



Genetic dissection of flag-leaf related traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) under normal and drought stress conditions

Hazhir Beheshtizadeh¹✉, Barat Ali Fakheri², Reza Aghnoum³, Nafiseh Mahdi Nezhad⁴, Seyyed Saied Pourdada⁵, Bahram Masoudi⁶ & Sara Farokhzadeh⁷

¹ PhD of Plant Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

² Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

³ Research Associate Professor, Seed and Plant Improvement Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

⁴ Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.

⁵ Research Professor, Oil Crops Research Department, Dryland Agricultural Research Institute, Sararood Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran.

⁶ Research Assistant Professor, Oil Crops Research Department, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

⁷ PhD of Plant Breeding, Field and Horticultural Crops Research Department, Fras Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: hajer13671367@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Barley (*Hordeum vulgare* L.) is known as the fourth most important grain crop in the world. Drought stress is also one of the main factors that reduce the growth and yield of barley, and grain yield is directly related to the morphological characteristics of the flag leaf.

Materials and methods: In order to identify the main and epistatic genomic regions and investigate their interaction with the environment for morphological traits related to flag leaf, including length, width, area, and flag leaf sheath length, an experiment was conducted with 136 doubled haploid lines of barley along with their parents 'Nure' and 'Tremois' using an alpha lattice design with two replications under normal and drought stress conditions at the Zabol Agricultural Research Station, Iran, in 2015-16 growing season. The genetic map of the target population comprised 543 markers (including DArT, SSR, SNP, and AFLP markers) for the QTL analysis. In this study, single-locus and two-locus QTL analyses were performed using the composite interval mapping (CIM) and mixed-model based composite interval mapping (MCIM) methods, respectively.

Results: Based on a single-locus analysis, five QTLs were identified, including three putative QTLs, *Q1FLW-1H.SZ*, *Q1SHFLL-1H.NZ* and *Q2SHFLL-1H.NZ* at *bPb-6343-bPb-8081*, *bPb-1419-bPb-9180*, and *bPb-9108-bPb-6343* marker intervals, and two suggestive QTLs, on chromosomes 1H and 5H for the traits of flag leaf width (FLW, cm) and flag leaf sheath length (SHFLL, cm). Based on a two-locus analysis, eight additive (M-QTL) QTLs and 15 pairs of epistatic effects (E-QTL) were detected for different traits, among which two pairs of epistatic QTLs for the FLW trait showed significant QTL × environment interactions (AAEI). All detected M-QTLs for flag-leaf-related traits across two environments, without additive × environment interactions (AEI), were identified as stable QTLs, and the highest number of stable QTLs was associated with chromosome 1H. In this study, drought stress-tolerant QTLs were identified in all barley chromosomes except chromosome 2H.

Conclusion: Most of the QTLs associated with the investigated traits in the Nure/Tremois population in the present study have not been reported previously and, therefore, are novel. The stable and putative QTLs controlling flag-leaf-related traits in this study, along with the markers linked to these QTLs, can be utilized in marker-assisted selection (MAS) and gene pyramiding breeding programs after confirmation and validation in different environmental conditions and genetic backgrounds to create high-yielding and drought-tolerant barley cultivars. Additionally, these findings will accelerate the understanding of the genetic relationships among spike-related traits at the molecular level.

Keywords: Additive QTL, barley, drought tolerance, epistatic effects, QTL × environment interaction.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 13 Apr 2023, Revised: 27 Apr 2023, Accepted: 17 May 2023, Published online: 26 Jun 2023

Cite this article: Beheshtizadeh, H., Fakheri, B. A., Aghnoum, R., Mahdi Nezhad, N., Pourdada, S. S., Masoudi, B. & Farokhzadeh, S. (2023). Genetic dissection of flag-leaf related traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) under normal and drought stress conditions. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 2(2), 132-152. DOI: [10.22126/cbb.2023.9234.1047](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.9234.1047)





بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

تجزیه ژنتیکی صفات مرتبط با برگ پرچم در جو (*Hordeum vulgare L.*) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی

هژیر بهشتی‌زاده^۱✉، براتعلی فاخری^۲، رضا اقنوم^۲، نفیسه مهدی‌نژاد^۴، سید سعید پورداد^۵، بهرام مسعودی^۶ و سارا فرخ‌زاده^۷

^۱ دکتری اصلاح نباتات، بخش اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۲ استاد، بخش اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۳ دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

^۴ دانشیار، بخش اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

^۵ استاد پژوهشی، بخش تحقیقات دانه های روغنی، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم، معاونت سرارود، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

^۶ استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات دانه های روغنی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

^۷ دکتری اصلاح نباتات، بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: hajer13671367@gmail.com

چکیده

مقدمه: جو (*Hordeum vulgare L.*) به‌عنوان چهارمین غله مهم در جهان شناخته می‌شود. تنش خشکی نیز یکی از عوامل اصلی کاهش رشد و عملکرد جو است و عملکرد دانه با ویژگی‌های مورفولوژیکی برگ پرچم به‌طور مستقیم ارتباط دارد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی اصلی و اپیستاتیک و بررسی اثر متقابل آن‌ها با محیط برای صفات مورفولوژیکی مرتبط با برگ پرچم از جمله طول، عرض، سطح و طول غلاف برگ پرچم، آزمایشی با ۱۳۶ لاین دابل‌هاپلوئید جو به همراه والدین آن‌ها 'Nure' و 'Tremois' در قالب طرح آلفا لاتیس با دو تکرار تحت دو شرایط نرمال و تنش خشکی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی زابل در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ اجرا شد. برای تجزیه QTL، نقشه ژنتیکی جمعیت مورد نظر شامل ۵۴۳ نشانگر (SSR، DAfT، SNP و AFLP) بود. در این مطالعه، تجزیه QTL تک مکانی و دو مکانی به‌ترتیب با استفاده از روش‌های نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) و مدل ترکیبی بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (MCIM) انجام گرفت.

یافته‌ها: بر اساس تجزیه تک مکانی، پنج QTL شامل سه QTL قوی *Q₁FLW-1H.SZ*، *Q₁SHFLL-1H.NZ* و *Q₂SHFLL-1H.NZ* در فاصله‌های نشانگری *bPb-6343*، *bPb-8081*، *bPb-1419-bPb-9180* و *bPb-9108-bPb-6343* و دو QTL پیشنهادی روی کروموزوم‌های 1H و 5H برای صفات عرض برگ پرچم (FLW، cm) و طول غلاف برگ پرچم (SHFLL، cm) مشخص شدند. بر اساس تجزیه دو مکانی، هشت QTL افزایشی (M-QTL) و ۱۵ جفت QTL اپستازی (E-QTL) برای صفات مختلف شناسایی شدند که در این بین، دو جفت QTL اپستازی برای صفت FLW، اثرات متقابل QTL در محیط معنی‌داری (AAEI) را نشان دادند. همه M-QTL‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم در دو محیط، بدون اثرات متقابل افزایشی × محیط (AEI)، به‌عنوان QTL‌های پایدار شناسایی شدند و بیشترین تعداد QTL‌های پایدار مربوط به کروموزوم 1H بود. در این مطالعه، QTL‌های مربوط به تحمل خشکی در همه کروموزوم‌های جو به‌جز کروموزوم 2H شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: اکثر QTL‌های مرتبط با صفات مورد بررسی در جمعیت Nure/Tremois در مطالعه حاضر قبلاً گزارش نشده‌اند و جدید هستند. QTL‌های قوی و پایدار کنترل‌کننده صفات مرتبط با برگ پرچم در این مطالعه، همراه با نشانگرهای پیوسته به این QTL‌ها، پس از تایید و اعتبارسنجی در شرایط محیطی و زمینه‌های ژنتیکی مختلف، می‌توانند در برنامه‌های بن‌زادی انتخاب به کمک نشانگر (MAS) و هرم‌سازی ژن برای ایجاد ارقام جو پرمحصول و متحمل به خشکی مورد استفاده قرار گیرند. علاوه بر این، یافته‌های این پژوهش، درک روابط ژنتیکی بین صفات مرتبط با برگ پرچم را در سطح مولکولی تسریع می‌کند.

واژه‌های کلیدی: اثرات اپستازی، اثر متقابل QTL × محیط، تحمل خشکی، جو، QTL افزایشی.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۴ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۲/۰۷ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۲/۲۷ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۲/۰۴/۰۵

استناد: بهشتی‌زاده، ه.، فاخری، ب.، اقنوم، ر.، مهدی‌نژاد، ن.، پورداد، س.، س.، مسعودی، ب. و فرخ‌زاده، س. (۱۴۰۲). تجزیه ژنتیکی صفات مرتبط با برگ پرچم در جو

(*Hordeum vulgare L.*) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۲(۲)، ۱۵۲-۱۳۲. DOI:

[10.22126/cbb.2023.9234.1047](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.9234.1047)



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه رازی

مقدمه

با توجه به نظر متخصصین سازمان ملل متحد، پیش‌بینی می‌شود که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به ۹/۷ میلیارد نفر افزایش یابد. این افزایش جمعیت، چالش‌های عمده‌ای در بخش کشاورزی و تولید مواد غذایی ایجاد خواهد کرد. این چالش‌ها شامل کاهش دسترسی به اراضی کشاورزی، کاهش منابع آب و خشکسالی در مناطق مختلف جهان، و تغییرات اقلیمی مانند گرمایش جهانی و گرم شدن زمین می‌باشند (Tilman *et al.*, 2011; Ajayi *et al.*, 2023). تنش‌های غیرزیستی، به‌ویژه خشکی، به‌عنوان یک چالش عمده برای تولید پایدار مواد غذایی محسوب می‌شوند، زیرا قادرند عملکرد بالقوه در گیاهان زراعی را تا ۷۰ درصد کاهش دهند (Kadam *et al.*, 2014). در مناطق خشک و نیمه‌خشک، تنش خشکی به‌عنوان یک عامل محدودکننده مهم، باعث کاهش رشد، نمو و عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود. به منظور بهبود تولید محصولات کشاورزی در شرایط کمبود آب، نیاز است از دو رویکرد اصلی استفاده گردد. ابتدا، بهبود بهره‌برداری از منابع آب در کشاورزی از طریق اعمال روش‌های فرهنگی برای حفظ رطوبت خاک؛ سپس، اصلاح ارقامی که در شرایط محدودیت آب، عملکرد بالاتری داشته باشند (Hasanuzzaman *et al.*, 2013).

