

مکان یابی QTL‌های مرقبت با جذب و تجمع بُر در بخش هوایی جو در مراحل رویشی و رسیدگی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

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

Abbaszadeh, M., S. A. Mohammadi, M. Mقدم و B.صادقزاده. ۱۳۹۲. مکان یابی QTL‌های مرقبت با تجمع بُر در بخش هوایی جو در مراحل رویشی و رسیدگی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله علوم زراعی ایران. ۱(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 سال ۱۳۸۹ در دانشگاه تبریز اجرا شد، ۱۵۰ لاین هاپلوبید 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 حداقل فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۵۰ سانتی مورگان انجام شد. نقشه پیوستگی حاصل، ۱۵۲۱/۸ سانتی مورگان ژنوم جو را با متوسط فاصله بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۴/۰۹ سانتی مورگان پوشش داد. براساس مکان یابی فاصله‌ای مركب، QTL۲۳ برای صفات مورد مطالعه مکان یابی 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 مکان یابی شده برای وزن تک بوته، غلظت و محتوای بُر در مرحله گیاهچه‌ای به ترتیب ۲۸، ۶۱ و ۴۰ درصد و در مرحله رسیدگی ۳۶، ۵۱ و ۳۶ درصد تغییرات فنوتیپی صفات را تبیین کردند. برای کلیه صفات مورد ارزیابی، تفکیک متتجاوز مشاهده شد که نشاندهنده وجود ترکیبات آلی مطلوب والدین در نتاج بود. اثر افزایشی مثبت و منفی برای QTL‌های شناسایی شده بیان گر انتقال آلل‌های مطلوب از هر دو والد به نتاج در جایگاه‌های مذکور بود. چهار QTL مشترک برای صفات مورد مطالعه مکان یابی 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 بُر و نیز انتقال آلل‌های مطلوب به ارقام اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اثر پلیوتروپیک، جو، ریزمغذی‌ها، مکان یابی، فاصله‌ای مركب و نشانگرهای SSR.

این مقاله مستخرج از پایان نامه 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

شده است. کاهش (Ambak and Tadano, 1991

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، با قیمانده‌های حاصل از معادن، خاکستر و مواد شیمیایی صنعتی ایجاد می‌شود (Gupta *et al.*, 1995; Nable *et al.*, 1997). غالباً 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 علایم برگی، 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 مانع برای جوانه‌زنی بذور و غالباً 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، حلالت 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 کمیود یا سمیت بُر روی گیاهان در کشور انجام شده است. صدوqi و همکاران (Sadoghi *et al.*, 2008) در آزمایشی تاثیر سطوح صفر، ۲، ۴ و ۶ میلی گرم بُر در لیتر آب آبیاری را همراه با سه سطح شوری خاک با هدایت الکتریکی ۰/۴، ۴/۵ و ۹/۰

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 $5/3 \times 10^9 \text{ bp}/1\text{C}$ است (Ramsay *et al.*, 2000). سطح زیر کشت جهانی جو در سال ۲۰۱۰ برابر ۵۴۰۵۹۷۰۵ هکتار با متوسط عملکرد دانه ۲۸۱۴ کیلو گرم 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 کیلو گرم در هکتار و میزان تولید FAO, ۳۴۴۶۲۳۰ و ۲۱۳۵۴۱۰۳ تن گزارش شده است (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 پلاسمای انتقال می‌دهند (Tanaka and Fujiwara, 2008). اولین ناقل بُر در بخش‌های مختلف گیاهی عبارت از BOR1 است که برای اولین بار در *Arabidopsis thaliana* شناسایی شد (Takano *et al.*, 2002). وظیفه اصلی بُر هنوز در گیاهان به طور 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 دانه گرده و طویل شدن لوله گرده ایفا می‌کند (Blevins and Lukaszewski, 1998). کمبود بُر موجب نرعمی در برنج (Garg *et al.*, 1979)، ذرت (Rerkasem and Jamjod, 1981) و جو (Agrawala *et al.*, 1981)

همکاران (1999) QTL (Jefferies *et al.*, 1999) های را روی کروموزوم‌های 2H، 3H، 4H و 6H برای تحمل به بُر در یک جمعیت لاین‌های هاپلویید مضاعف جو گزارش کردند. هوین و همکاران (Huynh *et al.*, 2009) با استفاده از جمعیت لاین‌های هاپلویید مضاعف جو، حاصل از تلاقی دو رقم Clipper و Sahara3771 و 6H QTL هایی 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 عالیم برگی، 6H با جذب بُر، 3H و 5H با طویل شدن ریشه مرتبط بودند.

