

شناسایی جایگاه‌های ژنومی کنترل کننده صفات فنولوژیک و مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های جو  
(*Hordeum vulgare* L.) با استفاده از تجزیه ارتباطی

Identification of genomic loci controlling phenologic and morphologic traits in  
barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using association analysis

زهرا کوچک‌پور<sup>۱</sup>، محمود سلوکی<sup>۲</sup>، براتعلی فاخری<sup>۳</sup>، رضا اقنوم<sup>۴</sup>، نفیسه مهدی نژاد<sup>۵</sup> و میترا جباری<sup>۶</sup>

چکیده

کوچک‌پور، ز.، م. سلوکی، ب. فاخری، ر. اقنوم، ن. مهدی نژاد و م. جباری. ۱۳۹۹. شناسایی جایگاه‌های ژنومی کنترل کننده صفات فنولوژیک و مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های جو (*Hordeum vulgare* L.) با استفاده از تجزیه ارتباطی. نشریه علوم زراعی ایران. ۲۲ (۴): ۳۰۴-۲۹۱.

نقشه یابی ارتباطی روش مناسبی جهت شناسایی جایگاه صفات کمی بر اساس عدم تعادل لینکاژی است که در تشریح صفات پیچیده ژنتیکی کارآیی بالایی دارد. این روش ابزار قدرتمندی جهت تشریح صفات پیچیده زراعی و شناسایی آلل‌های موثر در صفت مورد نظر محسوب می‌شود. در این تحقیق، نقشه یابی ارتباطی کل ژنوم در ۱۴۸ ژنوتیپ جمعیت جو بهاره انجام شد. ارزیابی فنوتیپی در قالب طرح آلفا لایس در دو تکرار در دو سال زراعی (۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵) در ایستگاه تحقیقات کشاورزی زهک انجام شد و صفات روز تا گرده افشانی، روز تا رسیدگی، طول دوره پر شدن دانه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، تعداد دانه در سنبله اصلی، وزن هزاردانه و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند. تجزیه ارتباطی بین نشانگرها و داده‌های فنوتیپی، براساس مدل خطی مخلوط همراه با ماتریس Q و ماتریس K انجام شد و در مجموع ۲۸ جایگاه ژنومی (QTL) در ارتباط با صفات مورد ارزیابی شناسایی شدند. برای صفت روز تا گرده افشانی، یک جایگاه ژنومی پایدار روی کروموزوم 5H (۷۴/۷۶ سانتی مورگان) شناسایی شد. سه جایگاه ژنومی پایدار روی کروموزوم‌های 4H (۱۲۵/۰۸ و ۱۲۰/۶۴ سانتی مورگان) و 5H (۷۴/۷۶ سانتی مورگان) برای صفت دوره پر شدن دانه شناسایی گردید. یک QTL روی کروموزوم 2H (۱۰/۸۷ سانتی مورگان) در ارتباط با صفات روز تا گرده افشانی، طول دوره پر شدن دانه و وزن هزار دانه و وزن برگ پرچم و وزن هزاردانه در ارتباط بود. مکان‌های مشترک برای صفات یاد شده احتمالاً ناشی از اثر پلیوتروپی و یا پیوستگی بین مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مورد نظر بوده و فرضیه هم‌مکانی یا چند اثره بودن QTLها را تقویت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: جایگاه ژنومی، جو، کروموزوم، وزن هزار دانه و نقشه یابی ارتباطی.

این مقاله مستخرج از رساله دکتری نگارنده اول می‌باشد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸

۱- دانش آموخته دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: mahmood.solouki@gmail.com)

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

۴- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد

۵- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل

۶- استادیار مجتمع آموزش عالی سراوان

## مقدمه

امروزه تامین مواد غذایی بخصوص در شرایط افزایش سریع جمعیت، به یک موضوع مهم تبدیل شده است. افزایش سطح زیر کشت زمین‌های کشاورزی برای تولید مواد غذای بیشتر امکان‌پذیر نیست و تنها راه ممکن افزایش تولید در واحد سطح می‌باشد.

نقشه‌یابی جایگاه صفات کمی (QTL) ابزاری قدرتمند جهت مطالعه اساس ژنتیکی صفات کمی پیچیده در گیاهان و جانوران است (Yan et al., 2011).

پیشرفت‌های اخیر در توسعه روش‌های نقشه‌یابی ارتباطی، همراه با کاربردهای موفق آن در تشریح تعدادی از صفات ساده تا پیچیده در بسیاری از گونه‌های زراعی نشان داده است که این روش جهت مکان‌یابی ژن‌ها در عصر ژنومیکس گیاهی در قرن بیست و یکم کارایی بالایی دارد (Kushwaha et al., 2017). نقشه‌یابی ارتباطی روشی با وضوح بالا جهت نقشه‌یابی جایگاه صفات کمی بر اساس عدم تعادل لینکاژی است (Buckler, 2002). نقشه‌یابی ارتباطی ابزار قدرتمندی جهت تشریح صفات پیچیده زراعی و شناسایی آلل‌هایی است که در تقویت صفت مورد نظر مشارکت دارند. قدرت مطالعات ارتباطی توسط شاخص‌هایی از قبیل اندازه جمعیت آزمایشی، بزرگی اثر آلل هدف، تراکم نشانگرهای مورد استفاده و میزان کاهش عدم تعادل لینکاژی (Linkage disequilibrium) بین نشانگر و ژن هدف و همچنین اشتباهات در داده‌های فنوتایپینگ و ژنوتایپینگ و سطح معنی‌داری آماری تعیین می‌شود (Gordon and Finch, 2005).

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی و چهارمین غله مهم جهان بعد از ذرت، برنج و گندم است. جو یک گیاه مدل برای مطالعات ژنتیکی و فیزیولوژیکی است و دامنه گسترده‌ای از سازگاری با زیستگاه‌های مختلف را دارد. جو گیاهی یکساله، دیپلوئید، خودگرده‌افشان با چرخه زندگی نسبتاً کوتاه است (Diab et al., 2004; Abou-Elwafa, 2016a).