جو (*Hordeum vulgare* L.) یکی از غلاتی است که به طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود و به‌عنوان چهارمین غله مهم جهان، پس از گندم، ذرت و برنج شناخته

می‌شود (Rozanova *et al.*, 2023). براساس آمارهای اخیر، تا سال ۲۰۲۱، مساحت کشت جو به ۵۱ میلیون هکتار افزایش یافته است. بنابراین، در جدول رتبه‌بندی محصولات کشاورزی جهان، جو به‌عنوان پنجمین غله تولیدی بعد از گندم، ذرت، برنج و سویا قرار می‌گیرد (FAO, 2021). جو به‌عنوان یک محصول بسیار مهم در تأمین نیازهای غذایی و صنعتی جوامع بشری شناخته شده است. همچنین، به‌عنوان یک گیاه مدل در مطالعات ژنتیکی و فیزیولوژیکی مورد توجه قرار می‌گیرد. جو در مقایسه با گیاهان زراعی دیگر، سازگاری اکولوژیکی منحصر به فردی دارد و در شرایط مختلف آب و هوایی قابل کشت است (Abou-Elwafa, 2016; Ajayi *et al.*, 2023). عملکرد بالا همواره یکی از اهداف اصلاحی مهم در جو محسوب می‌شود. عملکرد دانه توسط فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی پیچیده کنترل می‌شود و با صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ارتباط نزدیکی دارد. در غلات، سه برگ بالای ساقه، به‌ویژه برگ پرچم، بیشترین نور را جذب می‌کنند و به‌عنوان منبع اصلی تولید انرژی و کربوهیدرات در فرآیند تولید دانه محسوب می‌شوند. برگ‌های بالایی، بعد از انجام فتوسنتز، بیش از ۸۰ درصد مواد مغذی اولیه را در طول فرآیند پر شدن دانه، در دانه جو ذخیره می‌کنند. همچنین، اندازه و شکل برگ به‌عنوان ویژگی‌های اساسی در تعیین قابلیت فتوسنتز و عملکرد دانه مورد توجه قرار می‌گیرند (Liu *et al.*, 2015). بنابراین، مطالعه مورفولوژی

اطلاعات حاصل از تعداد ژن و اثرات آن‌ها است که این امر توسط انتخاب به کمک نشانگرها انجام می‌شود (Zhou *et al.*, 2015; Farokhzadeh *et al.*, 2019; Ajayi *et al.*, 2023) در سال‌های اخیر، QTL‌های مختلفی در جمعیت‌های متنوع جو برای صفات مرتبط با برگ پرچم تحت شرایط نرمال و تنش خشکی شناسایی شده‌اند. به‌عنوان مثال، QTL‌هایی برای صفات ضخامت برگ پرچم (Liu *et al.*, 2022)، طول، عرض و سطح برگ پرچم (Liu *et al.*, 2015; Jabbari *et al.*, 2018; Du *et al.*, 2019; Jabbari *et al.*, 2019; Moualeu-Ngangué *et al.*, 2020; Makhtoum *et al.*, 2022; Niu *et al.*, 2022) در جو و طول غلاف برگ پرچم در گندم (Dorrani *et al.*, 2016) گزارش شده است. با این حال، تعداد کمی از مطالعات به‌طور همزمان و کامل، QTL‌هایی با اثرات افزایشی (M-QTL) و اپیستاتیک (E-QTLs) و اثرات متقابل آن‌ها با محیط را بررسی کرده‌اند. بنابراین، هدف اصلی این پژوهش، شناسایی QTL‌های قوی و پایدار، شناسایی QTL‌هایی با اثرات افزایشی و اپیستاتیک و بررسی اثرات متقابل آن‌ها با محیط برای صفات مرتبط با برگ پرچم، برآورد میزان اثر هر یک و تعیین نشانگرهای مولکولی پیوسته به این QTL‌ها برای پیشنهاد جهت انتخاب مناسب به کمک نشانگر برای تولید رقم‌های پرمحصول و متحمل به خشکی در جو می‌باشند.

مواد و روش‌ها

و فرآیند فتوسنتز در برگ پرچم، به‌عنوان یک هدف اصلی در در بهبود عملکرد جو، اهمیت بسیاری دارد و بررسی مکانیسم ژنتیکی صفات مرتبط با برگ پرچم بسیار ضروری است. تحقیقات متعددی درباره اهمیت برگ پرچم برای بهبود عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش خشکی، بر روی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مرتبط با برگ پرچم، که نقش تعیین‌کننده در عملکرد دانه دارند، انجام شده است (Guo *et al.*, 2008; Xue *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2019; Jabbari *et al.*, 2015). تحمل خشکی در جو یک صفت کمی با کنترل ژنتیکی پیچیده است و با تعداد زیادی ژن و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی مختلف کنترل می‌شود. این صفت به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر فرآیندهای رشد، مورفولوژی و فیزیولوژی گیاه تأثیر می‌گذارد (Tondelli *et al.*, 2016; Mikołajczak *et al.*, 2014). مکان‌یابی نواحی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) با استفاده از ارزیابی نشانگرهای مولکولی، به‌عنوان یک راهبرد بسیار مهم و کارآمد در تفسیر اساس ژنتیکی و فیزیولوژیکی تحمل خشکی در گیاهان، از جمله جو، به کار می‌رود. در این روش، از اطلاعات ژنومی مرتبط با داده‌های فنوتیپی استفاده می‌شود. این اطلاعات حاصل از مکان‌یابی QTL برای به‌نژادگران بسیار ارزشمند است، زیرا قادرند در توسعه ارقام متحمل به تنش خشکی به آن‌ها کمک نمایند. هدف اصلی نقشه‌یابی QTL، بهبود و اصلاح گیاهان با استفاده بهینه از

به حد ظرفیت زراعی انجام شدند. در ادامه، در ۶ مرحله آبیاری انجام شد. برای آزمایش تنش خشکی، تنها در یک مرحله پس از رسیدن رطوبت به ۱۷/۵ درصد حجمی، آبیاری صورت گرفت. اندازه‌گیری رطوبت با استفاده از دستگاه رطوبت سنج TDR (Time-Domani Reflectometer) انجام شد. در طول فصل زراعی، مراقبت‌های لازم شامل مصرف کود سرک، کنترل علف‌های هرز و نیز کنترل آفات و بیماری‌ها در مزرعه انجام شد. صفات مورفولوژیک زیر بر روی ۱۰ بوته تصادفی از هر کرت، پس از حذف اثر حاشیه‌ای، اندازه‌گیری شدند:

طول برگ پرچم (FLL: Flag leaf length, cm): طول بالاترین برگ در هر بوته از ناحیه زبانک در محل اتصال غلاف برگ به پهنک تا نوک برگ، بر حسب سانتی‌متر. عرض برگ پرچم (FLW: Flag leaf width, cm): اندازه عریض‌ترین نقطه برگ پرچم، بر حسب سانتی‌متر. سطح برگ پرچم (FLA: Flag leaf area, cm²): با استفاده از دستگاه شاخص سطح برگ (Leaf area meter, Delta.T, England)، اندازه‌گیری شد. طول غلاف برگ پرچم (SHFLL: Flag leaf sheath length, cm): فاصله آخرین گره ساقه اصلی (محل جدا شدن غلاف برگ پرچم) تا ناحیه زبانک در محل اتصال غلاف به پهنک برگ پرچم، بر حسب سانتی‌متر.

تجزیه و تحلیل داده‌های فنوتیپی: پس از مرتب‌سازی داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از روش‌های

در این تحقیق یک جمعیت دابل‌هاپلوئید (DH) جو شامل ۱۳۶ لاین حاصل از هیبرید F1 (Nure/Tremois)، که با روش کشت بساک به‌دست آمده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند (Francia *et al.*, 2004). والد Nure (متحمل به خشکی) یک رقم جو زمستانه پرمحصول و دو ردیفه است که از ایتالیا به‌دست آمده است و در آبیاری و شرایط متوسط تنش خشکی (۴۰۰ میلی‌متر بارش) دارای پایداری و پتانسیل عملکرد بالا است (Rizza *et al.*, 2004). والد Tremois (حساس به خشکی) نیز یک رقم جو بهاره، دو ردیفه با عملکرد بالا و پرمحصول است که با شرایطی با ورودی بالای نهاده سازگاری دارد و منشاء آن فرانسه است (Francia *et al.*, 2004). جمعیت دابل‌هاپلوئید به همراه لاین‌های والدینی (۱۳۸ لاین) با استفاده از طرح آزمایشی آلفا لاتیس با دو تکرار در دو شرایط بدون تنش (نرمال) و تنش خشکی در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه تحقیقات کشاورزی زابل با مختصات جغرافیایی ۶۱ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۵۵ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۴۸۳ متری از سطح دریای آزاد کشت شدند. بذرها به صورت هیمرکاری کشت شدند. بذور لاین‌های مورد بررسی پس از ضدعفونی با دستگاه بذرکار، در کرت‌های چهار ردیفه (با طول ۲/۵ متر و فاصله بین خطوط ۲۰ سانتی‌متر) قرار گرفتند. تراکم کاشت نیز برابر با ۴۰۰ بوته در مترمربع بود. پس از آبیاری اولیه برای سبز شدن، آبیاری‌های بعدی برای آزمایش نرمال پس از رسیدن رطوبت

یک سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. نشانگرهای پس زمینه به‌عنوان کوفاکتور با استفاده از روش پیشرو-پسرو رگرسیون مرحله‌ای تعیین گردیدند (Wang *et al.*, 2010). برای QTLها یک تقسیم‌بندی بر اساس LOD انجام شد. QTLهایی با $LOD \geq 3.0$ به‌عنوان QTLهای قوی (putative) و QTLهایی با $2 \leq LOD < 3.0$ به‌عنوان QTLهای پیشنهادی در نظر گرفته شدند (McIntyre *et al.*, 2010). برای نمایش گرافیکی نقشه لینکاژی QTLها، از نرم افزار MapChart 2.2 استفاده شد (Voorrips, 2002).