در سایر گیاهان نیز مطالعاتی در رابطه با مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده بُر انجام شده است. جفریز و همکاران (2000) با استفاده از نشانگرهای AFLP و RFLP در ۱۶۱ لاین هاپلویید مضاعف گندم، حاصل از تلاقی رقم متتحمل به سمیت بُر Halberd و رقم نیمه حساس Cranbrook جایگاه‌هایی را در کروموزوم 7B و 7D مرتبط با بروز عالیم برگ، 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 هاپلویید مضاعف کلزا تحت شرایط عادی و کمبود بُر در شرایط کشت هیدرولوژیک مکان‌یابی کردند. زو و همکاران (Xu *et al.*, 2001) در جمعیت F_2 متشکل از ۱۲۸ فرد، حاصل از تلاقی ارقام متتحمل و حساس به سمیت بُر (Bakow و Qingyou10)، یک QTL بزرگ اثر با درجه تبیین فتوتیپی ۶۴ درصد و سه QTL کوچک اثر برای کارایی بُر را گزارش کردند. تاکانو و همکاران (Takano *et al.*, 2006) در آراییدوپسیس، ژن‌های رمز کننده AtBORI وابسته به خانواده ناقلين 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

دسى زیمنس 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 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 مقدار ۲۵ تن در هکتار، رُوی در دو سطح صفر و ۵۰ 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 Astaraei, 2010).

شناسایی مکان‌های ژنی دخیل در تجمع و تحمل به سمیت بُر، گام اساسی در اصلاح و تولید ارقام متتحمل به شمار می‌آید. ساتون و همکاران (Sutton *et al.*, 2007) ژن روز کروموزوم 4H Bot1 را روی کروموزوم جوبه‌عنوان اولین ژن کنترل کننده تحمل به سمیت بُر شناسایی کردند. اشنوربوش و همکاران (Schnurbusch *et al.*, 2010) ژن رمز کننده 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 هاپلویید مضاعف حاصل از تلاقی ارقام QTL، Clipper و Sahara3771 هایی را در رابطه با تجمع بُر روی بازوی بلند کروموزوم‌های 4H و 6H با تبیین ۸۰ درصد واریانس فتوتیپی 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 آون 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 تهشیین مواد ICP-MS ریز معلق (بعد از یک روز) توسط دستگاه 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 هوايی جو در مراحل گیاهچه‌ای و رسیدگی در جمعیت لاین‌های هاپلویید مضاعف، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنتیپی

این آزمایش در سال ۱۳۸۹ در آزمایشگاه ژنومیکس و اصلاح نباتات مولکولی دانشگاه تبریز اجرا شد، مواد گیاهی مورد استفاده شامل جمعیت مرکب از ۱۵ لاین هاپلویید مضاعف جو، حاصل از تلاقی دو رقم Clipper Sahara3771 و Sahara3771 بود که از دانشگاه استرالیای غربی دریافت گردید. رقم بومی زمستانه، متحمل به سمیت بُر و نیز با کارایی بالای بُر، شش ردیفه، پابلند 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 فنتیپی در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. افراد جمعیت هاپلویید مضاعف به همراه والدین در گلدان‌هایی به ابعاد ۷۰×۷۰×۲۰۰ میلی‌متر حاوی ۱/۵ کیلوگرم خاک شنی بسیار فقیر از لحاظ مواد غذایی با $\text{pH}=6/1$ 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 $\text{KH}_2\text{PO}_4=9$ ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}=21$ ، $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}=147$ ، $\text{K}_2\text{SO}_4=145$ ، $\text{H}_3\text{BO}_3=0/7$ ، $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}=15$ ، $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}=2$ و $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}=0/8$ و $\text{NH}_4\text{NO}_3=43$ ، $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}=0/2$ (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 متر گان 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 QTL های شناسایی شده اثر افزایشی و درصد تبیین واریانس فتوتیپی صفت محاسبه شد.

نتایج و بحث

توزیع فتوتیپی صفات مورد مطالعه در جمعیت

بین لاین ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه تفاوت معنی داری وجود داشت. وزن خشک تک بوته در مرحله گیاهچه ای 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 معنی دار 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 معنی داری از نظر وزن خشک تک بوته مشاهده نشد (LSD_{0.05}=۰/۱۶). غلظت بُر در مرحله گیاهچه ای، در محدوده ۵/۵۳ تا ۱۸/۰ با میانگین ۹/۹۹ میلی گرم در کیلو گرم به دست آمد. در والد Clipper، غلظت بُر ۹/۱ و در والد Sahara 3771 ۸/۵۵ میلی گرم در کیلو گرم بود، ولی اختلاف میانگین آنها معنی دار نبود (LSD_{0.05}=۳/۰۸). غلظت بُر در مرحله رسیدگی، از ۹/۱۲ تا ۲۱/۴۶ با میانگین ۱۴/۱۰ میلی گرم در کیلو گرم متغیر بود. ارقام Clipper و Sahara3771 به ترتیب دارای ارزش های ۱۶/۶۰ و ۱۲/۴۱ میلی گرم در کیلو گرم برای این صفت بودند و از این نظر بین آنها تفاوت معنی دار مشاهده شد (LSD_{0.05}=۲/۴۹). محدوده محتوای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه ای در افراد جمعیت بین ۴/۷۶ تا ۱/۵۶

