هر دو مکان 4H و 6H حدود ۷۶ درصد کاهش غلظت بُر را نسبت به افراد دارای آلل Clipper در هر دو مکان نشان دادند. در کلیه جایگاه‌های شناسایی شده آلل مطلوب برای تحمل به بُر از Sahara به نتاج منتقل شد و جایگاه کروموزوم 4H نسبت به جایگاه 6H اثر بیشتری در کنترل غلظت بُر داشت.

محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و رسیدگی

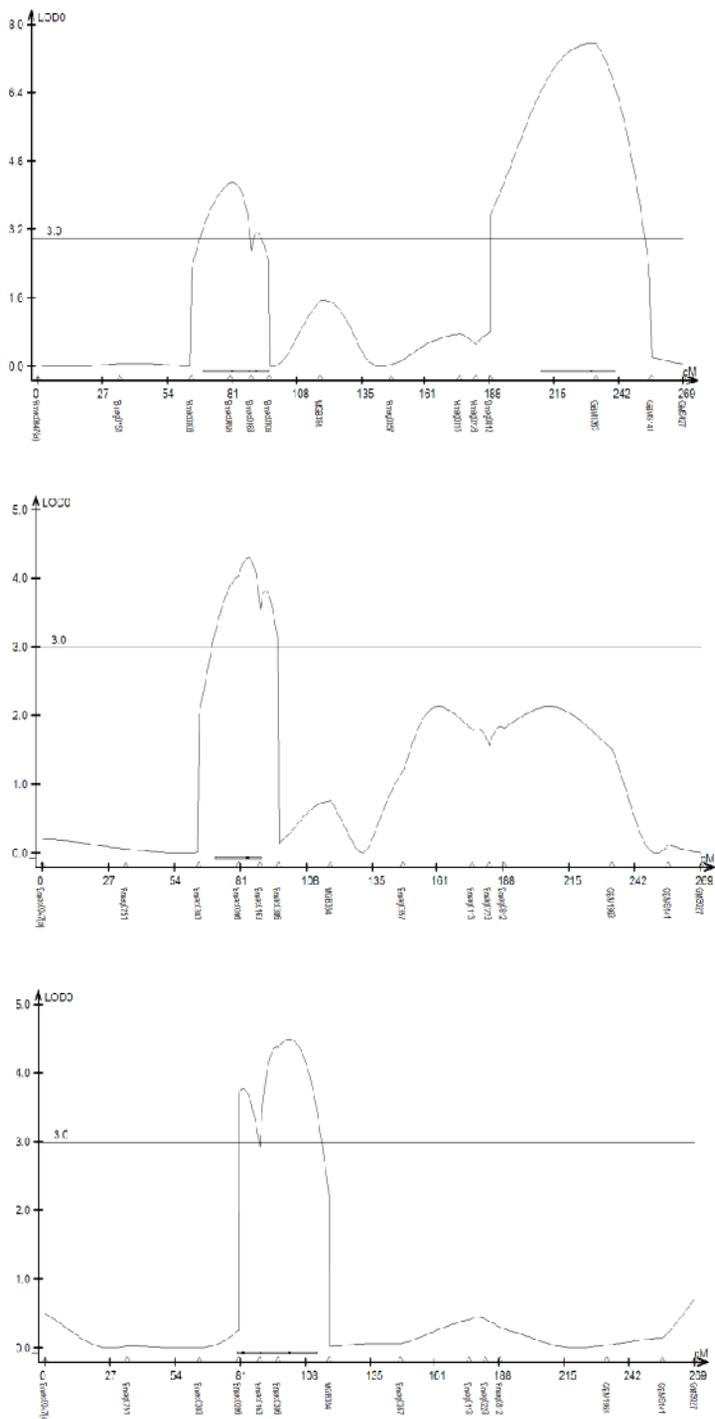
در مرحله گیاهچه‌ای چهار QTL برای محتوای بُر تک بوته شناسایی شد که در کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 6H قرار داشتند. در کروموزوم 2H، QTL بین نشانگرهای Bmac0125 و Bmag0378، با پنج درصد تبیین تغییرات فنوتیپی دارای اثر افزایشی مثبت بود، بنابراین آلل مطلوب در این جایگاه از والد Clipper به نتاج منتقل شده است. سه QTL دیگر به ترتیب بین نشانگرهای «Bmac0096» و «Bmac0163»، «EBmac0874(c)» و «EBmac0874(a)» و «TacMAD» در کروموزوم‌های 5H، 6H و 4H مکان‌یابی شدند که ۹، ۱۲ و ۱۴ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کردند و دارای اثر افزایشی منفی بودند. بنابراین، آلل مطلوب در این جایگاه‌ها از والد Sahara 3771 به ارث رسید. این QTL‌ها در مجموع ۴۰ درصد