تجزیه QTL دو مکانی: به‌منظور مکان‌یابی QTLهایی با اثرات افزایشی (M-QTL) و اپی‌ستاتیک (E-QTLs) و اثر متقابل آنها با محیط (به‌ترتیب AEI و AAE) از نرم افزار QTL Network 2.1 استفاده گردید (Yang *et al.*, 2008)، که در آن از مدل ترکیبی براساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (MCIM: Mixed-model based composite interval mapping) با فاصله پویش ۱ سانتی‌مورگان و اندازه پنجره ۱۰ سانتی‌مورگان استفاده شد و حد معنی‌داری برای شناسایی QTLها با استفاده از آزمون Permutation با ۱۰۰۰ مرتبه تکرار و $P=0.05$ انجام شد. روش MCMC (Monte Carlo Markov Chain) نیز به‌منظور تعیین اثرات QTLها، در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مختلفی از جمله بررسی نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک، تجزیه واریانس، آزمون بارتلت جهت بررسی همگنی یا یکنواختی واریانس خطا، تجزیه مرکب و بررسی همبستگی با استفاده از همبستگی پیرسون انجام گرفت. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۲، SPSS نسخه ۲۴ و برنامه Excel انجام شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی: برای تجزیه QTL، ۳۹۶ نشانگر DARt، ۱۸ نشانگر STS-SNP و ۱۰ نشانگر SSR به نقشه ژنتیکی لینکاژی جمعیت 'Nure' و 'Tremois' که قبلاً در دسترس بود اضافه شد (Francia *et al.*, 2004). در این مطالعه، نقشه ژنتیکی با ۵۴۳ نشانگر (AFLP، SNP، SSR، DARt) بر روی ۷ کروموزوم جو، طول ۱۱۱۴ سانتی‌مورگان از ژنوم جو را پوشش داد و فاصله متوسط بین نشانگرهای مجاور ۲/۸ سانتی‌مورگان بود (Tondelli *et al.*, 2014). چون نقشه ژنتیکی اشباع برای ۱۱۸ لاین در دسترس بود، بنابراین برای تجزیه QTL، از ۱۱۸ لاین استفاده شد.

تجزیه QTL تک مکانی: تجزیه QTL به‌طور مجزا برای هر یک از شرایط نرمال و تنش خشکی با نرم افزار WinQTL Cartographer 2.5 انجام شد. برای تعیین QTLها و برآورد اندازه اثرات آنها، از مدل ۶ برنامه Zmapqtl و روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM: Composite interval mapping) استفاده شد. حداقل LOD برای شناسایی QTLها ۲/۵ و حداقل فاصله پویش

نتایج نشان می‌دهد که در داخل جمعیت، تنوع فنوتیپی بالا وجود دارد. در پژوهش‌های انجام شده برای جمعیت‌های دیگر جو نیز، تنوع بالایی بین لاین‌های مورد مطالعه در اکثر صفات زراعی و مورفولوژی گزارش شده است (Jabbari *et al.*, 2018; Koochakpour *et al.*, 2021).

نتایج آزمون شاپیرو-ویلک نشان داد که داده‌های جمع‌آوری شده برای صفات مختلف در دو آزمایش نرمال و تنش دارای توزیع نرمال هستند. نتایج تجزیه واریانس ساده آلفا لاتیس، تفاوت بسیار معنی‌داری بین لاین‌ها برای همه صفات مورد بررسی از جمله طول، عرض، سطح و طول غلاف برگ پرچم تحت شرایط نرمال و تنش خشکی نشان داد (جدول ۱). این

جدول ۱- تجزیه واریانس برای صفات مرتبط با برگ پرچم در جمعیت دابل‌هاپلوئید جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 1- Analysis of variance for flag-leaf related traits of barley doubled haploid (DH) population under normal and drought stress conditions.

Mean squares (Normal)					
SOV	DF	FLL	FLW	FLA	SHFLL
تکرار Replication	1	69.16**	0.64**	34.15**	0.74 ^{n.s}
Block (Replication) بلوک (تکرار)	22	3.83 ^{n.s}	0.04**	1.87*	1.01 ^{n.s}
لاین Line	137	8.31**	0.05**	10.50**	3.88**
Error خطا	115	2.57	0.02	0.94	1.28
CV (%) ضریب تغییرات	-	17.64	26.66	20.89	6.13
R ² (%) ضریب تبیین (/.)	-	82.00	82.00	94.00	81.00
Mean squares (Stress)					
تکرار Replication	1	72.70**	0.24**	15.70**	3.26 ^{n.s}
Block (Replication) بلوک (تکرار)	22	5.39*	0.02 ^{n.s}	0.80 ^{n.s}	2.09 ^{n.s}
لاین Line	137	6.88**	0.03**	8.25**	3.95**
Error خطا	115	2.91	0.01	0.69	1.31
CV (%) ضریب تغییرات	-	20.42	27.39	21.33	6.30
R ² (%) ضریب تبیین (/.)	-	79.00	78.00	94.00	82.00

*، ** و ^{n.s}: به ترتیب معنی‌دار ($\alpha=5\%$)، بسیار معنی‌دار ($\alpha=1\%$) و غیرمعنی‌دار. FLL: طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLW: عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLA: سطح برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر).

*, ** and ^{n.s}: Significant ($\alpha=5\%$), highly significant ($\alpha=1\%$) and non-significant, respectively. FLL: Flag leaf length (cm), FLW: Flag leaf width (cm), FLA: Flag leaf area (cm²) and SHFLL: Flag leaf sheath length (cm).

صحت یک مدل آماری عمل می‌کند. این ضریب به صورت درصدی بیان می‌شود و مقدار بیشتر آن نشان‌دهنده برازش بهتر مدل می‌باشد. در تحقیق دیگری که بر روی جمعیت جو صورت گرفته است، اثر ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ در محیط معنی‌داری برای صفات مختلف گزارش شده است (Jabbari *et al.*, 2018).

تجزیه واریانس مرکب در دو محیط نشان داد که بین لاین‌ها و محیط‌ها تفاوت بسیار معنی‌داری برای همه صفات مورد مطالعه وجود دارد (جدول ۲). همچنین، اثر متقابل لاین در محیط برای همه صفات مورد بررسی معنی‌دار شد (جدول ۲). در این مطالعه، مقدار ضریب تبیین (R^2) برای همه صفات مورد بررسی بالا بود و برای اکثر صفات، بیشتر از ۸۰ درصد بود که نشان‌دهنده دقت بالای مدل است (جدول ۱ و ۲). ضریب تبیین به‌عنوان یک معیار مناسب برای ارزیابی

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب برای صفات مرتبط با برگ پرچم در جمعیت دابل‌هاپلوئید جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 2- Combined analysis of variance for flag-leaf related traits of barley doubled haploid (DH) population under normal and drought stress conditions.

SOV	DF	Mean squares			
		FLL	FLW	FLA	SHFLL
محیط Environment	1	521.18**	8.27**	1822.71**	230.72**
R/E تکرار در محیط	2	154.43**	2.27**	26.14**	62.35**
Block (R × E) بلوک (تکرار × محیط)	44	3.48*	0.03**	1.01**	0.91 ^{n.s}
لاین Line	137	9.29**	0.06**	15.41**	6.09**
Line (E) (محیط) لاین	137	4.48**	0.03**	7.39**	1.25*
Error خطا	230	2.40	0.02	0.51	0.97
CV (%) ضریب تغییرات		15.34	20.52	10.91	5.15
R ² (%) ضریب تبیین (%)	-	85.00	89.00	98.00	87.00

*، ** و ^{n.s}: به ترتیب معنی‌دار ($\alpha=5\%$)، بسیار معنی‌دار ($\alpha=1\%$) و غیرمعنی‌دار. FLL: طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLW: عرض برگ پرچم

(سانتی‌متر)، FLA: سطح برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر).

*, ** and ^{n.s}: Significant ($\alpha= 5\%$), highly significant ($\alpha= 1\%$) and non-significant, respectively. FLL: Flag leaf length (cm), FLW: Flag leaf width (cm), FLA: Flag leaf area (cm²) and SHFLL: Flag leaf sheath length.