چندشکلی والدین با ۲۸۸ جفت آغازگر ریزماهواره ارزیابی و ۱۲۶ جفت آغازگر چند شکل با الگوی EBmac مناسب شامل ۷۷ جفت آغازگر EBmac (Ramsay *et al.*, 2000) و EBmatc (Struss and Plieske, 1998) GMS آغازگر (Li *et al.*, 2003) GBMS آغازگر (Saghai Maroof *et al.*, 1994) HVM آغازگر (Thiel *et al.*, 2003) GBM آغازگر (Ramsay *et al.*, 2004) scssr آغازگر (Pillen *et al.*, 2000) Hv آغازگر (Pillen *et al.*, 2000) و یک جفت از هر کدام آغازگرهای WMC1E8 و TacMAD برای غربال جمعیت استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلی مراز در حجم ۱۰ میکرو لیتر انجام شد. چرخه های حرارتی شامل واسر شت سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۳۵ چرخه با واسر شت سازی در دمای ۹۴ سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرهای در دمای اختصاصی آنها به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ سانتیگراد چرخه بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ سانتیگراد بود. محصولات تکثیری به کمک الکتروفورز ژل پلی اکریلامید ۴ درصد در دستگاه ژل اسکن مدل ۳۰۰۰ (Corbet, Australia) تفکیک شد.

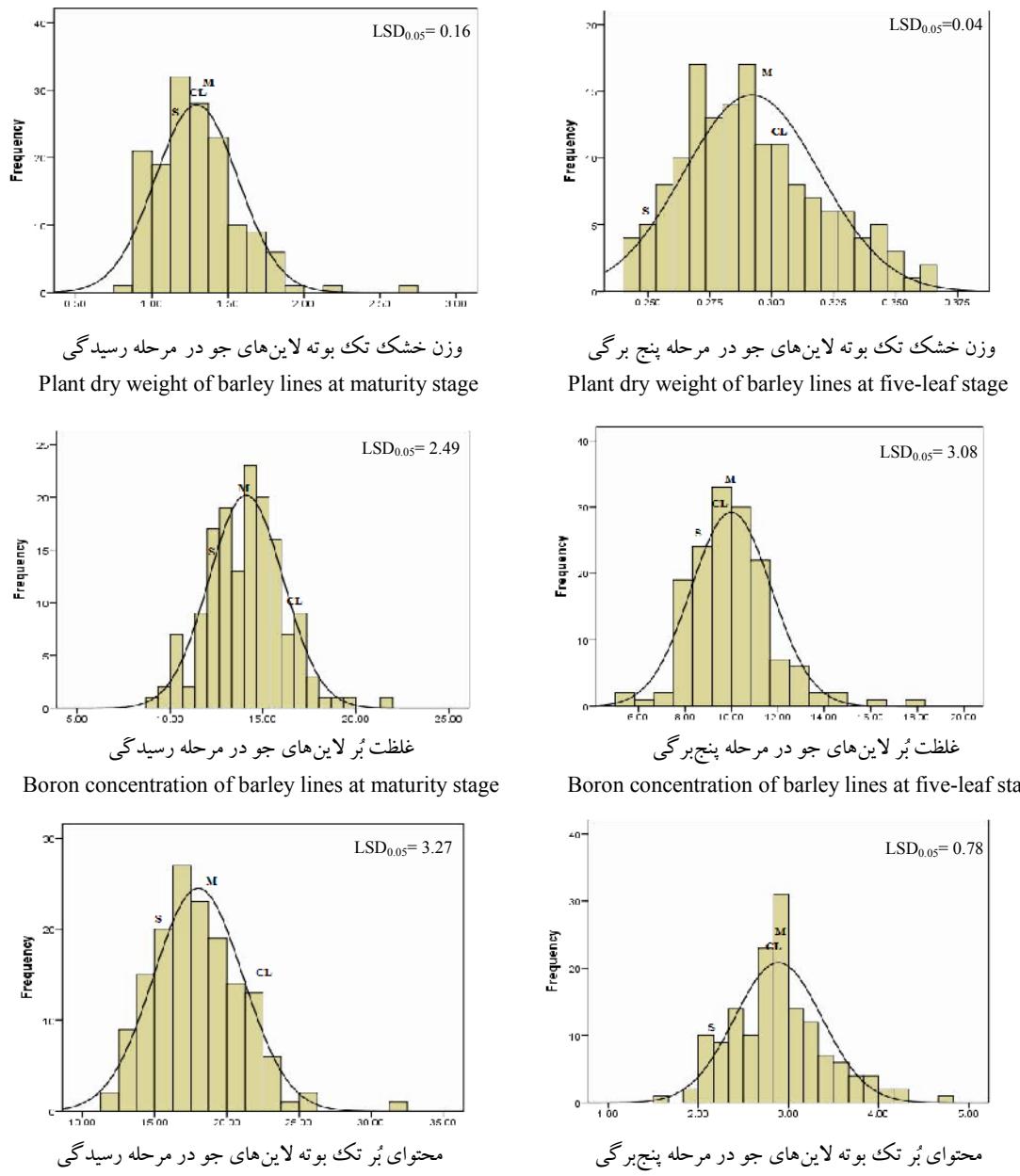
تجزیه های آماری

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 لاین های هاپلویید 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 لاین‌های هاپلوبید مضاعف جو در جایگاه Clipper :CL و Sahara3771 :S .scssr07759