پیوسته بود، در تلاقی ارقام Sahara3771 و Clipper برای تغییرات وزن خشک کل بخش هوایی شناسایی کردند که ۳۴ درصد از تغییرات صفت را تبیین کرد. آن‌ها گزارش کردند که آلل مطلوب در این جایگاه از والد Sahara3771 به نتاج منتقل شده است و نتاج دارنده این آلل در مجموع ۲ درصد وزن خشک بخش هوایی بیشتری در مقایسه با افراد دارای آلل Clipper بودند.

غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای و رسیدگی

برای غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای، شش QTL شناسایی شد که ۳، ۲ و ۱ QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 5H، 6H و 4H قرار داشتند. این QTL‌ها در مجموع ۶۱ درصد از واریانس فنوتیپی غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای را تبیین کردند. QTL‌های واقع بین نشانگرهای "Bmag0812" و "GBM1363" و بین "EBmac0679" و "TacMAD" به ترتیب در کروموزوم 5H و 4H با ۱۵ درصد تبیین واریانس فنوتیپی بیشترین اثر را بین QTL‌ها داشتند. از شش QTL شناسایی شده، پنج QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که نشان دهنده توارث آلل افزایش‌دهنده غلظت بُر در این جایگاه‌ها از والد Sahara3771 به نتاج بود. در مرحله رسیدگی، پنج QTL شناسایی شد که ۱، ۱، ۲ و ۱ QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 2H، 3H، 5H و 4H واقع شدند. این QTL‌ها در مجموع ۵۱ درصد از واریانس فنوتیپی غلظت بُر در مرحله رسیدگی را تبیین کردند. QTL واقع در میان نشانگرهای Bmac0125 و Bmag0378 در کروموزوم 2H با ۱۲ درصد تبیین واریانس فنوتیپی بیشترین اثر را بین QTL‌ها داشت. اثر افزایشی این QTL مثبت بود، بنابراین آلل افزایش‌دهنده غلظت بُر در این جایگاه از والد Clipper به نتاج رسیده است. از پنج QTL شناسایی شده، چهار QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که نقش بیشتر والد Sahara3771 در تجمع بُر در مرحله رسیدگی را بیان می‌دارد (جدول ۱). نمونه‌ای از منحنی LOD، QTL‌های مکان‌یابی شده در شکل ۳ نشان

" مکان یابی QTL های مرتبط با تجمع بُر در بخش هوایی"



شکل ۳- منحنی LOD برای QTL های مکان یابی شده الف) غلظت بُر (کروموزوم 5H) و ب) محتوای بُر (کروموزوم 6H) در مرحله گیاهچه ای و ج) غلظت بُر در مرحله رسیدگی (کروموزوم 5H) در جمعیت لاین های هاپلوئید مضاعف جو
 Fig. 3. LOD plot of the QTLs detected for a) boron concentration (chromosome 5H) and b) boron content (chromosome 6H) at seedling stage and c) boron concentration (chromosome 5H) at maturity stage in barley double haploid lines population

اشنوربوش و همکاران (Schnurbusch *et al.*, 2010) نشان دادند که آلل Sahara روی کروموزوم 6H به تنهایی باعث تحمل به بُر شده و همراه با آلل 4H (Bot1) موجب کاهش تجمع بُر در برگ تا ۴۰ درصد می‌شود. ریلی (Riley, 1987) نشان داد که غلظت بُر در جو می‌تواند افزایش یابد بدون آن که کاهش معنی‌داری در رشد گیاه و ظهور علائم سمیت در گیاه مشاهده شود. در واقع همبستگی بین وزن خشک تک بوته و غلظت بُر بخش هوایی زمانی رخ می‌دهد که غلظت بُر از ۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم فراتر رود. در آزمایش‌های مختلف بین غلظت بُر و وزن خشک بخش هوایی و عملکرد دانه جو همبستگی منفی گزارش شده است (Kluge and Podlesak, 1985; Jefferies *et al.*, 1999; Reid, 2007).

