



شناسه دیجیتالی (DOI): 10.22092/idaj.2024.364117.419

تأثیر میزان بیان ژن HvDROI بر معماری سیستم ریشه‌ای ارقام جو دیم سردسیری تحت شرایط تنش کم آبی در محیط ریزوترون

آیلار سادات ستارزاده^۱، حسین شهبازی^{۲*}، وهرام رشیدی^۳، علیرضا احمد زاده^۳، فرهاد فرح وش^۳

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.

۲- مرکز تحقیقات زیست فناوری کشاورزی، واحد اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، اردبیل، ایران.

۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.

چکیده مبسوط

مقدمه: معماری سیستم ریشه‌ای، یکی از ویژگی‌های اساسی ارقام جو در تحمل خشکی است. بطوریکه ژنوتیپ‌های دارای ریشه عمودی‌تر، از مقاومت به خشکی بیشتری برخوردار هستند. به همین منظور، آزمایشی برای بررسی تأثیر بیان ژن HvDROI بر معماری سیستم ریشه‌ای ارقام جو تحت تنش کم آبی با استفاده از ریزوترون شیشه‌ای انجام گرفت.

روش‌شناسی پژوهش: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا گردید که در آن فاکتور اول شامل ۱۰ رقم جو دیم و فاکتور دوم شامل ۳ سطح تنش خشکی (بدون تنش (شاهد)، ۷۵٪ ظرفیت زراعی و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) بود. آزمایش در سال ۱۴۰۰ در مرکز تحقیقات زیست فناوری کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل انجام شد. پس از رشد بوته‌ها و رسیدن ریشه‌ها به انتهای ریزوترون، تعداد انشعابات ریشه، طول بلندترین ریشه و زاویه رشد ریشه اندازه‌گیری شد. سپس میزان بیان ژن HvDROI از طریق Real Time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌های پژوهش: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در تمام صفات در بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود دارد که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی در بین ارقام مورد آزمایش بود. اثر تنش خشکی بر روی تمام صفات معنی‌دار بود. بطوری که باعث افزایش طول ریشه و بیان ژن HvDROI در هر دو سطح تنش خشکی، کاهش تعداد ریشه و افزایش زاویه رشد ریشه تحت تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی شد. نتایج مقایسات میانگین نشان داد که طول ریشه از ۲۲/۴ تا ۳۰/۸ سانتی‌متر متغیر بود به طوریکه رقم آرتان دارای بیشترین طول ریشه بود، ۸ رقم دیگر (قافلان، آبیدر، نادر، انصار، سرارود ۱، دوبرینیا، سهند و فصیح) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. تعداد ریشه بذری ارقام از ۳/۳۹ تا ۴/۳۳ متغیر بود که ارقام دوبرینیا، رادیکال، سهند، نادر و آبیدر دارای بیشترین تعداد ریشه بودند. زاویه رشد ریشه از ۶۹/۴ تا ۷۶/۸ درجه متغیر بود که ارقام سرارود، آرتان، آبیدر، سهند، فصیح و قافلان دارای عمودی‌ترین ریشه بودند. از لحاظ بیان ژن HvDROI در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی، ارقام آرتان، قافلان، نادر و سهند در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی رقم قافلان دارای بیشترین میزان بیان ژن بود. نتایج همبستگی نشان داد که میزان بیان ژن HvDROI در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی با طول ریشه همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد (* $t=0.74$). در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی، میزان بیان ژن HvDROI با طول ریشه غیر معنی‌دار ولی با زاویه رشد ریشه همبستگی



* نگارنده مسئول: hossein.shahbazi@iaau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۴

مثبت و معنی‌دار نشان داد ($r=0.85^{**}$). نتایج رگرسیون به روش گام به گام نشان داد که در شرایط تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی بیان این ژن ۵۵/۶ درصد از تغییرات طول ریشه را توجیه نمود. در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی بیان این ژن ۷۴/۶ درصد از تغییرات زاویه رشد ریشه را توجیه نمود. نتایج این آزمایش امکان استفاده از بیان ژن *HvDROI* را برای گزینش زاویه رشد ریشه در جو را مطرح می‌سازد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، ریشه‌دهی عمیق، معماری سیستم ریشه‌ای، تنش کم آبی