همبستگی‌های مثبت و معنی‌دار بین صفات مرتبط با برگ پرچم را تأیید می‌کنند (Liu *et al.*, 2015; Koochakpour *et al.*, 2021). وجود پیوستگی شدید بین صفات یا اثر پلیوتروپی ژنی، که در آن یک ژن به طور همزمان دو یا چند صفت را کنترل می‌کند، باعث ایجاد همبستگی معنی‌دار بین صفات می‌شود. به طوری که انتخاب یک صفت، تأثیر مثبت یا منفی بر روی سایر صفات همبسته را دارا می‌باشد (McIntyre *et al.*, 2010).

ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مرتبط با برگ پرچم تحت شرایط نرمال (بالای قطر) و تنش خشکی (زیر قطر) در جدول ۳ نشان داده شده است. عرض برگ پرچم با سطح برگ پرچم در هر دو محیط نرمال و تنش، بالاترین همبستگی آماری مثبت و بسیار معنی‌داری را نسبت به سایر صفات نشان داد. همچنین، همبستگی آماری مثبت و بسیار معنی‌داری بین طول برگ پرچم با عرض و سطح برگ پرچم در هر دو محیط نرمال و تنش، مشاهده شد. این نتایج با مطالعات قبلی که در جو انجام شده است، مطابقت دارد و

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات مرتبط با برگ پرچم تحت شرایط نرمال (بالای قطر) و تنش خشکی (زیر قطر).

Table 3- Correlation coefficients between flag-leaf related traits under normal (above the diagonal) and drought stress (below the diagonal) conditions.

Traits	FLL	FLW	FLA	SHFLL
FLL	1	0.643**	0.835**	-0.026
FLW	0.723**	1	0.936**	-0.005
FLA	0.878**	0.926**	1	-0.017
SHFLL	0.014	-0.097	-0.028	1

* و **: به ترتیب معنی‌دار ($\alpha=5\%$)، و بسیار معنی‌دار. FLL: طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLW: عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLA: سطح برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر).
* and **: Significant ($\alpha=5\%$), and highly significant ($\alpha=1\%$), respectively. FLL: Flag leaf length (cm), FLW: Flag leaf width (cm), FLA: Flag leaf area (cm²) and SHFLL: Flag leaf sheath length (cm).

می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد موثر برای بهبود ارقام پرمحصول و ارتقای کارایی زراعی مورد استفاده قرار گیرد (Huang *et al.*, 2018). نتایج تجزیه QTL تک مکانی برای صفات مرتبط با برگ پرچم با استفاده از روش نقشه-

تجزیه QTL تک مکانی: برگ پرچم به‌عنوان یک عامل کلیدی و تأثیرگذار در فرآیندهای فتوسنتزی و عملکرد دانه، جایگاه بسیار حیاتی دارد. به همین دلیل، شناسایی و استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با برگ پرچم،

۸۷/۲۰ سانتی‌مورگان با $LOD > 3$ ، به‌عنوان QTL‌های قوی در نظر گرفته شدند که در مجموع ۳/۲۲ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. بیشترین اثر افزایشی مربوط به QTL موجود در موقعیت ۸۷/۲۰ سانتی‌مورگان بود.

توزیع کلی QTL‌ها بر روی کروموزوم‌ها برای صفات مختلف در جمعیت جو Nure/Tremois تحت شرایط نرمال و تنش خشکی در تجزیه QTL تک مکانی در شکل ۱ نشان داده شده است. از پنج QTL مشخص شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم در دو آزمایش، سه QTL (۶۰/۰۰ درصد) تحت شرایط نرمال و دو QTL (۴۰/۰۰ درصد) تحت شرایط تنش شناسایی شدند. در تجزیه و تحلیل به روش CIM، از پنج QTL، سه QTL قوی (putative) با LOD بزرگتر مساوی با ۳ ($LOD \geq 3.0$) و دو QTL پیشنهادی (suggestive) با LOD بین ۲ تا ۳ ($2 \leq LOD < 3$) برای صفات مورد مطالعه شناسایی شدند. کمترین و بیشترین میزان LOD به‌ترتیب برای صفات عرض برگ پرچم (۲/۸۵) و طول غلاف برگ پرچم (۳/۳۵) شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی (R^2) توجیه شده به‌وسیله پنج QTL از ۰/۰۲ (برای صفت عرض برگ پرچم) تا ۱/۶۱ (برای صفت طول غلاف برگ پرچم) درصد متغیر بود. QTL‌های والدینی سهم یکسانی در محیط‌های مختلف، در بین صفات و ژنوم‌ها نداشتند و سهم والد Tremois بیشتر از والد Nure بود. برای صفات مورد

یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) در جدول ۴ نشان داده شده است. در این تحقیق، سه QTL برای صفت عرض برگ پرچم بر روی کروموزوم‌های 1H و 5H شناسایی شدند که یک QTL (*QFLW-1H.NZ*) مربوط به محیط نرمال و دو QTL (*Q₁FLW-1H.SZ* و *Q₂FLW-5H.SZ*) مربوط به محیط تنش بود. قوی‌ترین اثر افزایشی برای *FLW* (۰/۰۶ سانتی‌متر) در محیط نرمال و در فاصله نشانگری *HvZFP16-1-bPb-9418* مشاهده شد که مکان ژنی آن در موقعیت ۲۳/۰۰ سانتی‌مورگان بر روی کروموزوم 1H و با $LOD=2/99$ بود. تحت شرایط تنش، یک QTL قوی در موقعیت ۸۷/۵۰ سانتی‌مورگان بر روی کروموزوم 1H در حد فاصله نشانگری *bPb-6343-bPb-8081* شناسایی شد. طول غلاف برگ پرچم به‌عنوان یک ویژگی مهم، نقش بسزایی در عملکرد و توسعه گیاهان دارد. با افزایش طول غلاف برگ پرچم و مساحت سطح برگ، جذب نور و فعالیت فتوسنتزی گیاه افزایش می‌یابد. همچنین، رابطه‌ای بین طول غلاف برگ پرچم و عملکرد وجود دارد که این ویژگی می‌تواند در بهبود ارقام و افزایش تولید محصول استفاده شود (Chowdhry *et al.*, 1976; Biswal and Kohli, 2013). برای صفت طول غلاف برگ پرچم، ۲ مکان ژنی با اثرات آلی یکسان از والد Tremois بر روی کروموزوم 1H در محیط نرمال شناسایی شدند. هر دو مکان ژنی در فاصله‌های نشانگری *bPb-1419-bPb-9180* و *bPb-9108-bPb-6343* به‌ترتیب در موقعیت‌های ۷۹/۶۰ و

مطالعه، فراوانی QTLها در کروموزوم 1H با چهار QTL (۸۰/۰۰ درصد) بیشترین بود.

جدول ۴- QTLهای شناسایی شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم با روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب در جمعیت دابل‌هاپلوئید جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 4- Detected QTLs for flag-leaf related traits by composite interval mapping in barley doubled haploid (DH) population under normal and drought stress conditions.

صفات	نام QTL	فاصله نشانگری	موقعیت QTL	حدود اعتماد QTL	LOD score ^b	اثر افزایشی	واریانس فنوتیپی
Traits	QTL name	Markers interval	QTL position ^a	QTL interval (95%)		Additive effect	R ^{2c} (%)
FLW	<i>QFLW-1H.NZ</i>	HvZFP16-1-bPb-9418	23.00	13.90-46.20	2.99	0.06	0.02
	<i>Q₁FLW-1H.SZ</i>	bPb-6343-bPb-8081	87.50	80.10-88.90	3.35	-0.05	0.02
	<i>Q₂FLW-5H.SZ</i>	bPb-3611-bPb-5333	199.40	183.50-201.30	2.85	-0.04	0.02
SHFLL	<i>Q₁SHFLL-1H.NZ</i>	bPb-1419-bPb-9180	79.60	76.40-80.10	3.09	-0.49	1.61
	<i>Q₂SHFLL-1H.NZ</i>	bPb-9108-bPb-6343	87.20	84.20-98.60	3.06	-0.50	1.61

FLW: عرض برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر).

FLW: Flag leaf width (cm) and SHFLL: Flag leaf sheath length (cm). ^a QTL position expressed in cM, from origin of the linkage group (end of shortarm); ^b peak value of the LOD; ^c proportion of phenotypic variance explained by the QTL; N: Normal environment; S: Stress environment and Z: Zabol region. A positive and negative value indicates that the Nure and Tremois alleles increased trait, respectively.

Koochakpour *et al.*, 2021). کوچک‌پور و همکاران (

et al., 2021) در مطالعه خود با استفاده از روش تجزیه

ارتباطی، شش و دو QTL به‌ترتیب برای صفات طول و

عرض برگ پرچم گزارش کردند. طبق نتایج گزارش شده،

QTLهای مربوط به طول برگ پرچم روی کروموزوم‌های

2H و 4H قرار داشتند. همچنین مشاهدات آن‌ها نشان

دادند که نشانگر *E35M55-436* با هر دو صفت طول و

عرض برگ پرچم و نشانگر *E38M54-112* با صفات طول

برگ پرچم و تعداد دانه در سنبله در ارتباط بودند. تظاهر

ژن‌ها به محیط خاص وابسته است (Mather, 1941)،

بنابراین صفات کمی در محیط‌های مختلف پایدار نیستند.