QTLهای مشترک برای صفات مورد مطالعه

جایگاه کروموزومی QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مورد مطالعه در شکل ۴ ارائه شده است. مقایسه جایگاه کروموزومی QTLها نشان داد از ۲۳ QTL شناسایی شده در مرحله گیاهچه‌ای و رسیدگی، برخی دارای مکان کروموزومی مشترک بودند. این موضوع احتمالاً به دلیل پیوستگی ژنتیکی و یا اثر پلیوتروپیک ژنی است. ناحیه بین نشانگرهای Bmac0125 و Bmag0378 در کروموزوم 2H حامل QTLهای وزن تک بوته در مرحله رسیدگی و محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و غلظت و محتوای بُر تک بوته در مرحله رسیدگی بود. در کروموزوم 5H بین نشانگرهای Bmac0096 و Bmac0163، QTLهایی برای غلظت و محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و غلظت بُر در مرحله رسیدگی مکان‌یابی شد. در ناحیه بین نشانگرهای EBmac0874(a) و EBmac0874(c) در کروموزوم 6H، QTLهای غلظت و محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای قرار داشتند. بین نشانگرهای TacMAD و Bmag0419 در کروموزوم 4H، QTLهای محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و غلظت بُر

از تغییرات محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای را تبیین کردند. در مرحله رسیدگی نیز چهار QTL شناسایی شدند که ۱، ۲ و ۱ QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 1H، 2H و 4H قرار داشتند. در کروموزوم 1H، QTL واقع بین نشانگرهای Bmag0347 و EBmac0695، ۸ درصد تغییرات فنوتیپی صفت را تبیین کرد و اثر افزایشی مثبت داشت. در کروموزوم 2H، دو QTL به ترتیب بین نشانگرهای «Bmac0125 و Bmag 0378» و «Bmag0140 و Bmag0813» با تبیین ۱۰ و ۷ درصد از تغییرات فنوتیپی دارای اثر افزایشی منفی بودند. در کروموزوم 4H نیز یک QTL بین نشانگرهای HVM03 و GBM1509 مکان‌یابی شد که ۱۱ درصد از تغییرات فنوتیپی را تبیین کرد و دارای اثر افزایشی مثبت بود. چهار QTL در مجموع ۳۶ درصد از تغییرات محتوای بُر تک بوته در مرحله رسیدگی را تبیین کردند (جدول ۱).

جفریز و همکاران (Jefferies *et al.*, 1999)، ساتون و همکاران (Sutton *et al.*, 2007) و مک دونالد و همکاران (McDonald *et al.*, 2010) نیز QTLهای مرتبط با کنترل تجمع بُر را در کروموزوم 4H جو مکان‌یابی کردند. پائول (Paull, 1990) کروموزوم‌های گروه همولوگ ۴ و ۷ گندم را مسئول تحمل به بُر گزارش کردند. بنابراین، ممکن است نواحی ژنومی مشترکی در جو و گندم تحمل به بُر را کنترل کنند. جنکین (Jenkin, 1993) QTLهایی در کروموزوم‌های 2HL و 7HS، مرتبط با تحمل به بُر را از طریق ارزیابی علائم برگی و عملکرد در دانه جو شناسایی و گزارش کرد که حداقل سه ژن بزرگ اثر از والد Sahara و دو ژن از والد CM72 در تحمل به بُر موثر هستند. مک دونالد و همکاران (McDonald *et al.*, 2010) نیز QTLهایی را روی کروموزوم‌های 2H و 4H در رابطه با تحمل به سمیت بُر مکان‌یابی کردند و نشان دادند که حضور آلل‌های Sahara روی این کروموزوم‌ها باعث کاهش بیان علائم سمیت و تجمع بُر می‌شود.

در مرحله رسیدگی شناسایی شدند.

بود که والدین حاضر می‌توانند در برنامه‌های اصلاح جو ایران جهت افزایش کارایی جذب بُر، استفاده شوند. برخی از QTL‌های شناسایی شده با تبیین درصد بالاتری از تغییرات فنوتیپی صفات مورد مطالعه به عنوان QTL بزرگ اثر شناخته شدند که نشانگرهای پیوسته با این QTL‌ها می‌توانند در برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگر جهت گزینش لاین‌های برتر و انتقال آلل‌های مطلوب استفاده گردند.