توسعه سطوح نوین ژنومیکس، ترانسکریپتوم، تجزیه و تحلیل متابولوم و بیوانفورماتیک، تشریح صفات کمی متنوع و تعیین جایگاه کروموزومی آنها را تسهیل و باعث شناسایی تعدادی از ارتباطات نشانگر-صفت در گیاهان زراعی از جمله گیاه جو شده است (Abou-Elwafa, 2016a). اهداف این تحقیق، ارزیابی تنوع ژنوتیپی و شناسایی نشانگرهای مرتبط با برخی صفات فنولوژیکی و مورفولوژیکی در جمعیت جو، جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی بود.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۱۴۸ ژنوتیپ جو بهاره از ارقام تجاری رایج در کشورهای اروپای غربی مورد ارزیابی قرار گرفتند (Kraakman et al., 2004). آزمایش در شرایط مزرعه در قالب طرح آلفا لاتیس در دو تکرار در دو سال زراعی (۱۳۹۳-۹۴ و ۹۵-۱۳۹۴) در ایستگاه تحقیقات کشاورزی سیستان و بلوچستان واقع در شهرستان زهک با مختصات جغرافیایی بین ۶۰ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۶۱ درجه و ۵۰ دقیقه طول جغرافیایی و ۳۰ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۸ دقیقه عرض جغرافیایی اجرا شد. هر تکرار شامل ۹ بلوک ناقص با ۱۷ کرت بود. در این آزمایش علاوه بر ژنوتیپ‌های مورد بررسی از پنج رقم جو (محلی، ۵- شوری خوشه سفید، NP-90-113، نومار و زهک) جهت کامل کردن بلوک‌ها استفاده شد. کاشت بذر به صورت هیرم کاری انجام شد. بذور ارقام مورد آزمایش پس از ضد عفونی با دستگاه بذرکار در کرت‌های چهار ردیفه (طول دو متر و فاصله بین خطوط ۲۰ سانتی‌متر) در عمق ۳ سانتی‌متری و با تراکم ۴۰۰ بذر در مترمربع کاشته شدند. در طول فصل زراعی مراقبت‌های زراعی لازم شامل مصرف کود سرک، وجین علف‌های هرز و کنترل آفات و بیماری‌ها اجرا شد. صفات مورد ارزیابی شامل تعداد روز تا گرده افشانی، تعداد روز تا رسیدگی، طول دوره پر شدن دانه، طول برگ پرچم،

SSR. بر اساس موقعیت آن‌ها صورت گرفت (Ramsay *et al.*, 2000). این نشانگرها در نواحی انتخاب شدند که بین نشانگرهای AFLP فاصله (Gap) وجود داشت. تعداد ۲۱ نشانگر مولکولی SSR نیز مجدداً در سال ۲۰۱۰ در این جمعیت نقشه‌یابی شد (داده‌های منتشر نشده) (Aghnoum *et al.*, 2010). در مجموع و با در نظر گرفتن آلل‌های مختلف نشانگرهای SSR، تعداد ۴۰۷ نشانگر چندشکل در جمعیت حاضر مورد استفاده قرار گرفت. سپس نسبت به حذف نشانگرهایی با داده گمشده بیشتر از ده درصد و فراوانی آللی مینور (Minor allelic frequency; MAF) کمتر از پنج درصد اقدام شد (Mueller, 2004). در انتها مجموعه‌ای جدید متشکل از ۲۱۸ نشانگر AFLP و SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و تجزیه ارتباطی مورد استفاده قرار گرفت.

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر نشانگر یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز آنها به شمار می‌رود. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری دارد که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد. محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها (PIC) با استفاده از نرم‌افزار Power Marker<sup>3.25</sup> محاسبه شد (Chen *et al.*, 2011). به منظور ارزیابی کمی تعداد زیرجمعیت‌های موجود (K) در جمعیت از نرم‌افزار Structure<sup>2.3.4</sup> و روش گروه‌بندی بیس (Bayesian clustering model) استفاده شد (Pritchard *et al.*, 2000). این روش با استفاده از داده‌های ژنوتیپی چندین جایگاه ژنی افراد موجود در جمعیت را به زیرگروه‌های مشخصی منتسب می‌کند، به ترتیبی که زیرجمعیت‌ها از تعادل هاردی-واینبرگ برخوردار باشند. نرم‌افزار فوق با تعداد دور پروموتیشن صد هزار و تعداد تکرار برای بدست آوردن یک Markov Chain Monte Carlo به روش صحیح به روش

عرض برگ پرچم، تعداد دانه در سنبله اصلی، وزن هزاردانه و عملکرد دانه بودند. اندازه‌گیری‌ها برای صفات فنولوژیکی بر اساس فاصله از تاریخ کاشت تا زمانی که ۵۰ درصد بوته‌های هر کرت به مرحله فنولوژیکی مورد نظر برسند و برای سایر صفات بر اساس میانگین اندازه‌گیری شده در پنج بوته تصادفی از هر کرت، پس از حذف حاشیه‌ها، انجام شد. طول دوره پر شدن دانه بر اساس مدت زمان بین ظهور سنبله تا رسیدگی برآورد شد (Spiertz *et al.*, 1971). با توجه به اینکه جو گیاهی کلیستوگام است، تخمین زمان گرده افشانی در جو بهاره با استناد به بررسی منابع انجام شده، مرحله‌ای در نظر گرفته شد که سنبله درون غلاف بوده و ریشک‌ها کمی از غلاف بیرون زده بودند (Alqudah and Schnurbusch, 2017).

قبل انجام تجزیه‌های آماری از آزمون شاپیرو-ویلک برای بررسی نرمال بودن داده‌ها استفاده و تجزیه به صورت مرکب انجام شد. آماره‌های توصیفی، ضرایب همبستگی ساده بین صفات و برآورد وراثت‌پذیری ( $h^2$ ) بر مبنای میانگین نژادگان صفات محاسبه شدند. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS<sup>9.2</sup>، GenStat<sup>15</sup>، SPSS<sup>24</sup> و XLSTAT<sup>2018</sup> انجام شد. جمعیت جو مورد استفاده در سال ۲۰۰۴ با استفاده از ۱۴ جفت آغازگر AFLP (E33M54, E35M48, E35M54, E35M55, E35M61, E37M33, E38M50, E38M54, E38M55, E39M61, E42M32, E42M48, E45M49, and E45M55) ژنوتایپینگ و ۲۸۶ نشانگر چندشکل شناسایی شدند (Kraakman *et al.*, 2004). در سال ۲۰۰۶، مجدداً تعداد پنج آغازگر AFLP و یازده آغازگر SSR (Bmac018, Bmag009, HVM14, HVM22, HVM65, HVM74, Bmag223, Bmac134, HVM054, Bmac163, and Bmac316) به نقشه ژنوتایپینگ اضافه شد. تعداد آلل‌های هر نشانگر بین ۲ تا ۷ بود (Kraakman *et al.*, 2006). انتخاب نشانگرهای