مقدمه

سیستم ریشه‌ای در برنامه‌های اصلاحی نیازمند دانش کافی از مکانیسم‌های کنترل ژنتیکی و میزان تنوع ژنتیکی این صفت می‌باشد (Jia *et al.*, 2019). مطالعات نشان داده‌اند که در غلات ژنوتیپ‌هایی که رشد ریشه عمودی‌تر دارند، ریشه‌دهی عمیق در خاک خواهند داشت (Robinson *et al.*, 2016) و در نتیجه با استفاده از مکانیسم اجتناب، از مقاومت به خشکی بیشتری برخوردار خواهند بود. زاویه رشد ریشه در پاسخ به گرانش، که توسط اکسین کنترل می‌شود، یک صفت هدف مناسب برای به دست آوردن عملکرد بالاتر در غلات است (Ashraf *et al.*, 2019). یکی از ژن‌های مهم در تعیین شیب رشد ریشه در برنج شناسایی شده است که ژن *DROI* (Deeper Rooting1) نامیده می‌شود. *DROI* یک مکان ژنی صفات کمی (QTL) است که در طول شدن سلول‌ها در نوک ریشه دخیل است که باعث رشد نامتقارن ریشه و خم شدن ریشه در پاسخ به نیروی جاذبه می‌گردد (Uga *et al.*, 2011). همولوگ‌های *DROI* در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی حفاظت شده هستند و بر معماری ریشه در تک‌لپه‌ها و دولپه‌ای‌ها تأثیر می‌گذارند (Uga *et al.*, 2013). بنابراین، تنوع آلی همولوگ‌های *DROI* منبع قدرتمندی برای اصلاح ژنتیکی معماری سیستم ریشه در گیاهان زراعی مختلف خواهد بود (Nakano *et al.*, 2022). تظاهر بالای ژن *DROI* در برنج باعث رشد عمودی ریشه بطرف عمق بیشتر می‌گردد (Uga *et al.*, 2013). اساس ژنتیک زاویه رشد ریشه در برنج ساده است،

جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی دنیا است که علاوه بر تامین ماده اولیه صنایع مالت سازی، نقش عمده‌ای در تغذیه دام دارد (Jia *et al.*, 2019). با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان، تقاضا برای محصولات کشاورزی رو به افزایش است. این در حالیست که تنش خشکی تولید محصولات کشاورزی را با محدودیت روبرو ساخته است. با توجه به محدودیت منابع آب، اصلاح ارقام متحمل به خشکی، یکی از راهکارهای مهم در مقابله با تنش خشکی می‌باشد. انتخاب صفت مناسب برای استفاده در به نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی صفت و سهولت انتخاب آن صفت دارد (Richard *et al.*, 2015). ریشه اندام بسیار حیاتی برای گیاهان می‌باشد، چرا که ضمن تامین آب و مواد مغذی برای گیاه، آنرا در خاک مستقر می‌نمایند. هنگامی که گیاه با تنش‌های محیطی روبرو می‌گردد ریشه گیاه، نقش مهمی را در بقای گیاه بازی می‌کند (Grossnicle, 2005). معماری ریشه (طول ریشه، انشعابات ریشه و زاویه رشد ریشه)، کلید اساسی برای اصلاح و مهندسی این صفات است (Jia *et al.*, 2019). معماری سیستم ریشه، به ویژه یک سیستم ریشه باریک و عمیق، به عنوان یک ویژگی سازگاری مهم با خشکی پیشنهاد شده است که امکان جذب بهینه منابع را تحت تنش آبی فراهم می‌کند (Robinson *et al.*, 2016). اما استفاده هوشمندانه از

¹ - Quantitative trait loci

ارقام متحمل، به هدف برنامه‌های جدید اصلاحی بدل شده و توجه مجدد به اصلاح سیستم ریشه‌ای مد نظر دانشمندان قرار گرفته است (Kuijken *et al.*, 2015). اخیراً یک روش فنوتایپینگ با توان عملیاتی بالا، مقرون به صرفه و مقیاس‌پذیر برای غربالگری زاویه ریشه بذری در گندم و جو در شرایط کنترل‌شده توسعه یافته است که به روش «گلدان شفاف» یا ریزوترون شیشه‌ای معروف است (Richard *et al.*, 2015). این تکنیک انتخاب مستقیم فنوتیپی زاویه ریشه را تسهیل کرده است. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر میزان بیان ژن *HvDRO1* بر معماری سیستم ریشه‌ای ارقام جو دیم سردسیری تحت شرایط تنش خشکی در محیط ریزوترون می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایشی: در این آزمایش ۱۰ رقم جو (جدول ۱) در آزمایش گلدانی (ریزوترون) در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه‌های مرکز تحقیقات زیست فناوری کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل کشت شدند. از ریزوترون‌های با ابعاد $1 \times 25 \times 40$ cm استفاده گردید (شکل ۱a). به منظور رشد مستقیم و عدم ایجاد ممانعت در مسیر رشد ریشه‌ها توسط ذرات شن، از خاک زراعی لومی الک شده برای پر کردن ریزوترون‌ها استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید که در آن فاکتور اول شامل ۱۰ رقم جو و فاکتور دوم شامل ۳ سطح تنش خشکی (بدون تنش (شاهد)، ۷۵٪ ظرفیت زراعی و ۵۰٪ ظرفیت زراعی) بود. محاسبه تنش خشکی بر اساس منحنی رطوبتی خاک و اندازه‌گیری رطوبت خاک با دستگاه رطوبت سنج Marmonix MSM-800 انجام شد. به طوریکه ابتدا رطوبت ریزوترون‌ها با آب مقطر به حد ظرفیت زراعی رسانده شد، سپس هر روز نسبت به اندازه‌گیری رطوبت ریزوترون‌ها اقدام شد و کاشت بذور پس از رسیدن به رطوبت‌های مزبور به مقادیر مورد نظر انجام گردید. در داخل هر ریزوترون ۳ بذر کاشته شد، برای