نتیجه‌گیری

اغلب مطالعات انجام شده در رابطه با بُر برای حل مشکل سمیت بُر می‌باشد، ولی به توجه به کمبود بُر در اغلب خاک‌های کشور، هدف مطالعه حاضر شناسایی جایگاه‌های ژنومی موثر در کارایی جذب بُر بود. وجود تفکیک متجاوز برای کلیه صفات مورد مطالعه نشان‌دهنده ترکیب آلل‌های مطلوب والدین در برخی از نتایج بود که می‌تواند برای اهداف اصلاحی بعدی و یا گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب استفاده شود. شناسایی QTL‌هایی با اثرهای افزایشی مثبت و منفی، بیانگر انتقال آلل‌های مطلوب در این جایگاه‌ها از هر دو والد به نتایج

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشگاه تبریز و در آزمایشگاه ژنومیکس و اصلاح نباتات مولکولی انجام شده است.

References

منابع مورد استفاده

- Agrawala, S. C., P. N. Sharma, C. Chatterjee and C. P. Sharma. 1981. Development and enzymatic change during pollen development in boron deficiency maize plants. *J. Plant Nutr.* 3: 329-336.
- Ambak, K. and T. Tadano. 1991. Effect of micronutrient application on the growth and occurrence of sterility in barley and rice in a Malaysian deep peat soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37: 715-724.
- Blevins, D. G. and K. M. Lukaszewski. 1998. Boron in plant structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 49: 481-500.
- Cakmak, I. and V. Romheld. 1997. Boron deficiency induced impairments of cellular functions in plants. *Plant Soil.* 193: 71-83.
- FAO. 2011. FAOSTAT. www.fao.org.com.
- Garg, O. K., A. N. Sharma and G. R. S. S. Kona. 1979. Effect of boron on the pollen vitality and yield of rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant Soil.* 52: 591-594.
- Gupta, U. C., Y. M. Jame, C. A. Campbell, A. J. Leyshon and W. Nicholaichuk. 1995. Boron toxicity and deficiency: A review. *Can. J. Soil Sci.* 65: 381-409.
- Huynh, B. L., M. Pallotta, E. Y. Choi, T. Garnett, R. Graham and J. Stangoulis. 2009. Quantitative trait loci for reducing sugar concentration in the barley root tip under boron toxicity. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*. UC Davis., USA. <http://scholarship.org/uc/item/7d49s8vk>.
- Jefferies, S. P., A. R. Bar, A. Karakousis, J. M. Krestschmer, S. Manning, K. J. Chalmers, J. C. Nelson, A. K. M. R. Islam and P. Longridge. 1999. Mapping of chromosome regions conferring boron toxicity tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Appl. Genet.* 98: 1293-1303.