برای صفات طول و سطح برگ پرچم هیچ QTLی

شناسایی نشد. با توجه به تأثیر اندازه برگ پرچم بر

مورفولوژی تاج پوشش گیاهی و کارایی فتوسنتزی، این

صفت در اصلاح گندم اهمیت بالایی دارد. در این مطالعه،

مناطق ژنومی مرتبط با چهار صفت مورفولوژیکی برگ پرچم

در شرایط نرمال در کروموزوم 1H و در شرایط تنش در

کروموزوم‌های 1H و 5H شناسایی شدند. مطالعات قبلی نیز

نشان داده‌اند که مناطق QTL برای صفات مورفولوژی برگ

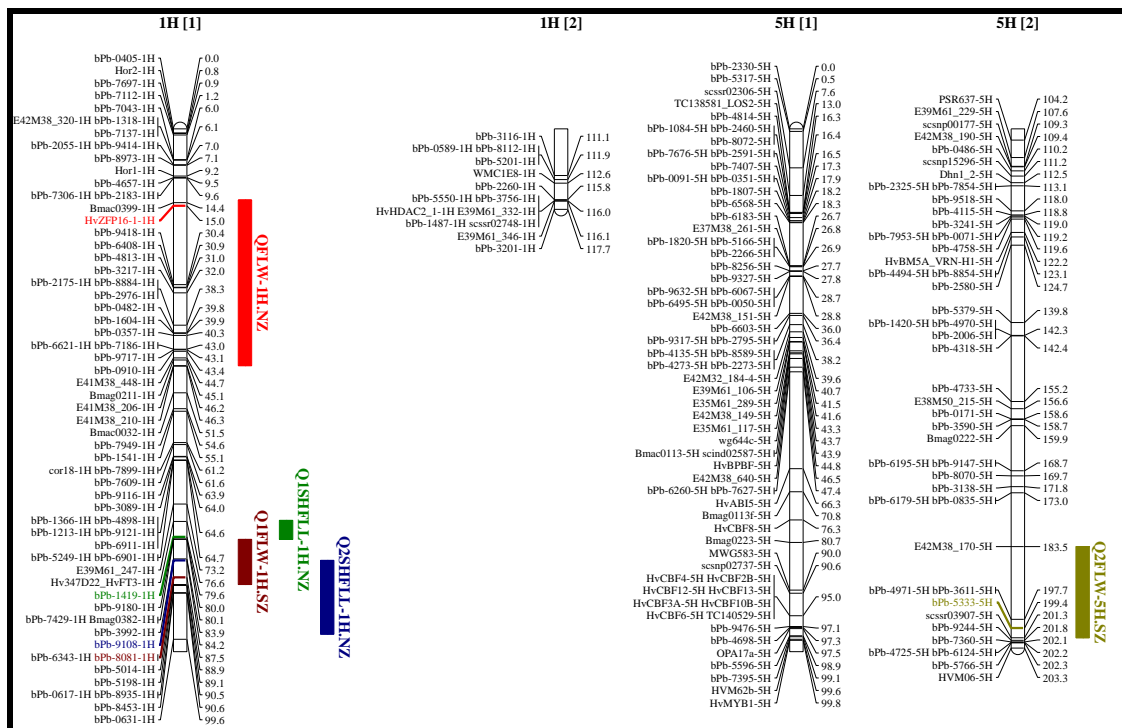
پرچم، شامل طول، عرض و سطح، در کروموزوم‌های مختلف

در جمعیت جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی در مزرعه

قرار دارند (Jabbari *et al.*, 2018; Koochakpour *et al.*, 2021).

نظر گرفته می‌شوند (Long *et al.*, 2008). در مطالعه حاضر با استفاده از روش تجزیه QTL تک مکانی، QTLها از پایداری لازم برخوردار نبودند و برای یک صفت در دو شرایط مورد بررسی، QTLهای متنوعی به دست آمدند.

QTLهایی که در محیط‌های مختلف همپوشانی دارند و تغییراتی مشابهی نشان می‌دهند، به عنوان QTLهای پایدار مورد توجه قرار می‌گیرند. از طرف دیگر، QTLهایی که فقط در یک محیط تظاهر می‌یابند، به عنوان QTLهای ناپایدار در



شکل ۱- نقشه لینکاژی QTLهای شناسایی شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم با روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب در جمعیت جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 4- The map of detected QTLs for flag-leaf related traits by CIM in barley population under normal and drought stress conditions.

QTL دو مکانی با استفاده از روش MCIM برای تعیین QTLهایی با اثرات افزایشی (M-QTL) و اپیستازی (E-QTL) و اثر متقابل آن‌ها با محیط (به ترتیب AEI و AAE) در جداول ۵ و ۶ نشان داده شده است. برای صفت طول برگ پرچم دو M-QTL روی کروموزوم‌های 3H و 4H در حد فاصل نشانگرهای *E42M38_230-6-BPB-*

تجزیه QTL دو مکانی: بیان QTLها متغیر می‌باشد که ممکن است ناشی از اثرات متقابل AE باشد. اما اثرات QTL شناسایی شده با استفاده از روش CIM، اثرات متقابل را که شامل اثرات AA، AE یا AAE هستند، به طور دقیق مشخص نمی‌کند (Farokhzadeh *et al.*, 2019). تجزیه

یک جفت E-QTL روی کروموزوم‌های 2H/3H-A با آلل افزایشنده از والد Tremois بود که بیشترین درصد تنوع فنوتیپی صفت عرض برگ پرچم را پوشش می‌داد (جدول ۶). سه ناحیه بر روی کروموزوم‌های 1H، 6H و 7H در حد فاصل نشانگرهای BPB-4409- BPB-0589-BPB-8112 و BPB-6721 BPB-1806-EBMAC0603 برای صفت سطح برگ پرچم مکان‌یابی شدند که ۷/۲۴ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را پوشش دادند و با نتایج گزارش شده برای FLA روی کروموزوم 6H در جمعیت جو تحت تنش خشکی مطابقت داشت (Moualeu-Ngangué *et al.*, 2020). بزرگ‌ترین اثر افزایشی و درصد واریانس فنوتیپی به‌ترتیب توسط M-QTL موجود روی کروموزوم‌های 1H و 7H توضیح داده شدند. همچنین، M-QTL‌های این صفت فاقد اثر متقابل افزایشی در محیط (AEI) معنی‌دار بودند که نشان‌دهنده پایداری آن‌ها بود (جدول ۵). دو جفت E-QTL برای این صفت روی کروموزوم‌های 2H/3H-A و 3H/3H- به‌ترتیب با اثرات آلی والد Tremois و Nure به‌دست آمدند که فاقد اثرات متقابل اپیستازی در محیط (AAE) معنی‌داری بودند (جدول ۶). برای صفت طول غلاف برگ پرچم دو مکان ژنی در موقعیت‌های ۸۷/۲۰ و ۷/۵۰ سانتی‌مورگان به‌ترتیب روی کروموزوم‌های 1H و 6H، در حد فاصل نشانگرهای BPB-9108-BPB-6343 و BPB-1009-BPB-3554 با اثرات آلی از هر دو والد شناسایی شدند که فاقد اثرات AEI معنی‌دار بودند (جدول ۵).

1264 و BPB-7275-E39M61_181 با آللهایی از والد Nure شناسایی شدند که ۵/۳۱ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را پوشش دادند (جدول ۵). همچنین، اثر متقابل افزایشی در محیط (AEI) برای این QTL‌ها در هیچ یک از محیط‌های مورد بررسی معنی‌دار نبود، بنابراین این QTL‌ها دارای پایداری مناسبی بودند و نقش محیط بر روی آن کمتر بود. چهار جفت QTL با اثر اپیستازی (E-QTL) برای این صفت بر روی کروموزوم‌های 1H-B/3H، 1H-A/3H، 1H-C/5H-A و 2H/5H-B شناسایی شدند (جدول ۶). هیچ اثر متقابل اپیستازی در محیط (AAE) معنی‌داری برای QTL‌های اپیستازی مشاهده نشد. یک جفت E-QT موجود بر روی کروموزوم‌های 1H-B/3H دارای آللهایی از والد Nure بودند که اثرات بین ژنی آن‌ها در تیپ والدینی QQQQ باعث اثرات افزایشنده برای طول برگ پرچم بود. یک M-QTL برای صفت عرض برگ پرچم (FLW) بر روی کروموزوم 1H در حد فاصل نشانگر E39M61_346-BPB-3201 مشخص شد که دارای اثر AEI معنی‌داری نبود (جدول ۵)، و به‌عنوان QTL پایدار در نظر گرفته شد. هشت جفت E-QTL نیز برای این صفت بر روی کروموزوم‌های مختلف شناسایی شدند، اما تنها دو جفت E-QTL روی کروموزوم‌های 1H-B/7H-B و 6H-A/7H-A، اثرات متقابل اپیستازی در محیط (AAE) معنی‌داری را نشان دادند که اثرات AAE مجموعاً ۴/۵۷ درصد از تنوع فنوتیپی را پوشش دادند (جدول ۶). بیشترین اثر اپیستازی مربوط به

جدول ۵- برآورد اثر افزایشی و اثرات متقابل افزایشی × محیط QTLهای شناسایی شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم در جمعیت دابل هاپلوئید جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 5- Estimated additive (A) and additive × environment interaction (AE) effects of detected M-QTLs for flag-leaf related traits in barley doubled haploid (DH) population under normal and drought stress conditions.

صفات Traits	کروموزوم Chromosome	فاصله نشانگری Markers interval	موقعیت QTL QTL position ^a	اثر افزایشی Additive effect	محدوده Range (cM)	R ² (A, %) ^b	AE1	AE2	R ² (AE, %) ^c
FLL	3H	E42M38_230-6-BPB-1264	6.90	0.53**	0.00-16.20	2.41	-	-	
	4H	BPB-7275-E39M61_181	3.90	0.48**	0.00-36.90	2.90	-	-	
FLW	1H	E39M61_346-BPB-3201	117.10	0.03**	105.60-117.10	3.17	-	-	
FLA	1H	BPB-0589-BPB-8112	111.90	0.40**	104.60-117.10	2.54	-	-	
	6H	BPB-4409-BPB-6721	53.20	-0.37**	49.00-100.80	1.35	-	-	
	7H	BPB-1806-EBMAC0603	32.20	0.29*	23.10-38.40	3.35	-	-	
SHFLL	1H	BPB-9108-BPB-6343	87.20	0.28**	76.20-106.60	2.48	-	-	
	6H	BPB-1009-BPB-3554	7.50	-0.28**	3.30-14.50	3.19	-	-	

*، ** و ^{ns}: به ترتیب معنی دار ($\alpha=5\%$)، بسیار معنی دار ($\alpha=1\%$) و غیرمعنی دار.