Fig. 1. Banding pattern of Clipper and Sahara3771 barley varieties and some doubled haploid lines in scssr07759 microsatellite locus. S: Sahara3771; CL: Clipper



شکل ۱- توزیع فنتوتیبی صفات گیاهی در لاین‌های هاپلوبید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام

Clipper و Sahara3771 میانگین جمعیت، M: میانگین گیاهی در مراحل پنج برگی و رسیدگی. S: Sahara3771 و CL: 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 هاپلولید 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 | QTل اثر QTل effect (%) |
|--|--|--|--|----------------------------|--|--|-------------------------------|
| Plant dry weight (plant ⁻¹) of barley lines at five-leaf stage | وزن خشک تک بوته لاین‌های جو در مرحله پنج برگی | 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 Bmag0347-EBmac0695 EBmac0695-Bmag0345 Bmac0096-Bmac0163 | 0.03 0.56 0.60 0.81 | 2 1 1 5 | 12.72 3.95 4.67 4.30 | -0.13 0.06 0.06 -0.5 | 22 5 7 8 |
| Boron concentration of barley lines at five-leaf stage | غلظت بُر لاین‌های جو در مرحله پنج برگی | Bmac0163-Bmac0306 Bmag0812-GBM1363 GBMS180-Bmag0496 EBmac0874(c)-EBmac0874(a) EBmac0679-TacMAD HVM60-Bmag0603 | 0.91 2.31 0.58 0.70 1.24 0.60 | 5 5 6 6 4 3 | 3.14 7.55 4.67 4.87 8.03 3.60 | -0.47 0.7 -0.54 -0.55 -0.72 -0.67 | 7 15 8 8 15 11 |
| Boron concentration of barley lines at maturity stage | غلظت بُر لاین‌های جو در مرحله رسیدگی | Bmac0125-Bmag0378 Bmac0096-Bmac0163 Bmac0306-MGB384 TacMAD-Bmag0419 Bmac0125-Bmag0378 | 0.02 0.82 1.01 1.41 0.01 | 2 5 5 4 2 | 5.36 3.77 4.49 3.66 3.20 | 0.73 -0.61 -0.7 -0.6 0.12 | 12 9 11 8 5 |
| Boron content (plant ⁻¹) of barley lines at five-leaf stage | محتوای بُر تک بوته لاین‌های جو در مرحله پنج برگی | Bmac0096-Bmac0163 EBmac0874(c)-EBmac0874(a) TacMAD-Bmag0419 Bmac0125-Bmag0378 | 0.84 0.70 1.33 0.02 | 5 6 4 2 | 4.30 6.35 5.71 4.87 | -0.16 -0.20 -0.20 -1.13 | 9 12 14 10 |
| Boron content (plant ⁻¹) of barley lines at maturity stage | محتوای بُر تک بوته لاین‌های جو در مرحله رسیدگی | Bmag0140-Bmag0813 Bmag0347-EBmac0695 HVM03-GBM1509 | 0.48 0.57 0.63 | 2 1 4 | 3.48 4.48 3.88 | -0.92 0.88 1.60 | 7 8 11 |

طول ۱۱۹/۹ سانتی مورگان و کروموزوم ۲ با ۱۸ نشانگر و طول ۲۹۰/۴ سانتی مورگان 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 سانتی مورگان ایجاد کردند. کروموزوم ۵ (دو گروه پیوستگی) شامل ۱۸ نشانگر با طول ۲۷۶/۸ سانتی مورگان و کروموزوم ۶ با طول ۸۲/۲ سانتی مورگان شامل ۱۳ نشانگر بود. در کروموزوم ۷، با طول ۳۸۵/۶ سانتی مورگان، 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 GBMS1363 در کروموزوم ۵ مکانیابی شد که ۲۸ درصد واریانس فتوتیپی 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 ۱H و ۲H قرار داشتند. QTL واقع در کروموزوم ۲H با تبیین ۲۲ درصد تغییرات وزن خشک تک بوته بین نشانگرهای Bmag0378 و Bmac0125 قرار داشت و دارای اثر افزایشی منفی بود. در کروموزوم ۱H، QTL واقع بین نشانگرهای Bmag0347 و EBmac0695 و EBmac0695 مکانیابی شده در حد فاصل نشانگرهای Bmag0345، هفت درصد تغییرات فتوتیپی صفت را تبیین کردند و هر دو دارای اثر افزایشی مثبت بودند. سه QTL در مجموع ۳۴ درصد از تغییرات فتوتیپی وزن خشک تک بوته در مرحله رسیدگی را تبیین کردند (جدول ۱).