(MLM) علاوه بر ساختار جمعیت، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت نیز در تجزیه ارتباطی به عنوان کواریانت در نظر گرفته می شود. بنابراین ارتباطات و پیوستگی های دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می رسد. بر اساس بررسی منابع انجام شده برای تعیین حد آستانه معنی داری ارتباط نشانگر/صفت، روش پیشنهادی چن و همکاران (Chen et al., 2010) و پاسام و همکاران (Pasam et al., 2012) و جباری و همکاران (Jabbari et al., 2018) استفاده شد. در این روش یک درصد انتهایی مقادیر P-value را می توان به عنوان مقادیر معنی دار انتخاب نمود.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ های جو از لحاظ صفات مورد ارزیابی تفاوت بسیار معنی داری وجود داشت. با توجه به تنوع موجود برای صفات، استنباط شد که انتخاب برای بهبود آن ها می تواند مؤثر باشد. البته، بازدهی انتخاب، تا حدود زیادی بستگی به وراثت پذیری صفات دارد. وراثت پذیری صفات با استفاده از داده های فنوتیپی به دست آمده طی دو سال آزمایش محاسبه شد (جدول ۱). برآورد وراثت پذیری می تواند برای آگاهی از میزان تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی و نیز برآورد میزان بازده ژنتیکی در یک جمعیت استفاده شود. کمترین میزان وراثت پذیری به صفات وزن هزاردانه (۰/۰۰۰) و روز تا رسیدگی (۰/۱۸۴) و بیشترین مقدار وراثت پذیری به صفات روز تا گرده افشانی (۰/۷۶۹)، تعداد دانه در سنبله (۰/۷۵۵) و دوره پر شدن دانه (۰/۷۱۰)، تعلق داشت. عملکرد دانه دارای وراثت پذیری متوسط (۰/۶۵۲) بود. پایین بودن میزان وراثت پذیری برخی از صفات نشان می دهد که شرایط محیطی اثر قابل توجهی روی این صفات داشته است. بررسی تغییرات ژنتیکی و وراثت پذیری برای اثربخشی اکثر برنامه های اصلاحی ضروری است.

صد هزار بار اجرا گردید. در این آزمایش مقادیر اولیه K از ۱ تا ۱۰ در نظر گرفته شد. جهت مطابقت دادن نتایج با یکدیگر و اطمینان از برآورد صحیح پارامترها، سه تکرار مستقل برای هر یک از زیرجمعیت ها در نظر گرفته شد. مدل خطی مخلوط با فراوانی آللی همبسته برای تعیین زیرجمعیت ها مورد استفاده قرار گرفت. بهترین تعداد زیرجمعیت ها طبق روش توصیف شده توسط ایوانو و همکاران (Evanno et al., 2005) به دست آمد. با استفاده از میزان تغییر تابع درست نمایی، شاخصی به نام  $\Delta K$  تعریف شد که از لحاظ گرافیکی بهترین تعداد زیرجمعیت را واضح تر نشان داد (Evanno et al., 2005). نرم افزار Structure برای هر مقدار K (تعداد واقعی زیرجمعیت) یک ماتریس به نام Q (ماتریس درصد عضویت افراد به زیر گروه ها) را محاسبه می کند که این ماتریس شامل برآورد ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ در هر یک از زیرجمعیت ها است (Kraakman et al., 2004).

برای نقشه یابی ارتباطی، مجموعه ای از نشانگرهایی با داده گم شده کمتر از ده درصد و فراوانی آلل مینور بیشتر از پنج درصد مورد استفاده قرار گرفت. نقشه یابی گسترده ژنومی به وسیله نرم افزار TASSEL<sub>3.0.119</sub> انجام شد. چالش اصلی در تجزیه ارتباطی متمایز ساختن روابط حقیقی بین نشانگرها و صفات از روابط کاذب ناشی از ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی است که البته در این بین تأثیر روابط خویشاوندی در ارائه نتایج مثبت کاذب بیشتر از ساختار جمعیت می باشد، بنابراین برای تعیین ارتباطات معنی دار نشانگر و صفت از مدل خطی مخلوط (Mixed Linear Model; MLM) به همراه ماتریس K و Q استفاده شد. Q یک عامل ثابت با توجه به ساختار جمعیت (خروجی نرم افزار Structure) است و K (ماتریس روابط خویشاوندی افراد) یک عامل تصادفی به دلیل خویشاوندی افراد است. ماتریس خویشاوندی K نشان دهنده شباهت های بین ژنوتیپ ها است و در نرم افزار TASSEL<sub>3.0.119</sub> محاسبه شد. در مدل

جدول ۱- برآورد آماره‌های ساده و وراثت‌پذیری صفات گیاهی در ژنوتیپ‌های جو (۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵)

Table 1. Estimation of simple statistics and heritability of plant traits of barley genotypes (2014-2015 and 2015-2016)

| صفات گیاهی<br>traits                                 | میانگین<br>Mean | حداقل<br>Minimum | حداکثر<br>Maximum | وراثت‌پذیری<br>Heritability |
|--|-----------------|------------------|-------------------|-----------------------------|
| Days to anthesis<br>روز تا گرده‌افشانی               | 116.1           | 107.5            | 121.0             | 0.769±0.037                 |
| Days to maturity<br>روز تا رسیدگی                    | 146.0           | 144.0            | 148.2             | 0.184±0.133                 |
| Grain filling period (day)<br>طول دوره پر شدن دانه   | 29.8            | 25.2             | 38.2              | 0.710±0.047                 |
| Flag leaf length (cm)<br>طول برگ پرچم                | 9.0             | 5.9              | 13.2              | 0.497±0.082                 |
| Flag leaf width (cm)<br>عرض برگ پرچم                 | 0.71            | 0.50             | 1.20              | 0.526±0.077                 |
| No. Grain.spike <sup>-1</sup><br>تعداد دانه در سنبله | 26.8            | 20.5             | 51.0              | 0.755±0.040                 |
| 1000 grain weight (g)<br>وزن هزار دانه               | 37.7            | 30.3             | 41.3              | 0.000±0.000                 |
| Grain yield (g.m <sup>-2</sup> )<br>عملکرد دانه      | 784.2           | 440.8            | 1015.0            | 0.652±0.057                 |

طول دوره پر شدن دانه و روز تا گرده‌افشانی ( $0.947^{**}$ ) مشاهده شد (جدول ۲). تجزیه همبستگی میان اجزای عملکرد یکی از روش‌های لازم در تعیین اثر محیط بر تولید و پتانسیل عملکرد است. اطلاعات مربوط به ماهیت و مقدار ضرایب همبستگی به‌نژادگران در تعیین معیارهای انتخاب برای بهبود صفات مختلف همبسته با عملکرد کمک می‌کند (El-Mohsen, 2013).

ضرایب همبستگی بین صفات نشان داد که وزن هزاردانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول دوره پر شدن دانه ( $0.391^{**}$ ) و عملکرد دانه ( $0.347^{**}$ ) داشت. صفت تعداد دانه در سنبله، همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول ( $0.207^{**}$ ) و عرض برگ پرچم ( $0.445^{**}$ ) داشت. تعداد روز تا رسیدگی، همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول ( $0.167^{**}$ ) و عرض برگ پرچم ( $0.199^{**}$ ) نشان داد. بیشترین همبستگی منفی بین

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین صفات گیاهی ژنوتیپ‌های جو (۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵)