- Jefferies, S. P., M. A. Pallotta, J. G. Paull, A. Karakousis, J. M. Krestschmer, S. Manning, A. K. M. R. Islam, P. Longridge and K. J. Chalmers. 2000.** Mapping and validation of chromosome regions conferring boron toxicity tolerance in wheat (*Triticum aestivum*). *J. Appl. Genet.* 101: 767-777.
- Jenkin, M. J. 1993.** The genetics of boron tolerance in barley. MSc. thesis. Department of Plant Science, Wait Agricultural Research Institute, University of Adelaide. Australia.
- Kluge, R. and W. Podlesak. 1985.** Plant critical levels for the evaluation of boron toxicity in spring barley (*Hordeum vulgare L.*). *Plant Soil.* 83: 381-388.
- Li, J. Z., T. G. Sjakste, M. S. Roder and M.W. Ganal. 2003** Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. *Theor. Appl. Genet.* 107:1021-1027.
- Liu, J., J. Yang, R. Li, L. Shi, Ch. Zhang, Y. Long, F. Xu and J. Meng. 2009.** Analysis of genetic factors that control shoot mineral concentrations in rapeseed (*Brassica napus L.*) in different boron environments. *Plant Soil.* 320: 255-266.
- Lonergan, P. F., M. A. Pallotta, M. Lorimer, J. G. Paull, S. J. Barker and R. D. Graham. 2009.** Multiple genetic loci for zinc uptake and distribution in barley (*Hordeum vulgare*). *New Phytol.* 184: 168-179.
- Loomis, W. D. and R. W. Durst. 1992.** Chemistry and biology of boron. *Biofactors*, 4: 229-239.
- Lorieux, M. 2007.** MapDisto, A free user-friendly program for computing genetic maps. Computer demonstration (P958) given at the Plant and Animal Genome XV Conference, Jan 13-17, San Diego, CA.
- Malakoti, M. J. and M. M. Tehrani. 1999.** Effects of micronutrients on the yield and quality of agricultural products. Tarbiat Modares University Press (In Persian).
- McDonald, G. K., J. K. Eglinton and A. R. Bar. 2010.** Assessment of the agronomic value of QTL on chromosomes 2H and 4H linked to tolerance to boron toxicity in barley (*Hordeum vulgare L.*). *Plant Soil.* 326: 275-290.
- Nable, R. O., G. S. Banuelos and J. G. Paull. 1997.** Boron toxicity. *Plant Soil.* 193: 181-198.
- Nasim, M. 2010.** Screening of doubled haploid barley population from the cross Clipper x Sahara for boron toxicity tolerance and evaluation of role of zinc in alleviation of boron toxicity. Ph.D. thesis, The University of Western Australia. Perth, Australia.
- Nejad-Hosseini, T. and A. R. Astaracai. 2010.** Effect of organic fertilizers and boron and zinc micronutrients on soil properties and wheat dry matter and chemical composition. *J. Agroecol.* 2: 215-224.
- Paull, J. G. 1990.** Genetic studies on the tolerance of wheat to high concentrations of boron. Ph.D. thesis, Department of Agronomy, University of Adelaide, Australia.
- Pillen, K., A. Binder, B. Kreuzkam, L. Ramsay, R. Waugh, J. Forster and J. Leon. 2000.** Mapping new EMBL-derived barley microsatellites and their use in differentiating German barley cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 101:652-660.
- Power, P. P. and W. G. Woods. 1997.** The chemistry of boron and its speciation in plants. *Plant Soil.* 193: 1-13.

- Quinn, M. G., S. J. Coventry, G. K. MacDonald and J. K. Eglinton. 2003.** Alternative sources of boron tolerance in barley. Australian Barley Technical Symposium, 7-10 Sep., Glenelg, South Australia.
- Ramsay, L., M. Macaulay, S. Degli Ivanissevich, K. MacLean, L. Cardle, J. Fuller, K. J. Edwards, S. Tuveesson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmioli, T. Sjakste, M. Ganal, W. Powell and R. Waugh. 2000.** A simple sequence repeat-based linkage map of barley. *J. Genet.* 156: 1997-2005.
- Ramsay, L., J. Russell, M. Macaulay, A. Booth, W. T. B. Thomas and R. Waugh. 2004.** Variation shown by molecular markers in barley: Genomic and genetic constraints. *Aspects Appl. Biol.* 72: 147-154.
- Reid, R. 2007.** Identification of boron transporter genes likely to be responsible for tolerance to boron toxicity in wheat and barley. *Plant Cell Physiol.* 48: 1673-1678.
- Rerkasem, B. and S. Jamjod. 1989.** Correcting boron deficiency induced ear sterility in wheat and barley. *J. Soils Fertility* 11: 200-209.
- Riley, M. M. 1987.** Boron toxicity in barley. *J. Plant Nutr.* 10: 2109-2115.
- Sadeghzadeh, B. 2008.** Mapping of chromosome regions associated with seed Zn accumulation in barley. Ph.D. thesis, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, The University of Western Australia, Perth, Australia.
- Sadoghi, S., A. R. Astarai and Z. Sharifi. 2008.** Effect of different levels of salinity and boron on grain yield and nutrient uptake in barley. Abstract Book of 10th Iranian Crop Science Congress, 18-20 Aug. 2008. Karaj, Iran. pp. 287.
- Saghai Maroof, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen and R. W. Allard. 1984.** Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 8014-8018.
- Saghai Maroof, M. A., R. M. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhang and R. W. Allard. 1994.** Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 5466-5470.
- Schnurbusch, Th., J. Hayes, M. Hrmova, U. Baumann, S. A. Ramesh, S. D. Tyerman, P. Langridge and T. Sutton. 2010.** Boron toxicity tolerance in barley through reduced expression of the multifunctional aquaporin *HvNIP2;1*. *Plant Physiol.* 153: 1706-1715.
- Shorrocks, V. M. 1997.** The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant Soil.* 193: 121-148.
- Sutton, T., U. Baumann, J. Hayes, N. C. Collins, B. J. Shi, T. Schnurbusch, A. Hay, G. Mayo, M. Pallotta, M. Tester and P. Langridge. 2007.** Boron toxicity tolerance in barley arising from efflux transporter amplification. *Science*, 318: 1446-1449.
- Struss, P. and J. Plieske. 1998.** The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theor. Appl. Genet.* 97: 308-315.
- Takano, J., K. Noguchi, M. Yasumori, M. Kobayashi, Z. Gajdos, K. Miwa, H. Hayashi, T. Yoneyama and T. Fujiwara. 2002.** Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, 420: 337-340.