جفریز و همکاران (Jefferies *et al.*, 1999) یک QTL روی کروموزوم ۴H که با نشانگر ریزماهواره

میکروگرم با میانگین ۲/۸۹ میکروگرم متغیر بود و بین لاین‌ها تفاوتی در حدود ۳/۲ میکروگرم وجود داشت. Sahara 3771 Clipper ۲/۸۴ و در ۱۰ میکروگرم بود و اختلاف بین میانگین دو والد معنی‌دار نشد ($LSD_{0.05} = ۰/۷۸$). 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 ($LSD_{0.05} = ۳/۲۷$). برای هرسه صفت مورد بررسی در جمعیت، تفکیک متجاوز مشاهده شد (شکل ۲) که نشان دهنده وجود ترکیب آلل‌های والدینی مناسب در نتاج بود.

لونرگان و همکاران (Lonergan *et al.*, 2009)، غلظت بُر بخش هوایی در مرحله رویشی را پس از ۲۸ روز رشد برای لاین‌های هاپلوید 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 (Jefferies *et al.*, 1999) نیز در همین جمعیت، غلظت بُر بخش هوایی را در محدوده ۶۱۰-۹۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و در ارقام Sahara 3771 و Clipper به ترتیب ۵۱۰ و ۹۱ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آوردند. نسیم (Nasim, 2010) بیان کرد که در سطوح مختلف Zn و B، غلظت بُر در بخش هوایی رقم Clipper به طور 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 سانتی مورگان و فاصله در بین دو نشانگر مجاور برابر با ۱۴/۰۹ سانتی مورگان منتبه 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.*, 1999) و 4H (McDonald *et al.*, 2010; Lonergan *et al.*, 2009; McDonald *et al.*, 2010) شده است (Sutton *et al.*, 2007; 2010). 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 ییشتی در کنترل غلظت بُر داشت.

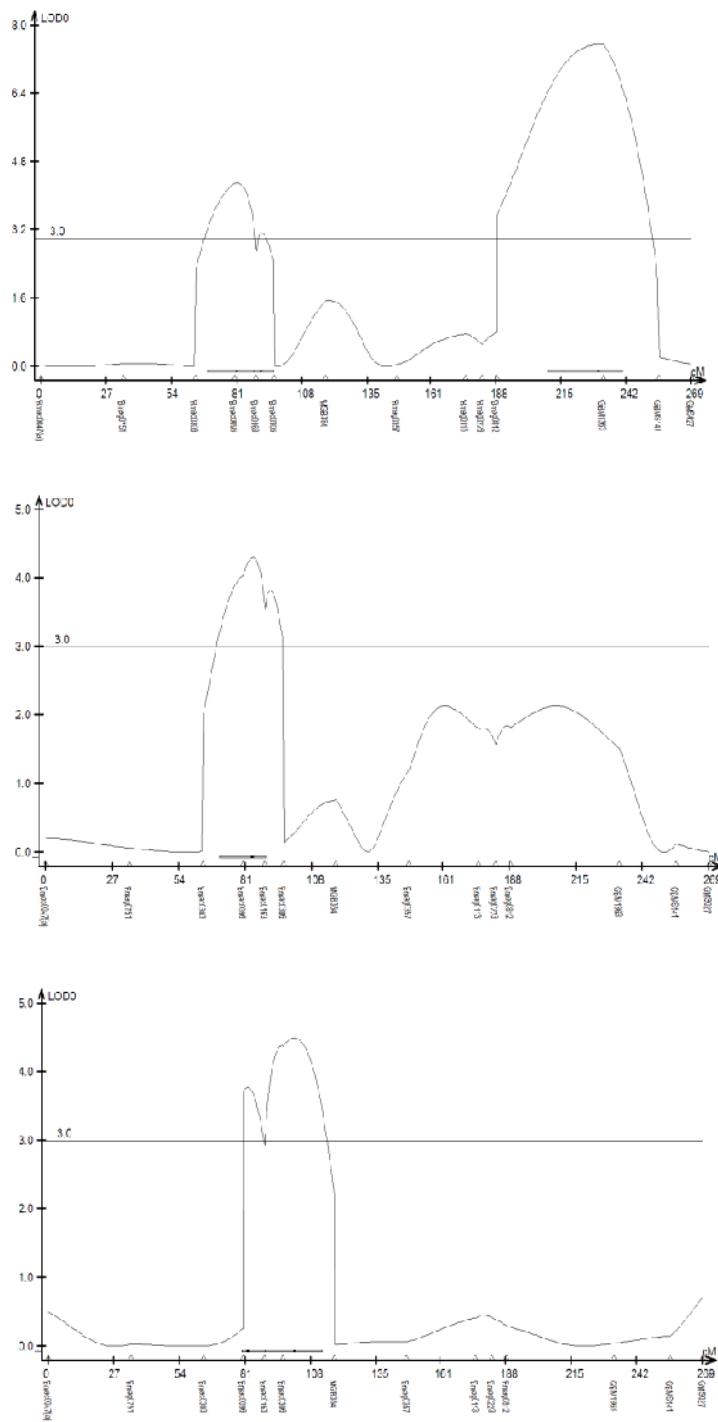
محتواهای بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و رسیدگی در مرحله گیاهچه‌ای چهار QTL برای محتواهای بُر تک بوته شناسایی شد که در کروموزوم‌های 2H، 4H، 5H و 6H قرار داشتند. در کروموزوم 2H، بین نشانگرهاي Bmag0378 و Bmac0125، با پنج درصد تغییرات فتوتیپی دارای اثر افزایشی مثبت بود، بنابراین آلل مطلوب در این جایگاه از والد Clipper به نتاج منتقل شده است. سه QTL دیگر به ترتیب بین نشانگرهاي Bmac0096 و Bmac0163، Bmac0096 و TacMAD، EBmac0874(a) و EBmac0874(c) و TacMAD در کروموزوم‌های 5H، 6H و 4H مکان‌یابی شدند که ۹، ۱۲ و ۱۴ درصد از تغییرات فتوتیپی 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