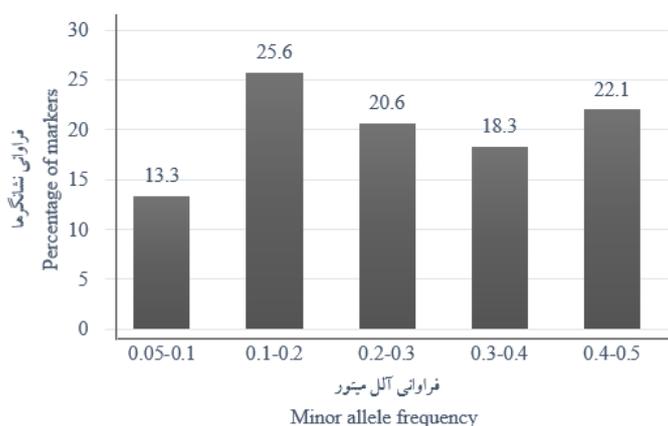
Table 2. Correlation coefficients between plant traits of barley genotypes (2014-2015 and 2015-2016)

|     | DA       | DM     | GFP     | FLL     | FLW      | GP      | TGW     | GY |
|-----|----------|--------|---------|---------|----------|---------|---------|----|
| DA  | 1        |        |         |         |          |         |         |    |
| DM  | 0.184*   | 1      |         |         |          |         |         |    |
| GFP | -0.947** | 0.141  | 1       |         |          |         |         |    |
| FLL | -0.068   | 0.167* | 0.123   | 1       |          |         |         |    |
| FLW | 0.113    | 0.199* | -0.048  | 0.610** | 1        |         |         |    |
| GP  | -0.100   | 0.104  | 0.134   | 0.207*  | 0.445**  | 1       |         |    |
| TGW | -0.390** | -0.005 | 0.391** | 0.017   | -0.129   | -0.047  | 1       |    |
| GY  | -0.198*  | -0.071 | 0.176*  | -0.140  | -0.333** | -0.255* | 0.347** | 1  |

DA: روز تا گرده‌افشانی، DM: روز تا رسیدگی، GFP: طول دوره پر شدن دانه، FLL: طول برگ پرچم، FLW: عرض برگ پرچم، GP: تعداد دانه در سنبله، TGW: وزن هزار دانه، GY: عملکرد دانه  
DA: Days to anthesis, DM: Days to maturity, GFP: Grain filling period, FLL: Flag leaf length, FLW: Flag leaf width, GP: Grain.spike<sup>-1</sup>, TGW: 1000 grain weight, GY: Grain yield

که از مجموع ۲۱۸ نشانگر، ۱۳/۳ درصد از نشانگرها فراوانی آلل مینور بین ۰/۱-۰/۰۵، ۲۵/۶ درصد بین ۰/۰۱-۰/۰۳، ۲۰/۶ درصد بین ۰/۰۳-۰/۰۲، ۱۸/۳ درصد بین ۰/۰۳-۰/۰۱ و ۲۲/۱ درصد ۰/۰۵-۰/۰۴ را دارا بودند (شکل ۱).

از ۴۰۷ نشانگر استفاده شده برای ارزیابی ژنوتیپی ۱۴۸ ژنوتیپ جو، نشانگرهایی که داده‌های گم شده آنها بیشتر از ده درصد و فراوانی آلل مینور آنها (MAF) کمتر از پنج درصد بود حذف و در مجموع ۲۱۸ نشانگر برای ادامه آزمایش استفاده شد. نتایج نشان داد

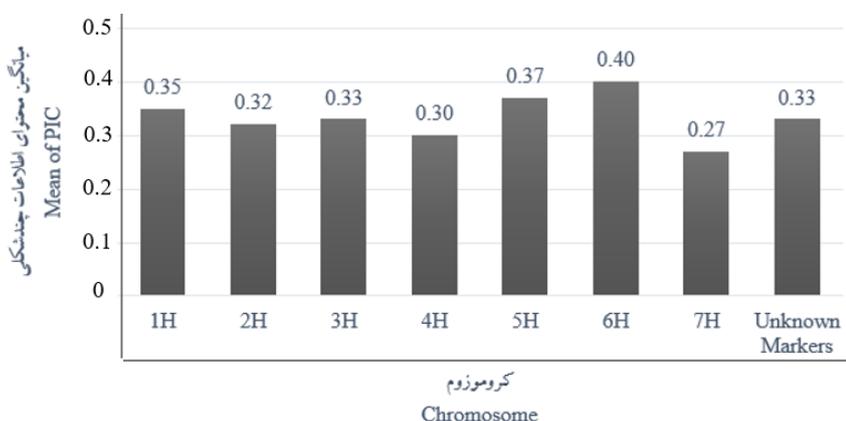


شکل ۱- توزیع فرآوانی آلل مینور نشانگرهای مورد استفاده در ارزیابی ژنوتیپ‌های جو (۲۱۸ نشانگر)

Fig. 1. Minor allele frequency (MAF) distribution of markers used for barley genotypes assessment (218 markers)

مقدار این شاخص برای اغلب نشانگرها بیشتر از ۰/۲۵ بود. میانگین شاخص PIC روی کروموزوم‌های مختلف از ۰/۲۷ (کروموزوم ۷) تا ۰/۴۰ (کروموزوم ۶) متغیر بود. این نتایج نشان می‌دهد که نشانگرهای مورد استفاده از چندشکلی بالایی برخوردار بودند (شکل ۲).

نتایج نشان داد که توزیع نشانگرها روی کروموزوم‌ها به صورت یکنواخت نبود و بیشترین تعداد نشانگر مربوط به کروموزوم ۲ و کمترین آن مربوط به کروموزوم‌های ۱ و ۷ بود. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر نشانگر محاسبه شد. دامنه شاخص PIC در کل جمعیت از ۰/۲۷ تا ۰/۴۰ (میانگین ۰/۳۳) بود.

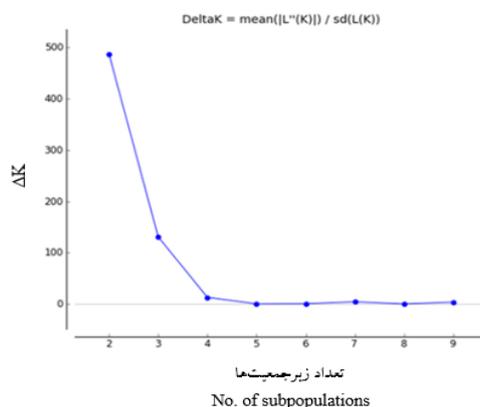


شکل ۲- میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی روی کروموزوم‌های ژنوتیپ‌های جو

Fig. 2. Mean of PIC index on chromosomes in barley genotypes

در این تحقیق یک درصد انتهایی مقادیر معنی‌داری را که از  $P=0.03$  شروع شد، به عنوان معنی‌دار انتخاب و نشانگرهایی با  $-\log_{10}(P\text{-value}) \geq 1.5$ ، به عنوان نشانگر مرتبط با صفت در نظر گرفته شدند

تجزیه ساختار جمعیت نشان داد که شاخص  $\Delta K$  بیشترین مقدار را در  $K=2$  دارد که نشان‌دهنده وجود دو زیرجمعیت است. در مقدار  $K=2$  جمعیت به دو زیرگروه تقسیم شد (شکل ۳).