FLL: طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLW: عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLA: سطح برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر).

R² (A, %): تنوع پوشش داده شده توسط اثر افزایشی، AE1: اثر متقابل افزایشی با محیط نرمال، AE2: اثر متقابل افزایشی با محیط تنش و R² (AE, %): تنوع پوشش داده شده توسط اثر متقابل افزایشی با محیط.

*، ** and ^{ns}: Significant ($\alpha=5\%$), highly significant ($\alpha=1\%$) and non-significant, respectively.

FLL: Flag leaf length (cm), FLW: Flag leaf width (cm), FLA: Flag leaf area (cm²) and SHFLL: Flag leaf sheath length (cm).

^a QTL position expressed in cM, from origin of the linkage group; ^b Contribution of phenotypic variance explained by putative main-effect QTL or additive effect; ^c Contribution of phenotypic variance explained by AE interaction effect. E1: Normal environment and E2: Stress environment. A positive and negative value indicates that the Nure and Tremois alleles increased trait, respectively.

جدول ۶- برآورد اثر افزایشی و اثرات متقابل اپیستازی × محیط QTL‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با برگ پرچم در جمعیت جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی.

Table 6- Estimated epistatic (AA) and epistatic × environment interaction (AAE) effects of detected E-QTLs for flag-leaf related traits in barley population under normal and drought stress conditions.

صفات Traits	فاصله نشانگری در جایگاه i Markers interval_i	کروموزوم (موقعیت i) Chr (Position_i)	فاصله نشانگری در جایگاه j Markers interval_j	کروموزوم (موقعیت j) Chr (Position_j)	AA	R ² (AA, %) ^a	AAE	R ² (AAE, %) ^b
FLL	BPB-6408-BPB-4813	1H-A (30.90)	BPB-4564-BPB-4156	3H (148.20)	-0.87**	3.28	-	
	E41M38_210-BMAC0032	1H-B (46.30)	BPB-4564-BPB-4156	3H (148.20)	0.78**	1.04	-	
	E39M61_247-HV347D22_HVFT3	1H-C (73.20)	E38M50_215-BPB-0171	5H-A (156.60)	0.26*	2.49	-	
	BPB-6755-BPB-1212	2H (47.30)	BPB-5166-BPB-2266	5H-B (26.90)	0.29**	1.57	-	
FLW	E39M61_247-HV347D22_HVFT3	1H-A (75.20)	BPB-8043-BPB-5902	7H-A (15.40)	-0.021**	1.86	-	
	E39M61_346-BPB-3201	1H-B (117.10)	BPB-9104-E38M50_220	7H-B (103.30)	-0.01 ^{ns}	0.23	AAE ₁ (-0.0212*), AAE ₂ (0.0217*)	
	E39M61_346-BPB-3201	1H-B (117.10)	BPB-8260-BPB-0994	2H (114.70)	0.02**	0.92	-	
	HVFT4-BPB-2230	2H (68.90)	HVHDAC2_2-BMAG0013	3H-A (129.70)	-0.04**	5.18	-	
	BPB-2965-BPB-0312	3H (37.60)	E42M38_850-BPB-6765	3H-B (67.50)	0.03**	3.23	-	
	BPB-7275-E39M61_181	4H (6.90)	BPB-2054-BPB-5748	6H (124.40)	-0.03**	4.68	-	
	BMAC0316-BPB-9065	6H-A (2.00)	BPB-8043-BPB-5902	7H-A (15.40)	-0.02**	0.94	AAE ₁ (0.027**), AAE ₂ (-0.028**)	
	BPB-1666-BPB-9114	6H-B (46.60)	TC147474_FRY1-BPB-1806	7H-C (32.10)	0.030**	5.91	-	
FLA	BPB-3985-BPB-5087	2H (72.20)	BPB-9111-BPB-1481	3H-A (145.20)	-0.55**	5.77	-	
	BPB-2965-BPB-0312	3H (38.60)	HVM33-SCSSR25691	3H-B (65.40)	0.51**	3.06	-	
SHFLL	BPB-1264-BPB-9402	3H (15.20)	BPB-0610-BPB-9820	4H (117.70)	-0.70**	8.21	-	

* و **: به ترتیب معنی‌دار (α=5%) و بسیار معنی‌دار (α=1%).

FLL: طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLW: عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، FLA: سطح برگ پرچم (سانتی‌متر) و SHFLL: طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر). AA: اثرات متقابل اپیستازی (افزایشی در افزایشی)، R² (AA, %): تنوع پوشش داده شده توسط اثر متقابل اپیستازی با محیط. AAE₁: اثر متقابل اپیستازی با محیط نرمال، AAE₂: اثر متقابل اپیستازی با محیط تنش و R² (AAE, %): تنوع پوشش داده شده توسط اثر متقابل اپیستازی با محیط.

* and **: Significant (α= 5%), and highly significant (α= 1%), respectively.

FLL: Flag leaf length (cm), FLW: Flag leaf width (cm), FLA: Flag leaf area (cm²) and SHFLL: Flag leaf sheath length (cm).

^aContribution of phenotypic variance explained by epistatic QTL or additive × additive effect; ^bContribution of phenotypic variance explained by additive × additive × environment interaction effect. E1: Normal environment and E2: Stress environment. A positive and negative value indicates that the Nure and Tremois alleles increased trait, respectively.

خشکی با استفاده از روش CIM روی کروموزوم 5H و برای سطح برگ پرچم با استفاده از روش MCIM روی کروموزوم 6H، با پنج QTL شناسایی شده برای عملکرد دانه بر روی کروموزوم 5H با آلل‌های افزایشنده از والد Nure و کروموزوم 6H با آلل‌های افزایشنده از والد Tremois توسط توندلی و همکاران (Tondelli *et al.*, 2014)، در جمعیت جو Nure/Tremois مطابقت داشت. QTL‌هایی برای صفات طول برگ پرچم (بر روی کروموزوم‌های 3H و 4H) و سطح برگ پرچم (بر روی کروموزوم‌های 1H، 6H و 7H) در جو، مطابق تحقیق حاضر گزارش شده است. همچنین تطابق بین QTL‌های گزارش شده برای ضخامت برگ پرچم بر روی کروموزوم 1H و نتایج مطالعه ما برای صفات عرض و طول غلاف برگ پرچم مشاهده شد. با این حال، QTL‌های گزارش شده برای عرض برگ پرچم روی کروموزوم 2H با نتایج ما هم‌خوانی نداشتند (Niu *et al.*, 2022). همچنین در یک مطالعه بر روی ۱۲۲ لاین دابل‌هاپلوئید جو، برخلاف نتایج ما، گزارش شده است که مهم‌ترین QTL‌های هم‌مکان در M_256210_824-2HL_23335246 روی کروموزوم 2H برای صفات طول و عرض برگ پرچم قرار دارند که این QTL‌ها توانستند درصد بالایی از واریانس فنوتیپی را توجیه کنند (Du *et al.*, 2019). در پژوهش‌های انجام شده بر روی سه جمعیت جو، QTL‌هایی برای عملکرد و اجزای عملکرد در کروموزوم‌های 3H، 4H و 7H شناسایی شدند (Mikołajczak *et al.*, 2016)، که با QTL‌های موجود در

بنابراین این مکان‌های ژنی از پایداری مناسبی برخوردار بودند و ۵/۶۷ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کردند. همچنین، یک جفت اثر اپستازی (E-QTL) برای این صفت روی کروموزوم‌های 3H/4H مکان‌یابی شد که ۸/۲۱ درصد از تنوع SHFLL را پوشش داد و فاقد اثر AAE معنی‌دار بودند (جدول ۶). برگ پرچم در گیاهان، به‌عنوان آخرین برگ قبل از ظهور سنبله، نقش اساسی در جذب مواد مغذی برای رشد دانه و در نتیجه عملکرد دانه دارد (Yang *et al.*, 2016). انتقال کربوهیدرات از برگ پرچم به سمت دانه به طور کامل صورت می‌گیرد، در حالی که از سایر برگ‌ها فقط تا حدودی به سمت دانه هدایت می‌شود (Ali *et al.*, 2010). صفات مورفولوژیکی مرتبط با برگ پرچم، صفات کمی هستند که توسط ژن‌ها زیادی یا QTL‌های مختلف کنترل می‌شوند و تحت تأثیر تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی قرار می‌گیرند (Tian *et al.*, 2017). گینیس و همکاران (Gyenis *et al.*, 2007)، سه QTL برای طول برگ پرچم روی کروموزوم‌های 3H، 5H و 7H و سه QTL برای عرض برگ پرچم روی کروموزوم‌های 2H، 4H و 5H در جو شناسایی کردند. در مطالعه‌ای وجود دو QTL برای صفت طول برگ پرچم بر روی کروموزوم‌های 5H و 7H و دو QTL برای صفت عرض برگ پرچم بر روی کروموزوم 5H در جمعیت جو گزارش شد (Xue *et al.*, 2008)، که با مطالعه حاضر مطابقت نداشت. در پژوهش حاضر، QTL‌های شناسایی شده برای عرض برگ پرچم در شرایط تنش