WG114 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

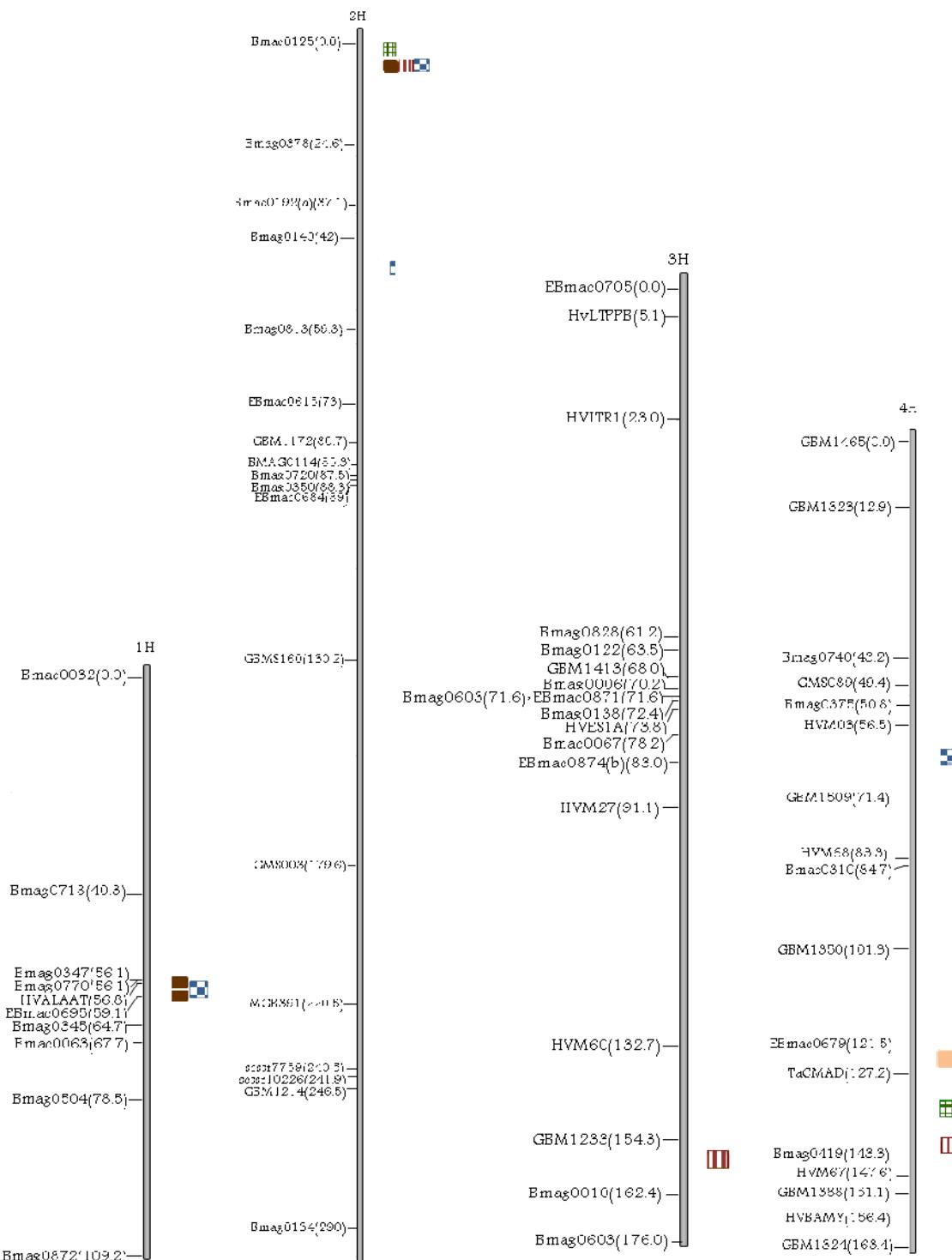
برای غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای، شش QTL شناسایی شد که ۲، ۳ و ۱ QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 5H، 6H و 4H قرار داشتند. این QTL‌ها در مجموع ۶۱ درصد از واریانس فتوتیپی غلظت بُر در مرحله گیاهچه‌ای را تبیین کردند. QTL‌های واقع بین نشانگرهاي "Bmag0812" و "GBM1363" و بین "TacMAD" و "EBmac0679" به ترتیب در کروموزوم 5H و 4H با ۱۵ درصد تبیین واریانس فتوتیپی بیشترین اثر را بین QTL‌ها داشتند. از شش QTL شناسایی شده، پنج QTL دارای اثر افزایشی منفی بودند که نشان دهنده توارث آلل افزاینده غلظت بُر در این جایگاه‌ها از والد Sahara3771 به نتاج بود. در مرحله رسیدگی، پنج QTL شناسایی شد که ۱، ۲ و ۱ QTL به ترتیب در کروموزوم‌های 2H، 3H، 5H و 4H واقع شدند. این QTL‌ها در مجموع ۵۱ درصد از واریانس فتوتیپی غلظت بُر در مرحله رسیدگی را تبیین کردند. QTL واقع در میان نشانگرهاي Bmag0378 و Bmac0125 در کروموزوم 2H با ۱۲ درصد تبیین واریانس فتوتیپی بیشترین اثر را بین QTL‌ها داشت. اثر افزایشی این QTL مثبت بود، بنابراین آلل افزاینده 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 QTL‌های مرتبط با تجمع بُر در بخش هوایی"