شکل ۳- تعیین ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های جو بر اساس روش ایوانو و همکاران (Evanno *et al.*, 2005)

Fig. 3. Determination of population structure of barley genotypes, using Evanno *et al.* (2005) method

گزارش شده است. تعداد زیاد QTLها در یک ناحیه ژنومی ممکن است اثر QTLهای جزئی (کوچک اثر) را مختل کرده و شناسایی آنها را مشکل سازد (Ramsay *et al.*, 2011). در یک آزمایش حاصل از نقشه‌یابی ارتباطی گسترده ژنومی مرتبط با صفات زراعی در جو، QTLهایی روی کروموزوم‌های 2H و 7H برای صفت روز تا گرده‌افشانی شناسایی شدند (Locatelli *et al.*, 2013).

در آزمایش حاضر برای صفت روز تا رسیدگی شش QTL شناسایی شد. تعداد چهار QTL روی کروموزوم‌های 1H، 2H و 5H قرار داشتند. نشانگر E42M32-272 روی کروموزوم 2H (۱۴/۷۷ سانتی مورگان) با صفات روز تا رسیدگی و طول برگ پرچم ارتباط داشت. برای صفت طول دوره پر شدن دانه، ۱۳ QTL مرتبط شناسایی شدند. نه QTL روی کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 6H قرار داشتند. همچنین سه جایگاه ژنومی پایدار روی کروموزوم‌های 4H (۱۲۵/۰۸ و ۱۲۰/۶۴ سانتی مورگان) و 5H (۷۴/۷۶ سانتی مورگان) برای این صفت شناسایی شدند. در یک آزمایش حاصل از نقشه‌یابی ارتباطی گسترده ژنومی مرتبط با صفات زراعی در جو، QTLهایی روی کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 7H برای

(Chen *et al.*, 2010; Pasam *et al.*, 2012; Jabbari *et al.*, 2018) تجزیه ارتباطی کل ژنوم در جمعیت مورد نظر بین نشانگرها و داده‌های فنوتیپی (Bradbury *et al.*, 2007) در مجموع منجر به شناسایی ۲۸ QTL مرتبط با صفات مورد مطالعه گردید (جدول ۳). برای صفت روز تا گرده‌افشانی، ۱۳ QTL شناسایی گردید. ۹ QTL روی کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 6H قرار داشتند. بعلاوه یک جایگاه ژنومی پایدار روی کروموزوم 5H (۷۴/۷۶ سانتی مورگان) برای این صفت شناسایی گردید. نشانگر E35M55-262 روی کروموزوم 4H (۱۲۰/۶۴ سانتی مورگان) با صفات روز تا گرده‌افشانی، طول دوره پر شدن دانه و طول برگ پرچم در ارتباط بود. نشانگر Bmac0134-173 روی کروموزوم 2H (۱۰/۸۷ سانتی مورگان) با صفات روز تا گرده‌افشانی، طول دوره پر شدن دانه و وزن هزار دانه در ارتباط بود. نشانگر E38M54-133 روی کروموزوم 4H (۱۲۵/۰۸ سانتی مورگان) با صفات روز تا گرده‌افشانی، طول دوره پر شدن دانه، طول برگ پرچم و وزن هزار دانه در ارتباط بود. QTLهای هم مکان برای بسیاری از صفات مربوط به عملکرد در سایر غلات نظیر جو (Wang *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2018)، برنج (Marathi *et al.*, 2012) و گندم (Rustgi *et al.*, 2013)

آزمایشی که به منظور شناسایی ژن‌های مرتبط با صفات مورفولوژیک جمعیت حاضر در شرایط تنش خشکی صورت گرفته بود، یک QTL روی کروموزوم 5H در شرایط آبیاری مطلوب و QTL‌هایی روی کروموزوم-های 3H، 5H و 6H در شرایط تنش خشکی، برای صفت تعداد دانه در سنبله، شناسایی شدند که QTL واقع بر کروموزوم 5H دقیقاً منطبق بر QTL شناسایی شده در آزمایش حاضر بود (Jabbari *et al.*, 2018). در یک تحقیق تنوع مولکولی و نقشه‌یابی ارتباطی صفات کمی در ژرم پلاسما جو مورد ارزیابی قرار گرفت و پنج QTL مرتبط با تعداد دانه در سنبله روی کروموزوم‌های 1H، 4H و 5H شناسایی شدند (Sun *et al.*, 2011).

تعداد چهار QTL برای صفت وزن هزاردانه شناسایی شدند. سه QTL روی کروموزوم‌های 2H (۱۰/۸۷ سانتی مورگان)، 4H (۱۲۵/۰۸ سانتی مورگان) و 7H (۷۰/۳۲ سانتی مورگان) قرار داشتند و جایگاه QTL دیگر ناشناخته بود. در آزمایشی که جهت شناسایی QTL‌های مرتبط با صفات زراعی در جو صورت انجام شد، QTL‌هایی روی کروموزوم‌های 2H، 5H و 7H برای صفت وزن هزاردانه شناسایی شدند (Wang *et al.*, 2016). در آزمایش نقشه‌یابی ارتباطی مرتبط با صفات مشارکت کننده در عملکرد و اجزای عملکرد در جو در شرایط تنش خشکی، ۱۳ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار برای صفت وزن هزاردانه شناسایی شد. QTL‌های شناسایی شده، روی تمام کروموزوم‌ها، بجز کروموزوم 5H قرار داشتند (Abou-Elwafa, 2016b). در مطالعات ارتباطی گسترده ژنومی برای صفات زراعی در یک مجموعه جو وحشی بهاره، ۲۱ QTL مرتبط با وزن هزاردانه شناسایی شدند. QTL‌های شناسایی شده روی تمام کروموزوم‌ها پراکنده بودند (Pasam *et al.*, 2012). برای صفت عملکرد دانه، سه نشانگر روی کروموزوم‌های 2H، 4H و 5H شناسایی شدند. در یک آزمایش مربوط به نقشه‌یابی ارتباطی گسترده ژنومی مرتبط با صفات زراعی در جو، هشت

صفت طول دوره پر شدن دانه شناسایی شدند (Locatelli *et al.*, 2013).