آزمایش‌های تکرارپذیر برای شناسایی QTL‌های پایدار در محیط‌ها بسیار اهمیت دارند. به طور کلی، یک QTL با اثر متقابل افزایشی در محیط (AE) کم یا بدون AE می‌تواند در طیف وسیعی از محیط‌ها قابل استفاده باشد، در حالی که یک QTL با AEI معنی‌دار تنها در محیط خاصی که در آن کشف شده استفاده می‌شود (Zhao and Xu, 2012; Farokhzadeh *et al.*, 2020b). در این مطالعه با استفاده از روش MCIM در تجزیه QTL دو مکانی، هشت QTL افزایشی (M-QTL) و ۱۵ جفت QTL اپستازی برای صفات مختلف در جمعیت Nure/Tremois شناسایی شدند. در این روش همه M-QTL‌های صفات مرتبط با برگ پرچم به‌عنوان QTL‌های پایدار شناخته شدند. در بین QTL‌های پایدار، بر روی کروموزوم‌های 1H، 3H، 4H و 7H به ترتیب سه (۳۷/۵ درصد)، دو (۲۵ درصد)، یک، یک و یک QTL قرار داشتند. در بین هشت M-QTL، آلل Tremois نسبت به آلل Nure سهم کمتری را داشت. بیشترین کمترین تعداد QTL‌ها به ترتیب برای صفات سطح و طول برگ پرچم شناسایی شدند. M-QTL‌ها، ۳/۳۵-۱/۳۵ درصد از واریانس فنوتیپی را توضیح دادند. در میان همه صفات مورد مطالعه، M-QTL‌های FLA، SHFLL و FLW در فاصله‌های نشانگری BPB-1806-EBMAC0603، BPB-1009-BPB-3554 و E39M61_346-BPB-3201 به ترتیب بالاترین درصد فنوتیپی را توجیه کردند. اگرچه اثرات افزایشی، اثرات افزایشی در محیط و اپستازی به‌عنوان

مطالعه ما روی کروموزوم‌های 3H و 4H برای FLL و کروموزوم 7H برای FLA مطابقت داشت. در تحقیقات قبلی بر روی جمعیت‌های مختلف جو، QTL‌های قوی و مهم برای وزن هزار دانه روی کروموزوم 6H در شرایط نرمال و تنش خشکی مکان‌یابی شدند (von Korff *et al.*, 2008; Mikołajczak *et al.*, 2016)، که با QTL‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر برای FLA و SHFLL روی کروموزوم 6H هم‌خوانی داشتند. در توافق با نتایج ما، QTL‌هایی برای طول برگ پرچم و عملکرد دانه در جمعیت دابل‌هاپلوئید جو روی کروموزوم‌های 3H و 4H گزارش شده است (Vafadar Shamasbi *et al.*, 2017). این ارتباط‌های کروموزومی نشان می‌دهد که برگ پرچم در بهبود عملکرد و اجزای عملکرد گیاهی مهم است. فعالیت ژن‌ها و تنظیمات مرتبط با برگ پرچم تأثیر قابل توجهی در ویژگی‌های مورد نظر از جمله وزن هزار دانه دارند. بهبود عملکرد گیاهی و کیفیت محصول با بهبود برگ پرچم مرتبط است. بنابراین، توجه به کروموزوم 6H و صفات مرتبط با برگ پرچم، می‌تواند در بهبود کلی عملکرد گیاه و ارتقای ویژگی‌های مورد نظر تأثیرگذار باشد.

شناسایی و تایید QTL‌های پایدار در محیط‌ها و زمینه‌های ژنتیکی متنوع نقش مهمی در MAS ایفا می‌کند (Farokhzadeh *et al.*, 2020b). تجزیه QTL در یک آزمایش محیطی منفرد اغلب منجر به تخمین تعداد QTL کنترل کننده یک صفت خاص می‌شود. بنابراین،

می‌تواند به کلون سازی این QTLها با استفاده از تکنیک‌های ژنومی کمک کند و اطلاعات مفیدی را برای انتخاب به کمک مارکر در اصلاح ارقام جو با عملکرد بالا و سازگار با تنش خشکی فراهم می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تجزیه QTL در این مطالعه نشان می‌دهد که QTLهای اصلی و بزرگ اثر نقش اساسی در تعیین صفات مهم دارند. همچنین، QTLهای کوچک و QTLهای اپستازی، با یا بدون اثرات افزایشی، در بیان صفات تأثیرگذار هستند. در این پژوهش، QTLهای مرتبط با تحمل خشکی در همه کروموزوم‌های جو به جز کروموزوم 2H شناسایی شدند. با استفاده از تجزیه تک مکانی سه QTL به نام *Q₂SHFLL*- و *Q₁SHFLL-1H.NZ*، *Q₁FLW-1H.SZ* در فاصله‌های نشانگری *bPb-6343-bPb-8081* و *bPb-1419-bPb-9180* و *bPb-9108-bPb-6343* به‌عنوان QTLهای قوی شناخته شدند. با استفاده از تجزیه دو مکانی، همه QTLهای صفات مرتبط با برگ پرچم، تنها اثرات افزایشی اصلی را نشان دادند و بدون اثرات متقابل با محیط بودند و در نتیجه به‌عنوان QTLهای پایدار شناخته شدند. اکثر QTLهای پایدار روی کروموزوم‌های 1H و 6H شناسایی شدند. QTLهای قوی و پایدار کنترل کننده صفات برگ پرچم در این مطالعه، همراه با نشانگرهای پیوسته به این QTLها، پس از تایید و اعتبارسنجی در شرایط محیطی و زمینه‌های ژنتیکی مختلف، می‌توانند در

فاکتورهای ژنتیکی مهم در بیان فنوتیپی ژن‌های صفات پیچیده تلقی می‌شوند، اما این اثرات در مطالعات نقشه‌یابی QTL کمتر مورد مطالعه و توجه قرار می‌گیرند. علاوه بر این، نادیده گرفتن اثرات اپیستازی می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر بهره‌وری و دقت انتخاب به کمک مارکر (MAS) داشته باشد؛ زیرا این امر ممکن است منجر به ارزیابی کم یا بیش از حد اثرات QTL شود (Farokhzadeh *et al.*, 2020a). فقط تعداد کمی از مطالعات، اثر متقابل QTLها (AA, AE و AAE) را در جو به طور کامل بررسی کردند (Beheshtizadeh *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، از ۱۵ جفت E-QTL تعیین شده، دو جفت E-QTL برای صفت FLW دارای اثرات AAE معنی‌دار بودند. همچنین بیشترین تعداد QTLهای اپیستازی به ترتیب متعلق به صفات FLW و FLL بودند که نشان‌دهنده اهمیت اپیستازی در ساختار ژنتیکی این صفات در جمعیت Nure/Tremois بود. اگرچه اثرات متقابل اپیستازی در QTLهای اثر اصلی ممکن است محدودیتی برای برنامه‌های MAS ایجاد کند، اما اثرات افزایشی برجسته و منحصر به فرد این QTLها برای استفاده در MAS کافی می‌باشد (Govindaraj *et al.*, 2009). بنابراین، در صورت وجود اثرات اپیستازی افزایشی، سود ژنتیکی اضافی و افزوده می‌تواند در اصلاح انتخابی به دست آید (Liu *et al.*, 2003). این نتایج نشان می‌دهند که کشف و شناسایی QTLهای بزرگ اثر و پایدار از طریق روش MCIM، ارزشمند است و

برنامه‌های به‌نژادی انتخاب به کمک مارکر (MAS) و به خشکی با عملکرد بالا مورد استفاده قرار گیرند
هرم‌سازی ژن برای ایجاد و انتخاب ژنوتیپ‌های جو متحمل