شکل ۳- منحنی LOD برای QTL‌های مکان یابی شده (الف) غلظت بُر (کروموزوم 5H) و (ب) محتوای بُر (کروموزوم 6H) در مرحله گیاهچه‌ای و (ج) غلظت بُر در مرحله رسیدگی (کروموزوم 5H) در جمعیت لاین‌های هاپلولید 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

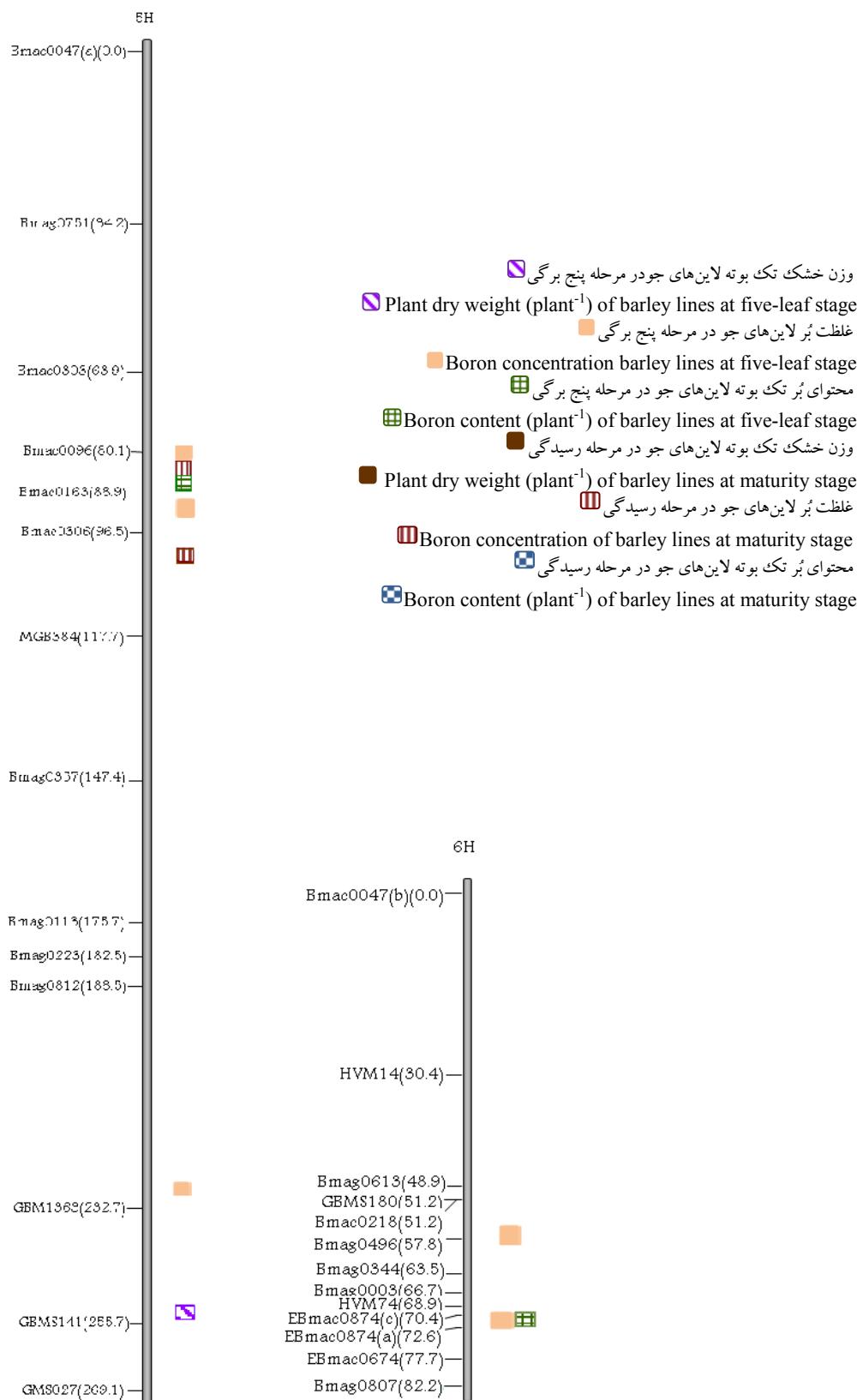


شکل ۴- مکان کروموزومی QTL‌های شناسایی شده برای صفات گیاهی در جمعیت لاین‌های هاپلوید مضاعف جو حاصل از تلاقی ارقام Clipper و Sahara3771

Fig. 4. Chromosomal location of the QTLs identified for plant characteristics in barley double haploid lines

population derived from a cross between Clipper and Sahara3771 cultivars

"مکانیابی QTL‌های مرتبط با تجمع بُر در بخش هوایی"



شکل ۴- ادامه

Fig. 4. (Continue)

(Schnurbusch *et al.*, 2010) اشنوربوش و همکاران (2010) نشان دادند که آلل Sahara روی کروموزوم 6H به تنها بیانی باعث تحمل به بُر شده و همراه با آلل H (Bot1) موجب کاهش تجمع بُر در برگ تا ۴۰ درصد می‌شود. Riley (1987) نشان داد که غلظت بُر در جو می‌تواند افزایش یابد بدون آن که کاهش معنی‌داری در رشد گیاه و ظهور علایم سمتی 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 Bmac0378 در کروموزوم 2H حامل QTL‌های وزن تک بوته در مرحله رسیدگی و محتوا بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و غلظت و محتوا بُر تک بوته در مرحله رسیدگی بود. در کروموزوم 5H بین نشانگرهای Bmac0096 و Bmac0163، همکاران (2010) برای غلظت و محتوا 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، محتوا بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای قرار داشتند. بین نشانگرهای Bmag0419 و TacMAD QTL در کروموزوم 4H، محتوا بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای و غلظت بُر

از تغییرات محتوا بُر تک بوته در مرحله گیاهچه‌ای را تبیین کردند. در مرحله رسیدگی نیز چهار QTL شناسایی شدند که ۱، ۲ و ۴H به ترتیب در کروموزوم‌های 1H، 2H و 4H قرار داشتند. در Bmag0347 QTL واقع بین نشانگرهای EBmac0695، ۸ درصد تغییرات فتوتیپی صفت را تبیین کرد و اثر افزایشی مثبت داشت. در کروموزوم 2H، دو QTL به ترتیب بین نشانگرهای Bmac0125 و Bmag0378 و «Bmag0140» و «Bmag0813» با تبیین ۱۰ و ۷ درصد از تغییرات فتوتیپی دارای اثر افزایشی منفی بودند. در کروموزوم 4H نیز یک QTL بین