به موجب آن یک ژن اصلی زاویه رشد ریشه را کنترل می‌کند و بنابراین می‌توان به راحتی در یک جمعیت دو والدینی که برای صفت زاویه ریشه تفکیک می‌شوند، شناسایی کرد (Robinson *et al.*, 2016). با این حال مکانیسم مولکولی این صفت در گندم و جو دقیقاً شناسایی نشده است (Ashraf *et al.*, 2019). تحقیقات اخیر در جو نشان داده است که زاویه رشد ریشه تحت کنترل ژنتیکی پیچیده است و QTL های متعدد در بسیاری از کروموزوم‌ها پخش شده‌اند که بر این صفت تأثیر می‌گذارند (Sayed *et al.*, 2017). در جو ژن مشابه *DRO1* بنام *HvDRO1* شناسایی شده است. نتایج تحقیقات ناکانو و همکاران (Nakano *et al.*, 2022) نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم موجود در آللهای ژن *HvDrO1* نقش مهمی در تعیین زاویه رشد ریشه از صفر درجه تا ۵۷/۵ درجه در میان توده‌های جو زراعی ایفا می‌کند، بطوریکه آللهای غیرفعال در مقایسه با آللهای فعال، ریشه‌های سطحی‌تر ایجاد می‌نمایند. همچنین مشاهده شده است که جو وحشی ISR42-8 که بیان ژن *HvDRO1* پایین‌تری نسبت به رقم اسکارلت داشت، ریشه‌های سطحی‌تر ایجاد نمود (Ashraf *et al.*, 2019). با این حال مطالعات جامعی در خصوص بررسی رابطه بین بیان این ژن و زاویه رشد ریشه در جو انجام نشده است، بنابراین با بررسی تاثیر بیان ژن فوق در زاویه رشد ریشه و تعیین عمق ریشه‌دهی و همچنین تاثیر بیان این ژن در صفات زراعی دیگر می‌توان در مورد ارزش آن به عنوان ابزار غیر مستقیم گزینش قضاوت نمود. عمق ریشه و زاویه رشد ریشه وراثت پذیری بالایی دارند (Naz *et al.*, 2014)، بنابراین با انتخاب مستقیم یا غیر مستقیم برای زاویه رشد ریشه و تلاقی ژنوتیپ‌های مطلوب، امکان هر می سازی ژنها برای این صفات وجود دارد. با توجه به این که بیشتر مطالعات تحمل به خشکی که روی گیاهان زراعی صورت گرفته، مربوط به اندام‌های هوایی بوده، بنابراین در مورد ریشه اطلاعات به اندازه اندام هوایی نیست. اما امروزه با توسعه ابزارها و متدهای جدید، معماری سیستم ریشه‌ای برای اصلاح

میکس سایبرلو سیناکلون Sina SYBR Blue HST برای انجام واکنش Real-Time PCR بوده و حاوی رنگ SYBR Blue می‌باشد، استفاده شد. در این مستر میکس از آنزیم HS-Taq DNA Polymerase استفاده شده است که حساسیت و اختصاصیت واکنش را برای الگوهای cDNA افزایش می‌دهد. برای طراحی پرایمر ژن *HvActin* به عنوان ژن خانه‌دار^۲ و ژن *HvDRO1* به عنوان ژن مورد مطالعه، توالی آنها با جستجو در بانک‌های اطلاعاتی (NCBI) یافت شد و طراحی آغازگرهای اختصاصی از قسمت توالی‌های کد کننده^۳ (CDS) ژن و با بهره‌گیری از برنامه Primer3 plus صورت گرفت (جدول ۲). الگوی بیان ژن با استفاده از روش Real-time PCR و دستگاه Rotor-Gene Q (QIAGEN) انجام شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن از ۳ تکرار بیولوژیکی و ۲ تکرار تکنیکی استفاده شد. چرخه آستانه^۴ (Ct) ۰/۰۴۵ در نظر گرفته شد (شکل ۲). میزان بیان ژن با روش $\Delta\Delta Ct$ -Efficiency adjusted محاسبه گردید (Yuan *et al.*, 2008). به‌طوریکه میزان بیان ژن *HvDRO1* بر اساس ژن اکتین با بیان ثابت نرمال شده، سپس میزان تغییرات بیان ژن در تیمارهای تنش نسبت به همان رقم در تیمار بدون تنش (شاهد) سنجیده شد. برای بررسی اختصاصی بودن محصول PCR علاوه بر BLAST پرایمرها، وجود یک پیک در منحنی ذوب مورد توجه قرار گرفت. برای تجزیه داده‌های Real-time PCR از نرم افزار LinregPCR استفاده شد.