- Takano, J., M. Wada, U. Ludewig, F. G. Schaaf, N. Vonwiren and T. Fujiwara. 2006.** The Arabidopsis major intrinsic protein *NIP5;1* is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *Plant Cell Environ.* 18: 1498-1509.
- Tanaka, M. and T. Fujiwara. 2008.** Physiological roles and transport mechanisms of boron perspectives from plants. *Europ. J. Appl. Physiol.* 456: 671-677.
- Thiel, T., W. Michalek, R. K. Varshney and A. Graner. 2003.** Exploiting EST databases for the development of cDNA derived microsatellite markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 411-422.
- Wang, S., C. J. Basten and Z. B. Zeng. 2005.** Windows QTL Cartographer 2.5. Raleigh Department of Statistics, North Carolina State University, USA.
- Xu, F. S., Y. H. Wang and J. Meng. 2001.** Mapping boron efficiency gene(s) in *Brassica napus* using RFLP and AFLP markers. *Plant Breed.* 120: 319-324.

Mapping QTLs related to boron uptake and accumulation in shoots of barley at seedling and maturity stages using microsatellite markers

Abasszadeh. M.,¹ S. A. Mohammadi,² M. Moghadam³ and B. Sadeghzadeh⁴

ABSTRACT

Abasszadeh, M., S. A. Mohammadi., M. Moghadam and B. Sadeghzadeh. 2013. Mapping QTLs for boron accumulation in shoots of barley at seedling and maturity stages using microsatellite markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 15(1): 71-88. (In Persian).

Boron is an essential micronutrient for plant growth and development and its role in cell wall, maintenance of plasma membrane function and several metabolite pathways is well documented. In this experiment, 150 barley doubled haploid lines derived from the cross between Clipper and Sahara3771 varieties were evaluated to identify genomic regions involved in boron uptake efficiency. The studied traits were boron concentration and content as well as dry weight per plant at seedling and maturity stages under greenhouse conditions. Linkage analysis was performed using 125 polymorphic SSR markers based on minimum LOD of 3 and maximum distance of 50 cM between two adjacent markers. The resulted linkage map spanned 1521.8 cM of barley genome with 14.09 cM distance between two markers. Based on composite interval mapping, 23 QTLs were identified for the traits under study. For dry weight per plant, one and three, boron concentration, six and five and boron content per plant, four and four QTLs were identified at seedling and maturity stages, respectively. The detected QTLs for dry weight per plant, boron concentration and content determined about 28, 61 and 40% of total phenotypic variation of the traits at seedling stage and 34, 51 and 36% at maturity stage, respectively. Transgressive segregation was observed for all traits indicating the presence of desirable parental allele combinations in the progenies. Negative and positive additive effects for identified QTLs showed the inheritance of favorable alleles from both parental lines to progenies in the detected loci. For the studied traits, four QTLs were common that could be due to genetic linkage or pleiotropic effects. The markers showed tight linkage with major QTLs, could be used in marker assisted selection breeding programs for selection of superior lines and incorporating of favorable alleles into commercial barley varieties.

Keywords: Barley, Composite interval mapping, Micronutrients, Pleiotropic effect and SSR markers.

Received: February, 2012 Accepted: January, 2013

1- Former MSc. Student, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Professor, Center of Excellence for Cereal Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran (Corresponding author) (Email: mohammadi@tabrizu.ac.ir).

3- Professor, Center of Excellence for Cereal Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran

4- Assistant Prof., Dryland Agricultural Research Institute, Maragheh, Iran