در این تحقیق، شش QTL برای صفت طول برگ پرچم و دو QTL برای صفت عرض برگ پرچم شناسایی شدند. سه QTL مربوط به صفت طول برگ پرچم، روی کروموزوم‌های 2H و 4H قرار داشتند. نشانگر E35M55-436 با هر دو صفت طول برگ پرچم و عرض برگ پرچم در ارتباط بود. نشانگر E38M54-112 با صفات طول برگ پرچم و تعداد دانه در سنبله در ارتباط بود. در آزمایشی که به منظور شناسایی ژن‌های مرتبط با صفات مورفولوژیک جمعیت حاضر در شرایط تنش خشکی در انجام شد، QTL‌هایی روی کروموزوم‌های 2H، 3H، 4H، 5H و 6H برای صفت طول برگ پرچم و QTL‌هایی روی کروموزوم‌های 2H، 3H، 4H، 5H و 7H برای صفت عرض برگ پرچم شناسایی شدند (Jabbari *et al.*, 2018). عملکرد دانه تابع اجزای عملکرد و سایر صفات وابسته به آن است. در گیاهان غلاتی، سه برگ بالای ساقه، به ویژه برگ پرچم، منبع اصلی تولید کربوهیدرات ذخیره‌ای دانه هستند. خصوصیات مورفولوژیکی برگ پرچم مانند اندازه و شکل و خصوصیات فیزیولوژیکی آن مانند محتوای کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی، عوامل مهم تعیین کننده عملکرد دانه غلات مورد توجه هستند، بنابراین برگ پرچم، یکی از مهم‌ترین اجزای تعیین پتانسیل عملکرد دانه در غلات می‌باشد. اهمیت برگ پرچم در جو، در تعیین عملکرد دانه در آزمایش‌های زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. مشخص شده است که برخی از خصوصیات برگ پرچم مانند طول، عرض و زاویه برگ پرچم به صورت کمی به ارث می‌رسند. با این وجود، تحقیقات اندکی درباره سازوکارهای ژنتیکی خصوصیات برگ پرچم در جو انجام شده است (Xue *et al.*, 2008). برای صفت تعداد دانه در سنبله، دو QTL شناسایی شدند. یک QTL روی کروموزوم 5H (۱۳۱/۰۰ سانتی مورگان) قرار داشت. در

جدول ۳- نشانگرهای پیوسته با صفات گیاهی ژنوتیپ‌های جو (۹۴-۱۳۹۳ و ۹۵-۱۳۹۴)

Table 3. Markers associated with plant traits of barley genotypes (2014-2015 and 2015-2016)

| Traits               | صفات گیاهی           | نشانگر<br>Marker | کروموزوم<br>Chromosome | موقعیت<br>Position (cM) | 2014-2015 ۹۴-۱۳۹۳ |                           |        | 2015-2016 ۹۵-۱۳۹۴ |                           |        |
|----------------------|----------------------|------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------|--------|-------------------|---------------------------|--------|
|                      |                      |                  |                        |                         | -log10(P)         | Marker R <sup>2</sup> (%) | Effect | -log10(P)         | Marker R <sup>2</sup> (%) | Effect |
| Days to anthesis     | روز تا گرده‌افشانی   | Bmac0134-173     | 2H                     | 10.87                   | 2.75              | 6.90                      | 0.903  | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | HVM54-150        | 2H                     | 122.41                  | -                 | -                         | -      | 1.62              | 3.80                      | -0.881 |
|                      |                      | HVM54-158        | 2H                     | 122.41                  | -                 | -                         | -      | 1.54              | 3.58                      | -1.326 |
|                      |                      | E35M55-262       | 4H                     | 120.64                  | -                 | -                         | -      | 2.32              | 5.86                      | 1.584  |
|                      |                      | E38M54-133       | 4H                     | 125.08                  | -                 | -                         | -      | 3.52              | 9.51                      | 2.216  |
|                      |                      | E38M55-139       | 4H                     | 68.63                   | -                 | -                         | -      | 2.36              | 5.87                      | -1.050 |
|                      |                      | E39M61-272       | 5H                     | 122.66                  | 1.56              | 3.38                      | 0.821  | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | E42M48-087       | 5H                     | 74.76                   | 3.17              | 8.44                      | 1.009  | 2.29              | 5.79                      | 1.533  |
|                      |                      | E42M32-304       | 6H                     | 104.87                  | -                 | -                         | -      | 1.67              | 3.92                      | -0.819 |
|                      |                      | E35M55-160       | Unmapped               | -                       | 1.92              | 4.41                      | 0.619  | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | E38M50-242       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 1.60              | 3.58                      | 1.645  |
|                      |                      | E42M32-529       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 3.17              | 8.94                      | -1.592 |
|                      |                      | E45M55-164       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 2.05              | 4.85                      | -0.987 |
| Days to maturity     | روز تا رسیدگی        | E38M54-260       | 1H                     | 43.69                   | -                 | -                         | -      | 1.86              | 4.39                      | 0.507  |
|                      |                      | E35M48-133       | 2H                     | 62.70                   | -                 | -                         | -      | 1.56              | 3.61                      | -0.540 |
|                      |                      | E42M32-272       | 2H                     | 14.77                   | 1.54              | 3.67                      | -0.584 | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | Bmag0223-163     | 5H                     | 86.88                   | -                 | -                         | -      | 1.62              | 3.87                      | -0.455 |
|                      |                      | E38M50-134       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 1.65              | 4.04                      | -0.394 |
|                      |                      | E42M32-187       | Unmapped               | -                       | 1.79              | 4.17                      | -0.406 | -                 | -                         | -      |
| Grain filling period | طول دوره پر شدن دانه | Bmac0134-173     | 2H                     | 10.87                   | 3.05              | 9.45                      | -2.388 | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | HVM54-150        | 2H                     | 122.41                  | -                 | -                         | -      | 1.95              | 4.96                      | 1.098  |
|                      |                      | HVM54-158        | 2H                     | 122.41                  | -                 | -                         | -      | 1.88              | 4.75                      | 1.688  |
|                      |                      | E33M54-100       | 4H                     | 65.92                   | -                 | -                         | -      | 1.69              | 3.91                      | -1.093 |
|                      |                      | E35M55-262       | 4H                     | 120.64                  | 3.65              | 11.56                     | -2.911 | 1.54              | 3.47                      | -1.354 |
|                      |                      | E38M54-133       | 4H                     | 125.08                  | 5.03              | 16.67                     | -3.921 | 2.66              | 6.66                      | -2.063 |
|                      |                      | E38M55-139       | 4H                     | 68.63                   | -                 | -                         | -      | 1.61              | 3.64                      | 0.905  |
|                      |                      | E42M48-087       | 5H                     | 74.76                   | 1.70              | 4.41                      | -1.737 | 1.97              | 4.83                      | -1.551 |
|                      |                      | E42M32-304       | 6H                     | 104.87                  | -                 | -                         | -      | 2.26              | 5.77                      | 1.094  |
|                      |                      | E33M54-095       | Unmapped               | -                       | 2.04              | 5.60                      | -1.880 | -                 | -                         | -      |
|                      |                      | E35M61-068       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 1.64              | 3.62                      | 1.057  |
|                      |                      | E42M32-529       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 1.98              | 5.15                      | 1.301  |
|                      |                      | E45M55-164       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -      | 2.45              | 6.14                      | 1.221  |

R<sup>2</sup> (%) = percentage of phenotypic variance explained by individual marker