تجزیه های آماری: پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها به روش کولموگروف و اسمیرینوف، تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از طرح آزمایشی فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت و

جلوگیری از تبخیر بیشتر آب از ریزوترون‌ها و ثابت ماندن رطوبت خاک، قسمت بالای قاب شیشه‌ای با نوار چسب شیشه‌ای پوشانیده شد. برای اینکه الگوی رشد ریشه‌ها بر روی شیشه ریزوترون ظاهر شود از خاصیت زمین‌گرایی ریشه استفاده شد. بطوریکه ریزوترون‌ها با زاویه ۶۰ درجه نسبت به افق در قاب چوبی قرار داده شدند (شکل ۱b). گیاهچه‌ها در اتاق رشد با نور مصنوعی ۱۲ ساعته و دمای روزانه ۲۲ و شبانه ۱۷ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۰٪ رشد کردند (Robinson *et al.*, 2016). پس از رشد ریشه‌ها و رسیدن آنها به انتهای شیشه ریزوترون (۱۰ روز)، صفات تعداد انشعابات ریشه، طول بلندترین ریشه و زاویه رشد ریشه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری زاویه رشد ریشه، ابتدا زاویه بین دو انشعاب کناری (α) اندازه‌گیری شد (شکل ۱c). سپس زاویه رشد ریشه از افق با استفاده از رابطه زیر بدست آمد (Nakano, *et al.*, 2022):

$$90 - \frac{\alpha}{2} = \text{زاویه رشد ریشه}$$

اندازه‌گیری بیان ژن: بعد از اندازه‌گیری صفات مربوط به معماری ریشه، ریزوترون‌ها باز شده و ریشه‌ها از خاک جدا گردید و سپس نمونه‌ها از ۱ سانتی‌متر انتهای ریشه‌ها (۱۰۰ میلی‌گرم) جمع‌آوری و در ازت مایع نگهداری شدند. برای استخراج RNA کل، از کیت معرف ترایزول^۱ RNX-PLUS (سیناکلون) استفاده شد. پس از استخراج mRNA، از آنزیم DNase I برای حذف DNA استفاده گردید. سپس کیفیت mRNA با روش اسپکتروفتومتری (نانودراپ) بررسی گردید. واکنش سنتز cDNA از RNA کل، با کیت Sina Clon First Strand cDNA Synthesis Kit (SinaClonBioScience) با استفاده از یک آغازگر الیگو ۱۸ (dT) انجام شد. از نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر برای بررسی کیفیت cDNA استفاده شد. برای انجام واکنش PCR از محلول مستر

³ - coding sequences (CDS)

⁴ - Cycle of threshold

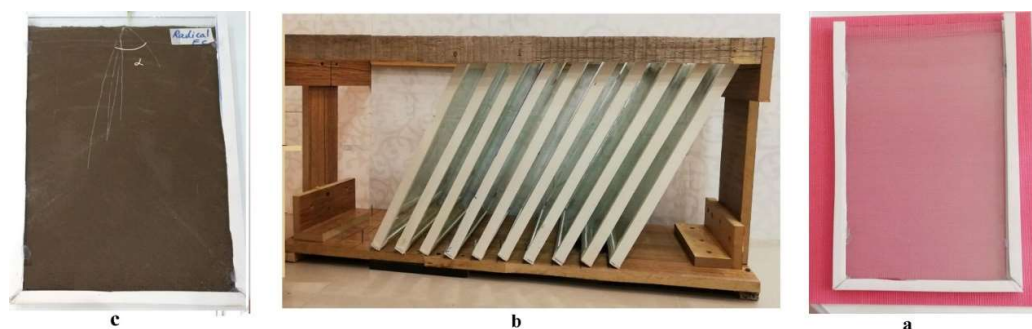
¹ - Trizole

² - Housekeeping gene

جدول ۱- لیست ارقام جو دیم استفاده شده در آزمایش

Table 1- List of barley cultivars used in the experiment

شجره (Pedigree)	تیپ رشد/ ردیف (Growth type/Row)	رقم (Cultivar)
Tokak	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۱ سهند (Sahand)
Pamir-158/ZDM1454	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۲ آرتان (Artan)
--	(Winter/ Six row) زمستانه شش ردیفه	۳ دوبرینیا (Dobrinia)
Yea 168.4/Yea 605.5// Yea206-4A-3	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۴ انصار (Ansar)
--	(Facultative/ Six row) بینابین شش ردیفه	۵ رادیکال (Radical)
ژنوتیپ بومی (Native genotype)	(Winter/ Two row) زمستانه دو ردیفه	۶ فصیح (Fasih)
Gorgan4 × 2/Xmuse	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۷ نادر (Nader)
Tokak//Stepto/Antares	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۸ قافلان (Gafelan)
Chicm/An57//Albert	(Winter/ Two row) زمستانه دو ردیفه	۹ سرارود (Sararood)
Yesevi-93	(Facultative/ Two row) بینابین دو ردیفه	۱۰ آبدیدار (Adidar)