نشانگرهای GBM1509 و HVM03 مکان‌یابی شد که ۱۱ درصد از تغییرات فتوتیپی را تبیین کرد و دارای اثر افزایشی مثبت بود. چهار QTL در مجموع ۳۶ درصد از تغییرات محتوا 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 سمتی بُر مکان‌یابی کردند و نشان دادند که حضور آلل‌های Sahara روی این کروموزوم‌ها باعث کاهش بیان علائم سمتی و تجمع بُر می‌شود.

بود که والدین حاضر می‌توانند در برنامه‌های اصلاح جو ایران جهت افزایش کارایی جذب بُر، استفاده شوند. برخی از QTL‌های شناسایی شده با تیپین در صد بالاتری از تغییرات فوتیپی صفات مورد مطالعه به عنوان QTL بزرگ‌تر شناخته شدن که نشانگرهای پیوسته با این QTL‌ها می‌توانند در برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگر جهت گرینش لاین‌های برتر و انتقال آلل‌های مطلوب استفاده گرددند.

سپاسگزاری

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

در مرحله رسیدگی شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری

اغلب مطالعات انجام شده در رابطه با بُر برای حل مشکل سمیّت 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 تعکیک متجاوز برای کلیه صفات مورد مطالعه نشان‌دهنده ترکیب آلل‌های مطلوب والدین در برخی از نتاج بود که می‌تواند برای اهداف اصلاحی بعدی و یا گرینش ژنوتیپ‌های مطلوب استفاده شود. شناسایی QTL‌هایی با اثرهای افزایشی مثبت و منفی، بیانگر انتقال آلل‌های مطلوب در این جایگاه‌ها از هر دو والد به نتاج

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.
- 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.ucdavis.edu/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, Waite 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. Astaraei.** 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.
- Pullen, 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. Tuveson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmiroli, 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. Astaraei and Z. Sharifi.** 2008. Effect of different levels of salinity and boron on grain yield and nutrient uptake in barely. Abstract Book of 10th Iranian Crop Science Congress, 18-20 Agu. 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. Vonwieren 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