References

- Abou-Elwafa SF. 2016. Association mapping for drought tolerance in barley at the reproductive stage. *Comptes Rendus Biologies*, 339, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2015.12.002>
- Ajayi, O. O., Bregitzer, P., Klos, K., Hu, G., Walling, J. G., & Mahalingam, R. 2023. QTL mapping of shoot and seed traits impacted by Drought in Barley using a recombinant inbred line Population. *BMC Plant Biology*, 23, 283. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04292-x>
- Ali, M., Hussain, M., Khan, M., Ali, Z., Zulkiffal, M., Anwar, J., Sabir, W., & Zeeshan, M. 2010. Source-sink relationship between photosynthetic organs and grain yield attributes during grain filling stage in spring wheat (*Triticum aestivum*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 509-515. <https://digitalcommons.memphis.edu/facpubs/14242>
- Beheshtizadeh, H., Fakheri, B. A., Aghnoum, R., Mahdinezhad, N., Pourdard, S. S., & Masoudi, B. 2018. QTL mapping of grain yield and its components under normal and drought stress conditions in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 78, 69-80. <https://www.isgpb.org/journal/index.php/IJGPB/article/view/57>
- Biswal, A. K., & Kohli, A. 2013. Cereal flag leaf adaptations for grain yield under drought: knowledge status and gaps. *Molecular Breeding*, 31, 749-766. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9847-7>
- Chowdhry, A. R., Saleem, M., & Alam, K. 1976. Relation between flag leaf, yield of grain and yield components in wheat. *Experimental Agriculture*, 12, 411-415. <https://doi.org/10.1017/S0014479700007432>
- Dorrani Nezhad, M., Mohammadi Nezhad, Q., & Nakhoda, B. 2016. QTL mapping of grain yield and yield components in pure lines derived from Roshan× Falat bread wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) under limited irrigation condition. *Agricultural Biotechnology Journal*, 8, 33-46. <https://doi.org/10.22103/jab.2016.1417>. (In Persian)
- Du, B., Liu, L., Wang, Q., Sun, G., Ren, X., Li, C., & Sun, D. 2019. Identification of QTL underlying the leaf length and area of different leaves in barley. *Scientific Reports*, 9, 4431. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40703-6>
- FAO, 2021. Food and Agriculture Organization of the United Nations-Statistic Division. <https://www.fao.org/faostat/en/#data:QC>.
- Farokhzadeh, S., Fakheri, B., Mahdi Nezhad, N., Tahmasebi, S., Mirsoleimani, A., & Heidari, B. 2020a. Mapping QTLs associated with grain yield and yield-related traits under aluminum stress in bread wheat. *Crop and Pasture Science*, 71, 429-444. <https://doi.org/10.1071/CP19511>
- Farokhzadeh, S., Fakheri, B. A., Mahdi Nezhad, N., Tahmasebi, S., & Mirsoleimani, A. 2020b. Genetic dissection of spike-related traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under aluminum stress. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67, 1221-1243. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00907-6>
- Farokhzadeh, S., Fakheri, B. A., Nezhad, N. M., Tahmasebi, S., Mirsoleimani, A. 2019. Mapping QTLs of flag leaf morphological and physiological traits related to aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25, 975-990. <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00670-8>
- Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A. M., Galiba, G., Toth, B., Hayes, P. M., Skinner, J. S., & Pecchioni, N. 2004. Two loci on chromosome 5H determine low-temperature tolerance in a 'Nure'(winter)×'Tremois'(spring) barley map. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 670-680. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1468-9>
- Govindaraj, P., Vinod, K., Arumugachamy, S., & Maheswaran, M. 2009. Analysing genetic control of cooked grain traits and gelatinization temperature in a double haploid population of rice by quantitative trait loci mapping. *Euphytica*, 166, 165-176. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9808-0>

- Guo, P., Baum, M., Varshney, R. K., Graner, A., Grando, S., & Ceccarelli, S. 2008. QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought. *Euphytica*, 163, 203-214. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9629-6>
- Gyenis, L., Yun, S., Smith, K., Steffenson, B., Bossolini, E., Sanguineti, M., & Muehlbauer, G. 2007. Genetic architecture of quantitative trait loci associated with morphological and agronomic trait differences in a wild by cultivated barley cross. *Genome*, 50, 714-723. <https://doi.org/10.1139/g07-054>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S., & Fujita, M. 2013. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, 209-250. <https://doi.org/10.1002/9783527675265.ch09>
- Huang, S., Sun, L., Hu, X., Wang, Y., Zhang, Y., Nevo, E., Peng, J., & Sun, D. 2018. Associations of canopy leaf traits with SNP markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. durum (Desf.)). *PLOS ONE*, 13, e0206226. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206226>
- Jabbari, M., Fakheri, B. A., Aghnoum, R., Mahdi Nezhad, N., & Ataei, R. 2018. GWAS analysis in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits exposed to drought. *PLOS ONE*, 13, e0204952. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204952>
- Jabbari, M., Fakheri, B. A., Aghnoum, R., Nezhad, N. M., Ataei, R., & Koochakpour, Z. 2019. Association mapping of morphological and physiological traits of flag leaf related to drought tolerance in barley. *Revista de Agricultura Neotropical*, 6, 7-18. <https://www.academia.edu/62332006>
- Kadam, N. N., Xiao, G., Melgar, R. J., Bahuguna, R. N., Quinones, C., Tamilselvan, A., Prasad, P. V. V., & Jagadish, K. S. 2014. Agronomic and physiological responses to high temperature, drought, and elevated CO₂ interactions in cereals. *Advances in Agronomy*, 127, 111-156. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800131-8.00003-0>
- Koochakpour, Z., Solouki, M., Fakheri, B. A., Aghnoum, R., Mahdi Nezhad, N., & Jabbari, M. 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, 291-304. <https://doi.org/10.52547/abj.22.4.291> (In Persian)
- Liu, L., Sun, G., Ren, X., Li, C., & Sun, D. 2015. Identification of QTL underlying physiological and morphological traits of flag leaf in barley. *BMC Genetics*, 16, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0187-y>
- Liu, P., Zhu, J., Lou, X., & Lu, Y. 2003. A method for marker-assisted selection based on QTLs with epistatic effects. *Genetica*, 119, 75-86. <https://doi.org/10.1023/a:1024439008631>
- Long, Y., Zhang, C., & Meng, J. 2008. Challenges for QTL analysis in crops. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 11, 7-12.
- Makhtoum, S., Sabouri, H., Gholizadeh, A., Ahangar, L., Katouzi, M., & Mastinu, A. 2022. Mapping of QTLs controlling barley agronomic traits (*Hordeum vulgare* L.) under normal conditions and drought and salinity stress at reproductive stage. *Plant Gene*, 31, 100375. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2022.100375>
- Mather K. 1941. Variation and selection of polygenic characters. *Journal of Genetics*, 41, 159-193. <https://doi.org/10.1007/BF02983019>
- McIntyre, C. L., Mathews, K. L., Rattey, A., Chapman, S. C., Drenth, J., Ghaderi, M., Reynolds, M., & Shorter, R. 2010. Molecular detection of genomic regions associated with grain yield and yield-related components in an elite bread wheat cross evaluated under irrigated and rainfed conditions. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 527-541. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1173-4>
- Mikołajczak, K., Ogrodowicz, P., Gudyś, K., Krystkowiak, K., Sawikowska, A., Frohberg, W., Górny, A., Kędzióra, A., Jankowiak, J., & Józefczyk, D. 2016. Quantitative trait loci for yield and yield-related traits in spring barley populations derived from crosses between European and Syrian cultivars. *PLOS ONE*, 11, e0155938. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155938>
- Moualeu-Ngangué, D., Dolch, C., Schneider, M., Léon, J., Uptmoor, R., & Stützel, H. 2020. Physiological and morphological responses of different spring barley genotypes to water deficit and associated QTLs. *PLOS ONE*, 15, e0237834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237834>
- Niu, Y., Chen, T., Zheng, Z., Zhao, C., Liu, C., Jia, J., & Zhou, M. 2022. A new major QTL for flag leaf thickness in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biology*, 22, 305. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03694-7>

- Rizza, F., Badeck, F., Cattivelli, L., Lidestri, O., Di Fonzo, N., & Stanca, A. 2004. Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop Science*, 44, 2127-2137. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.2127>
- Rozanova, I. V., Grigoriev, Y. N., Efimov, V. M., Igoshin, A. V., & Khlestkina, E. K. 2023. Genetic dissection of spike productivity traits in the siberian collection of spring barley. *Biomolecules*, 13, 909. <https://doi.org/10.3390/biom13060909>
- Tian, L., Liu, X., Zhang, B., Liu, M., & Wu, L. 2017. Extraction of rice heavy metal stress signal features based on long time series leaf area index data using ensemble empirical mode decomposition. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14, 1018. <https://doi.org/10.3390/ijerph14091018>
- Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., & Befort, B. L. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 20260-20264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116437108>
- Tondelli, A., Francia, E., Visioni, A., Comadran, J., Mastrangelo, A., Akar, T., Al-Yassin, A., Ceccarelli, S., Grando, S., & Benbelkacem, A. 2014. QTLs for barley yield adaptation to Mediterranean environments in the 'Nure' × 'Tremois' biparental population. *Euphytica*, 197, 73-86. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1053-5>
- Vafadar Shamasbi, F., Jamali, S. H., Sadeghzadeh, B., & Abdollahi Mandoulakani, B. 2017. Genetic mapping of quantitative trait loci for yield-affecting traits in a barley doubled haploid population derived from clipper × sahara 3771. *Frontiers in Plant Science*, 8, 688. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00688>
- von Korff, M., Grando, S., Del Greco, A., This, D., Baum, M., & Ceccarelli, S. 2008. Quantitative trait loci associated with adaptation to Mediterranean dryland conditions in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 117, 653-669. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0787-2>
- Voorrips R. 2002. MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 93, 77-78. <https://doi.org/10.1093/jhered/93.1.77>
- Wang, S., Basten, C., & Zeng, Z. 2010. Windows QTL Cartographer 2.5. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA.
- Xue, D.-w., Chen, M.-c., Zhou, M.-x., Chen, S., Mao, Y., & Zhang, G.-p. 2008. QTL analysis of flag leaf in barley (*Hordeum vulgare* L.) for morphological traits and chlorophyll content. *Journal of Zhejiang University. Science*, B9, 938. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0820105>
- Yang, D., Liu, Y., Cheng, H., Chang, L., Chen, J., Chai, S., & Li, M. 2016. Genetic dissection of flag leaf morphology in wheat (*Triticum aestivum* L.) under diverse water regimes. *BMC genetics*, 17, 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0399-9>
- Yang, J., Hu, C., Hu, H., Yu, R., Xia, Z., Ye, X., & Zhu, J. 2008. QTLNetwork: mapping and visualizing genetic architecture of complex traits in experimental populations. *Bioinformatics*, 24, 721-723. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm494>
- Zhao, F., & Xu, S. 2012. Genotype by environment interaction of quantitative traits: a case study in barley. *G3: Genes| Genomes| Genetics*, 2, 779-788. <https://doi.org/10.1534/g3.112.002980>
- Zhou, G., Zhang, Q., Zhang, X.-q., Tan, C., & Li, C. 2015. Construction of high-density genetic map in barley through restriction-site associated DNA sequencing. *PLoS ONE*, 10, e0133161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133161>