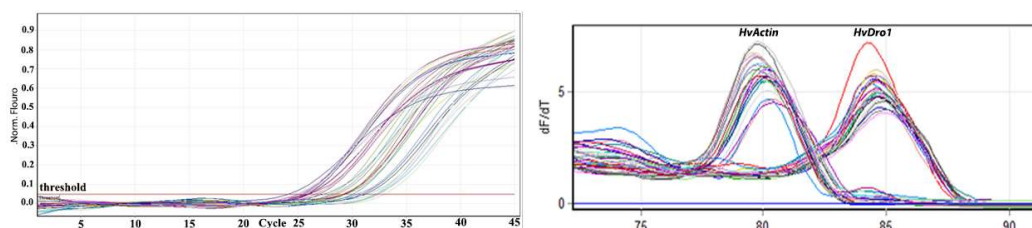


شکل ۱- (a) قاب شیشه‌ای با ابعاد ۱×۲۵×۴۰ cm (b) قاب چوبی ریزوترون‌ها (c) زاویه رشد ریشه از افق
Figure 1-(a) 1×25×40 cm glass frame (b) Wooden holder of rhizotrons (c) root angle from horizon

جدول ۲- توالی آغازگرهای طراحی شده برای ژن خانه دار *HvDRO1* و *HvActin*

Table 2- Primer sequences designed for the housekeeping gene *HvActin* and *HvDRO1*

ژن	شماره	آغازگر روبه جلو	T _m	آغازگر معکوس	T _m	طول قطعه
Gene	دسترسی	Forward Primer (5' to 3')	(°C)	Reverse Primer (5' to 3')	(°C)	Product Size
<i>HvDRO1</i>	XM_0450931	TTGGCCCAATCATTTGCT	63.1	CGCTTGGTCTTTGCTTG	61.6	181
	63	AG		CTA		
<i>HvActin</i>	AY145451	GCCGTGCTTTCCCTCTAT	60.8	GCTTCTCCTTGATGTCCC	58.4	235
		G		TTA		



شکل ۲- چرخه آستانه و منحنی ذوب آغازگرهای ژن *HvActin* و *HvDRO1*
Figure 2- Cycle of threshold and melting curve of primers for *HvDRO1* and *HvActin* genes

(جدول ۴). تعداد ریشه تحت تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی بدون تغییر ماند ولی در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی دچار کاهش جزئی شد. نتایج نشان داد که دامنه تغییرات زاویه رشد ریشه نسبت به سطح افق از ۷۱ تا ۷۵ درجه متغیر بود، به طوری که زاویه رشد ریشه از حالت نرمال به تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی، کاهش یافت ولی در تنش ۵۰٪ دچار افزایش شد (جدول ۴). مطالعات نشان داده است که تنش آبی باعث افزایش ۲۵/۳ درصدی زاویه رشد ریشه می-گردد (Kou et al., 2022). اثر متقابل ژنوتیپ×تنش در تمام صفات بجز میزان بیان ژن *HvDROI* غیرمعنی دار گردید، بدین معنی که عکس العمل ژنوتیپها نسبت به تغییرات تنش خشکی در اکثر صفات یکسان است. وجود اثر متقابل ژنوتیپ×محیط انتخاب ژنوتیپهای برتر را با مشکل مواجه ساخته و از فاکتورهای مهم در انتخاب صفات ثانویه برای غربالگری ژنوتیپهای برتر در علم به نژادی است.

مقایسات میانگین به روش توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای بررسی رابطه بین صفات از همبستگی‌های ساده و تجزیه رگرسیون گام به گام استفاده شد. از نرم افزارهای SAS و Excel به ترتیب برای تجزیه آماری داده‌ها و رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

تجزیه واریانس: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در تمام صفات در بین ارقام اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳). که حاکی از تنوع ژنتیکی بین ارقام مورد مطالعه است. قابل ذکر است که از این تنوع ژنتیکی می‌توان در برنامه‌های اصلاحی سود جست. اثر تنش خشکی بر روی تمام صفات معنی‌دار بود. به طوری که باعث افزایش ۱۴ و ۲۲ درصدی طول ریشه در تنش‌های ۷۵٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی شد

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات معماری ریشه در ارقام جو مورد مطالعه
Table 3- Analysis of variance (mean squares) of root architectural traits in studied barley cultivars

<i>HvDROI</i> بیان ژن	طول ریشه	تعداد ریشه	زاویه ریشه	درجه	منابع تغییر
<i>HvDROI</i> expression	Root length	Root numbers	Root growth angle	آزادی df	Source of Variation
7.072**	0.190 ^{ns}	0.136 ^{ns}	5.35 ^{ns}	2	تکرار (Replication)
5.186*	215.7**	1.20*	127.5*	2	تنش (Stress)
14.998**	41.18**	0.890*	62.3*	9	واریته (Variety)
5.877**	6.94 ^{ns}	0.57 ^{ns}	26.7 ^{ns}	18	واریته×تنش (Variety× Stress)
0.566	7.33	0.37	25.8	58	اشتباه (Error)
29.7	10.3	16.1	6.9	--	ضریب تغییرات (CV%)

^{ns}، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪ (درجه آزادی منابع تغییر برای بیان ژن با ۲ محیط و ۹ رقم محاسبه شد).