R<sup>2</sup>(%) = درصد واریانس فنوتیپی که توسط هر نشانگر بیان می‌شود

جدول ۳- ادامه

Table 3. Continued

| صفات گیاهی<br>Traits | نشانگر<br>Marker | کروموزوم<br>Chromosome | موقعیت<br>Position (cM) | ۲۰۱۴-۲۰۱۵ ۹۴-۱۳۹۳ |                           |         | ۲۰۱۵-۲۰۱۶ ۹۵-۱۳۹۴ |                           |         |
|----------------------|------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|---------------------------|---------|-------------------|---------------------------|---------|
|                      |                  |                        |                         | -log10(P)         | Marker R <sup>2</sup> (%) | Effect  | -log10(P)         | Marker R <sup>2</sup> (%) | Effect  |
| FLL                  | E42M32-272       | 2H                     | 14.77                   | 1.90              | 4.50                      | -1.871  | -                 | -                         | -       |
|                      | E35M55-262       | 4H                     | 120.64                  | -                 | -                         | -       | 2.12              | 6.09                      | -0.856  |
|                      | E38M54-133       | 4H                     | 125.08                  | -                 | -                         | -       | 1.93              | 5.40                      | -0.875  |
|                      | E35M55-436       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 2.19              | 6.33                      | 0.622   |
|                      | E42M32-529       | Unmapped               | -                       | 2.02              | 5.01                      | -1.305  | -                 | -                         | -       |
|                      | E38M54-112       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 1.74              | 5.00                      | 0.579   |
| FLW                  | E35M55-436       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 1.57              | 4.21                      | 0.054   |
|                      | E38M50-308       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 1.55              | 4.22                      | -0.050  |
| GMS                  | E42M32-250       | 5H                     | 131.00                  | -                 | -                         | -       | 2.02              | 7.00                      | -3.767  |
|                      | E38M54-112       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 1.61              | 4.95                      | -2.787  |
| TGW                  | Bmac0134-173     | 2H                     | 10.87                   | -                 | -                         | -       | 2.09              | 5.10                      | 1.298   |
|                      | E38M54-133       | 4H                     | 125.08                  | 1.98              | 6.00                      | -3.134  | -                 | -                         | -       |
|                      | E37M33-311       | 7H                     | 70.32                   | 1.81              | 6.31                      | 2.745   | -                 | -                         | -       |
|                      | E42M32-243       | Unmapped               | -                       | 1.58              | 4.62                      | 2.371   | -                 | -                         | -       |
| GY                   | E38M55-251       | 2H                     | 151.56                  | 2.00              | 5.05                      | 67.613  | -                 | -                         | -       |
|                      | E33M54-100       | 4H                     | 65.92                   | -                 | -                         | -       | 1.60              | 3.77                      | -50.962 |
|                      | E35M54-152       | 5H                     | 100.37                  | 1.79              | 4.02                      | -62.730 | -                 | -                         | -       |
|                      | E38M55-219       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 2.14              | 5.07                      | 84.344  |
|                      | E42M32-273       | Unmapped               | -                       | -                 | -                         | -       | 1.78              | 4.44                      | 72.659  |

R<sup>2</sup> (%) = percentage of phenotypic variance explained by individual marker

R<sup>2</sup>(%) = درصد واریانس فنوتیپی که توسط هر نشانگر بیان می شود

پلیوتروپی و یا پیوستگی بین مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مورد نظر بوده و فرضیه هم‌مکانی یا چند اثره بودن QTLها را تقویت می‌کند. هم‌مکانی QTLها می‌تواند روش مناسبی برای درک اساس مولکولی صفات، به ویژه عملکرد دانه و اجزای آن، در گیاه جو باشد.

QTL روی کروموزوم‌های 1H، 2H، 4H، 5H و 7H برای صفت عملکرد دانه شناسایی شدند (Locatelli *et al.*, 2013). بر اساس نتایج این آزمایش صفات عملکرد دانه و طول دوره پر شدن دانه دارای یک QTL مشترک واقع بر کروموزوم 4H (۹۲/۶۵ سانتی مورگان) بودند.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاران محترم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی سیستان- ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی زهک که در اجرای این پروژه تحقیقاتی همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از دانشگاه زابل تشکر و قدردانی می‌شود. کد پژوهانه این تحقیق در دانشگاه زابل UOZ-GR-9718-8 می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

پویش گسترده ژنومی در ژنوتیپ‌های جو با هدف تعیین ارتباط میان داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی صورت گرفت و نتایج حاکی از وجود ارتباطات بسیار معنی‌دار در صفات مورد مطالعه بود. در مجموع ۲۸ QTL در ارتباط با صفات مورد مطالعه، معنی‌دار بودند. تعدادی از QTLها با چندین صفت در ارتباط بودند. مکان‌های مشترک برای صفات یاد شده احتمالاً ناشی از اثر

### References

- Abou-Elwafa, S.F. 2016a.** Association mapping for drought tolerance in barley at the reproductive stage. *Comptes Rendus Biologies*. 339(2): 51-59.
- Abou-Elwafa, S.F. 2016b.** Association mapping for yield and yield-contributing traits in barley under drought conditions with genome-based SSR markers. *Comptes Rendus Biologies*. 339(5-6): 153-162.
- Aghnoum, R., T.C. Marcel, A. Johrde, N. Pecchioni, P. Schweizer and R.E. Niks. 2010.** Basal host resistance of barley to powdery mildew connecting quantitative trait loci and candidate genes. *MPMI*. 23(1): 91-102.
- Alqudah, A.M and T. Schnurbusch. 2017.** Heading date is not flowering time in spring barley. *Front. Plant Sci*. 8: 896. DOI: 10.3389/fpls.2017.00896.
- Bradbury, P.J., Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss and E.S. Buckler. 2007.** TASSEL software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19): 2633-2635.
- Buckler, E.S. and J.M. Thornsberry. 2002.** Plant molecular diversity and applications to genomics. *Curr. Opinion Plant Biol*. 5(2): 107-111.
- Chen, G., T. Krugman, T. Fahima, K. Chen, Y. Hu, M. Roder, E. Nevo and A. Korol. 2010.** Chromosomal regions controlling seedling drought resistance in Israeli wild barley, *Hordeum spontaneum* C. Koch. *Genet. Resour. Crop Evol*. 57(1): 85-99.
- Chen, C.X., S.C. Li, S.Q. Wang, H.N. Liu, Q.M. Deng, A.P. Zheng, J. Zho, L.X. Wang and P. Li. 2011.**

### منابع مورد استفاده

Assessment of the genetic diversity and genetic structure of rice core parent Guichao2, its parents and derivatives. *J. Plant Sci.* 6: 66-76.

**Diab, A.A., B. Teulat, D. This, N.Z. Ozturk, D. Benscher and M.E. Sorrells. 2004.** Identification of drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags in barley. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1417-1425.

**El-Mohsen, A.A.A. 2013.** Correlation and regression analysis in barley. *World Essays J.* 1(3): 88-100.

**Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14: 2611-2620.

**Gordon, D. and S.J. Finch. 2005.** Factors affecting statistical power in the detection of genetic association. *J. Clin. Invest.* 115(6): 1408-1418.

**Jabbari, M., B.A. Fakheri, R. Aghnoum, N. Mahdi Nezhad, and R. Ataei. 2018.** GWAS analysis in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits exposed to drought. *PLOS ONE*, 13(9): e0204952. DOI: 10.1371/journal.pone.0204952.

**Kraakman, A.T.W., R.E. Niks, P.M.M.M. Van den Berg, P. Stam and F.A. Van Eeuwijk. 2004.** Linkage disequilibrium mapping of yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168(1): 435-446.