^{ns} , * and ** are non significant, significant at 5% and 1% , respectively.

در جهش یافته‌های این ژن ریشه‌ها رشد افقی داشتند (Ashraf *et al.*, 2019). اما در مطالعه جیا و همکاران (Jia *et al.*, 2019) این QTL در تعیین زاویه ریشه جو نقش زیادی نداشت. این محققین اذعان داشتند که بیان ژن را در کل بافت ریشه اندازه‌گیری کرده‌اند، در حالیکه بیان این ژن بیشتر در نوک ریشه بالا بوده و دارای اهمیت است. همانگونه که پراکنش ارقام نشان می‌دهد (شکل ۴) ارقام آرتان، نادر، قافلان و دوبرینیا با دارا بودن بیشترین زاویه رشد ریشه از یک طرف و ارقام سه‌سند، سرارود، فصیح، رادیکال و انصار با زاویه نفوذ ریشه پایین نقش مهمی در شکل‌گیری این رابطه داشته‌اند. عدم وجود همبستگی بین تعداد ریشه و زاویه رشد ریشه امکان‌پذیر است. همبستگی برای هر دو صفت را نشان می‌دهد. همبستگی بین تعداد ریشه و طول ریشه بخصوص در تنش ۷۵٪ هرچند که غیر معنی‌داری بود ($r = -0.510$, $sig = 0.159$) ولی ممکن است در صورت استفاده از ارقام بیشتر یا ارقام با زمینه ژنتیکی متفاوت، نتایج معنی‌داری بدست آید و بنابراین امکان‌پذیر است. همبستگی بین تعداد ریشه بیشتر ممکن است چالش‌برانگیز باشد. نتایج رگرسیون نشان داد که در شرایط تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی بیان این ژن ۵۵/۶ درصد از تغییرات طول ریشه را توجیه کرد (جدول ۶). در شرایط تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی نیز بیان این ژن ۷۴/۶ درصد از تغییرات زاویه رشد ریشه را توجیه نمود (جدول ۷). جیا و همکاران (Jia *et al.*, 2019) با استفاده از یک مدل مخلوط، ۳ QTL عمده را که عمق سیستم ریشه‌ای، زاویه گسترش ریشه، طول ریشه پیدا نمودند که به ترتیب ۱۲/۴، ۱۸/۴ و ۲۲/۲ درصد از تغییرات فنوتیپی صفات فوق را توجیه نمودند. در برنج نیز بیان ژن *DROI* حدود ۶۶/۶ درصد از کل تغییرات فنوتیپی ریشه‌زایی عمیق را توضیح داد و QTL اصلی مؤثر بر این صفت بود (Uga *et al.*, 2011).

مقایسات میانگین: نتایج نشان داد که طول ریشه از ۲۲/۴ تا ۳۰/۸ سانتی‌متر متغیر بود. بطوریکه رقم آرتان دارای بیشترین طول ریشه بود، ۸ رقم دیگر (قافلان، آبیدر، نادر، انصار، سرارود ۱، دوبرینیا، سه‌سند و فصیح) در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند و رقم رادیکال کمترین طول ریشه را داشت. تعداد ریشه بذری ارقام از ۳/۳۹ تا ۴/۳۳ متغیر بود که ارقام دوبرینیا، رادیکال، سه‌سند، نادر و آبیدر دارای بیشترین تعداد ریشه بودند (جدول ۵). از لحاظ زاویه رشد ریشه، ارقام سرارود، آرتان، آبیدر، سه‌سند، فصیح و قافلان دارای عمودی‌ترین ریشه بودند. از لحاظ بیان ژن *HvDROI* در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی، ارقام آرتان، قافلان، نادر و سه‌سند دارای بیشترین بیان ارقام رادیکال، انصار، فصیح کاهش بیان نسبت به شرایط بدون تنش نشان دادند. در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی، رقم قافلان با اختلاف فاحشی بیشترین بیان را نشان داد و ارقام آرتان و دوبرینیا در رتبه بعد قرار گرفتند. در مقابل ارقام سه‌سند، فصیح، انصار و رادیکال کاهش بیان نسبت به شرایط بدون تنش نشان دادند (جدول ۵).

روابط بین صفات: نتایج همبستگی صفات نشان داد که میزان بیان ژن *HvDROI* در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی با طول ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد (جدول ۶). همانگونه که پراکنش ارقام نشان می‌دهد (شکل ۳) ارقام آرتان، نادر و قافلان با دارا بودن طول ریشه بالا از یک طرف و ارقام فصیح و رادیکال با طول ریشه پایین نقش مهمی در شکل‌گیری این رابطه داشته‌اند. در شرایط تنش خشکی ۷۵٪ ظرفیت زراعی بین بیان این ژن و زاویه رشد ریشه همبستگی متوسط ولی غیر معنی‌دار مشاهده گردید ($r = 0.546$). در شرایط تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی، میزان بیان ژن *HvDROI* با زاویه رشد ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. در گیاه آرابیدوپس وقتی ژن خارجی شبیه *DROI* بیان گردید، زاویه رشد ریشه عمودی شد در حالیکه