**Kraakman, A.T.W., F. Martinez, B. Mussiraliyev, F.A. Van Eeuwijk and R.E. Niks. 2006.** Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance, and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Mol. Breed.* 17: 41-58.

**Kushwaha, U.K.S., V. Mangal, A.K. Bairwa, S. Adhikari, T. Ahmed, P. Bhat, A. Yadav, N. Dhaka, D.R. Prajapati, A. Gaur, R. Tamta, I. Deo and N.K. Singh. 2017.** Association mapping, principles and techniques. *J. Biol. Environ. Engin.* 2(1): 1-9.

**Locatelli, A., A. Cuesta-Marcos, L. Gutierrez, P.M. Heyes, K.P. Smith and A.J. Castro. 2013.** Genome-wide association mapping of agronomic traits in relevant barley germplasm in Uruguay. *Mol. Breed.* 31(3): 631-654.

**Marathi, B., S. Guleria, T. Mohapatra, R. Parsad, N. Mariappan, V.K. Kurungara, S.S. Atwal, K.V. Prabhu, N.K. Singh and A.K. Singh. 2012.** QTL analysis of novel genomic regions associated with yield and yield related traits in new plant type based recombinant inbred lines of rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol.* 12: 137.

**Mueller, J.C. 2004.** Linkage disequilibrium for different scales and applications. *Brief Bioinform.* 5: 355-364.

**Pasam, R.K., R. Sharma, M. Malosetti, F.A. Van Eeuwijk, G. Haseneyer, B. Kilian and A. Graner. 2012.** Genome-wide association studies for agronomical traits in a worldwide spring barley collection. *BMC Plant Biol.* 12: 16.

**Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.

**Ramsay L., M. Macaulay, S. Degli-Ivanissevich, K. MacLean, L. Cardle, J. Fuller, K.J. Edwards, S.**

- Turesson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmioli, T. Sjakste, M. Ganal, W. Powell and R. Waugh. 2000.** A simple sequence repeats based linkage map of barley. *Genetics*, 156: 1997–2005.
- Ramsay, L., J. Comadran, A. Druka, D.F. Marshall, W.T. Thomas, M. Macaulay, K. MacKenzie, K. Simpson, J. Fuller, N. Bonar, P.M. Hayes, U. Lundqvist, J.D. Franckowiak, T.J. Close, G.J. Muhlbauer and R. Waugh. 2011.** INTERMEDIUM-C, a modifier of lateral spikelet fertility in barley, is an ortholog of the maize domestication gene *TEOSINTE BRANCHED 1*. *Natur. Genet.* 43(2): 169-172.
- Rustgi, S., M.N. Shafaqat, N. Kumar, P.S. Baenziger, M.L. Ali, I. Dweikat, B.T. Campbell and K.S. Gill. 2013.** Genetic dissection of yield and its component traits using high-density composite map of wheat chromosome 3A: bridging gaps between QTLs and underlying genes. *PLOS ONE*, 8(7): e70526 .doi:10.1371/journal.pone.0070526.
- Spiertz, J.H.J., B.A. Tenhag and L.J.P. Kupers. 1971.** Relation between green area duration and grain yield in some varieties of spring wheat. *Neth. J. Agric. Sci.* 19: 211-222.
- Sun, D., W. Ren, G. Sun and J. Peng. 2011.** Molecular diversity and association mapping of quantitative traits in Tibetan wild and worldwide originated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm. *Euphytica*, 178: 31-43.
- Wang, J., G. Sun, X. Ren, C. Li, L. Liu, Q. Wang, B. Du and D. Sun. 2016.** QTL underlying some agronomic traits in barley detected by SNP markers. *BMC Genet.* 17: 103.
- Xu, X., R. Sharma, A. Tondelli, J. Russell, J. Comadran, F. Schnaithmann, K. Pillen, B. Kilian, L. Cattivelli, W.T.B. Thomas and A.J. Flavell. 2018.** Genome-wide association analysis of grain yield-association traits in a Pan-European barley cultivar collection. *Plant Genome*, 11(1): 170073.
- Xue, D.W., M.C. Chen, M.X. Zhou, S. Chen, Y. Mao and G.P. Zhang. 2008.** QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 9(12): 938-943.
- Yan, J., M. Warburton and J. Crouch. 2011.** Association mapping for enhancing maize (*Zea mays* L.) genetic improvement. *Crop Sci.* 51: 433-449.

## Identification of genomic loci controlling phenologic and morphologic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using association analysis

Koochakpour, Z.<sup>1</sup>, M. Solouki<sup>2</sup>, B. Fakheri<sup>3</sup>, R. Aghnoum<sup>4</sup>, N. Mahdi Nezhad<sup>5</sup> and M. Jabbari<sup>6</sup>

### ABSTRACT

Koochakpour, Z., M. Solouki, B. Fakheri, R. Aghnoum, N. Mahdi Nezhad and M. Jabbari. 2021. Identification of genomic loci controlling phenologic and morphologic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using association analysis. **Iranian Journal of Crop Sciences**. 22(4): 291-304. (In Persian).

Association mapping is a technique with high resolution for QTL mapping based on linkage disequilibrium and has shown more promising for describing genetically complex traits. In addition, it is a powerful tool for describing complex agronomic traits and identifying alleles that can contribute to enhance the desired traits. In this study, whole genome association mapping was used in a set of 148 spring barley cultivars. Phenotypic evaluation was conducted at Zahak Agricultural Research Station, Iran, using alpha-lattice design with two replications, for two cropping cycle (2014-2015 and 2015-2016). Traits such as days to anthesis, days to physiological maturity, grain filling period, flag leaf length, flag leaf width, grain number per main spike, thousand grain weight and grain yield were measured. Association analysis between the markers and phenotypic traits was performed with a mixed linear model (MLM with K+Q). In total 28 QTLs were identified which were related to the measured traits. A stable QTL was detected on chromosome 5H (74.76 cM) for days to anthesis. Three QTLs were detected on chromosomes 4H (125.08 cM and 120.64 cM) and 5H (74.76 cM) for grain filling period. One QTL on chromosome 2H (10.87 cM) was associated with days to anthesis, grain filling period and 1000 grain weight. One QTL on chromosome 4H (125.08 cM) was also associated with days to anthesis, grain filling period as well as flag leaf length and 1000 grain weight. Common genetic locations for these traits could be due to pleiotropic effects or genetic linkage.

**Key words:** Association mapping, Barley, Chromosome, Genomic loci and Thousand grain weight.

---

Received: May, 2019      Accepted: February, 2021

1. Former PhD Student, University of Zabol, Zabol, Iran

2. Professor, University of Zabol, Zabol, Iran (Corresponding author) (Email: mahmood.solouki@gmail.com)

3. Professor, University of Zabol, Zabol, Iran.

4. Assistant Prof., Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

5. Assistant Prof., University of Zabol, Zabol, Iran

6. Assistant Prof., Higher Education Complex of Saravan. Saravan, Iran