جدول ۴- میانگین سطوح تنش در صفات معماری ریشه ارقام جو مورد آزمایش

Table4- Mean of stress levels in root architectural traits of tested barley cultivars

<i>HvDRO1</i> بیان ژن	طول ریشه	تعداد ریشه	زاویه رشد ریشه (درجه)	تیمار
<i>HvDRO1</i> expression	Root length	Root numbers	Root growth angle	Treatment
---	23.4c	3.78ab	74.8a	بدون تنش (Non-stress)
1.49b	26.7b	4.00a	70.7b	٪۷۵ ظرفیت زراعی (%75 FC)
2.30a	28.7a	3.60b	73.2ab	٪۵۰ ظرفیت زراعی (%50 FC)

حروف مشترک در هر ستون نمایشگر عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات معماری ریشه و بیان ژن *HvDRO1* در ارقام جو مورد مطالعه

Table5- Mean comparison of root traits and *HvDRO1* expression in tested barley cultivars

<i>HvDRO1</i> بیان ژن		طول ریشه	تعداد ریشه	زاویه رشد ریشه	واریته یا رقم
<i>HvDRO1</i> gene expression		Root length	Root numbers	Root angle	Cultivar
%50 FC	%75 FC	--	--	--	--
0.212d	1.55abc	25.1b	4.00abc	74.6ab	سهند (Sahand)
4.530b	3.46a	30.8a	3.67bc	75.0ab	آرتان (Artan)
3.141bc	1.31bc	25.6b	4.33a	70.3bcd	دوبرینیا (Dobrinia)
0.578d	0.356c	26.7b	3.67bc	70.9bcd	انصار (Ansar)
0.939d	0.127c	22.4c	4.28ab	69.5cd	رادیکال (Radical)
0.303d	0.487c	24.9bc	3.50c	74.3abc	فصیح (Fasih)
1.533cd	2.59ab	26.8b	3.78abc	69.4d	نادر (Nader)
9.288a	2.73ab	27.0b	3.39c	72.9a-d	قافلان (Gaflan)
0.207d	1.27bc	26.7b	3.61c	76.8a	سرارود (Sararood)
*	*	26.9b	3.72abc	74.8ab	آبیدر (Adidar)
2.30	1.49	26.3	3.80	72.9	میانگین (Mean)

* cDNA - آیدر موقع تهیه از بین رفت و بیان ژن در این رقم اندازه گیری نگردید

* Abidar cDNA were lost and were not measured

جدول ۶- ضریب همبستگی صفات در دو شرایط تنش ۵۷٪ و ۵۰٪ ظرفیت زراعی

Table6-Correlation coefficients of traits under 75% and 50% of field capacity stresses

صفات	٪۷۵FC			٪۵۰FC		
	طول ریشه	تعداد ریشه	زاویه رشد	طول ریشه	تعداد ریشه	زاویه رشد
<i>HvDROI</i>	0.746*	-0.413	0.546	0.444	-0.175	0.857**
طول ریشه	1	-0.510	0.376	1	-0.219	0.353
تعداد ریشه		1	-0.062		1	-0.109

جدول ۷- ضرایب رگرسیون ناقص در شرایط تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی به روش گام به گام (طول ریشه متغیر وابسته).

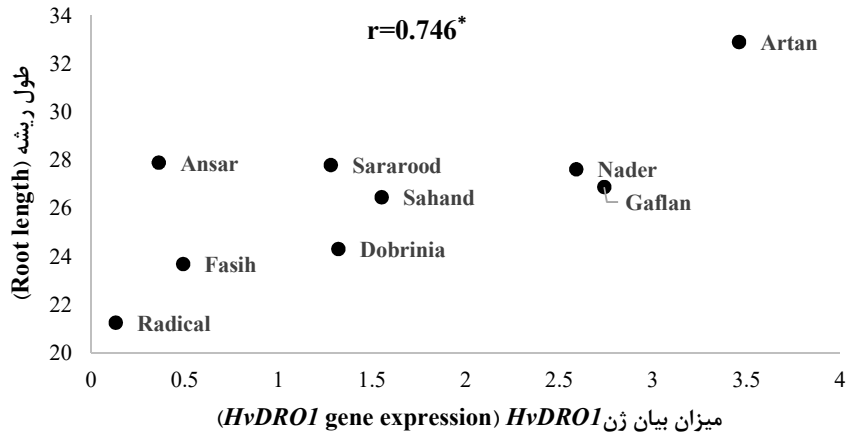
Table7- Partial regression coefficients under 75% of field capacity stress by stepwise method (root length as dependent variable).

	ضریب رگرسیون ناقص	انحراف استاندارد	ضریب رگرسیون ناقص استاندارد	t
عرض از مبدا	23.303	1.342		17.360**
<i>HvDROI</i>	2.098	0.708	0.746	2.962*

جدول ۸- ضرایب رگرسیون ناقص در شرایط تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی به روش گام به گام (زاویه ریشه متغیر وابسته).

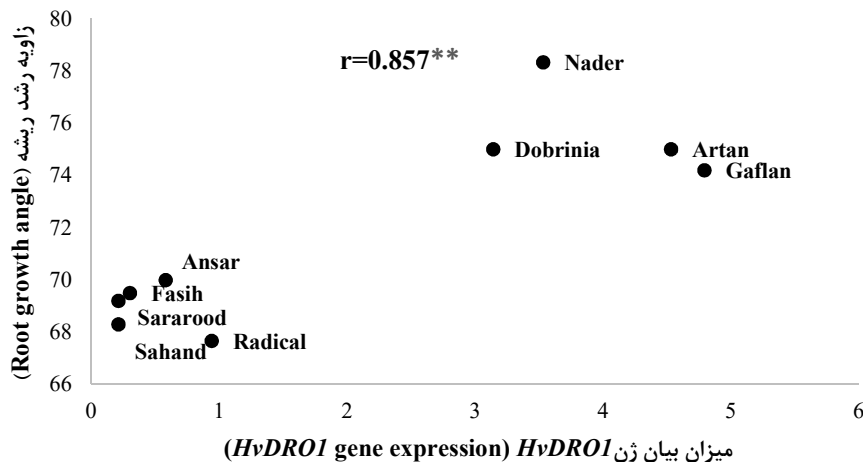
Table8- Partial regression coefficients under 50% of field capacity stress by stepwise method (root angle as dependent variable).

	ضریب رگرسیون ناقص	انحراف استاندارد	ضریب رگرسیون ناقص استاندارد	t
عرض از مبدا	68.551	1.031		66.509**
<i>HvDROI</i>	1.658	0.377	0.857	4.397**



شکل ۳- پراکنش ارقام مورد آزمایش جو از لحاظ بیان ژن *HvDROI* و طول ریشه در تنش ۷۵٪ ظرفیت زراعی

Figure3- Distribution of tested barley varieties in terms of *HvDROI* gene expression and root length under 75% of field capacity stress



شکل ۴- پراکنش ارقام مورد آزمایش جو از لحاظ بیان ژن $HvDRO1$ و زاویه رشد ریشه در تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی
Figure4- Distribution of tested barley varieties in terms of $HvDRO1$ gene expression and root angle under 50% of field capacity stress

بحث

راستا، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در تمام صفات ریشه‌ای و تظاهر ژن $HvDRO1$ در بین ارقام اختلاف معنی‌دار وجود دارد. که از این تنوع ژنتیکی می‌توان در برنامه‌های اصلاحی سود جست. مطالعات متعددی نشان می‌دهند که ویژگی‌های ریشه مانند عمق نفوذ ریشه، حجم ریشه و وزن خشک ریشه از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند و به راحتی به گزینش پاسخ می‌دهند (Manschadi *et al.*, 2010; Jia *et al.*, 2016; Robinson *et al.*, 2016; *al.*, 2019). همانگونه که نتایج نشان داد، تنش خشکی باعث افزایش طول ریشه شد. افزایش طول ریشه با افزایش شدت تنش، یک عکس‌العمل فیزیولوژی طبیعی توسط گیاه در برابر تنش خشکی می‌باشد که طی آن گیاه برای دستیابی به منابع آب نیاز به افزایش طول ریشه دارد (Zhang *et al.*, 2022). در این فرآیند غلظت اسید آبسزیک در ریشه‌های گیاهان تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد (Zhang *et al.*, 2022) و افزایش اسید آبسزیک در ریشه‌ها تحت تنش خشکی افزایش طول ریشه‌های اولیه را تحریک می‌نماید (Xu *et al.*, 2013). مطالعات جاجرمی (۲۰۱۳) نیز نشان داد که

مطالعات در مورد صفات ریشه در مرحله گیاهچه‌ای در گندم، برنج و سورگوم، زاویه ریشه باریک و تعداد ریشه زیاد را به عنوان پیش‌نیاز برای ریشه‌زایی عمیق و انشعاب بیشتر در عمق خاک شناسایی کرده‌اند. این صفات به ویژه در شرایط خشکی انتهایی و در شرایط وجود ذخیره آب در عمق، مفید گزارش شده‌اند (Uga *et al.*, 2011; Mace *et al.*, 2012). بر اساس این روند در بین غلات، چنین معماری سیستم ریشه ممکن است در ارقام جو نیز مطلوب باشد. از آنجا که معماری ریشه به طور چشمگیری در درون گونه‌ها متفاوت است، درک ژنتیکی که این تنوع را هدایت می‌کند، می‌تواند امکان انتخاب سیستم‌های ریشه‌ای را فراهم کند (Lynch *et al.*, 2014). در بین ژن‌های درگیر در معماری ریشه، ژن‌های شبیه $DRO1$ احتمالاً نقش بسیار مهمی در اصلاح عملکرد جو تحت تنش خشکی داشته باشند، اما برای استفاده از آن در برنامه‌های جدید اصلاحی، بررسی تظاهر آن و اثر متقابل آن با سایر ژن‌های درگیر در معماری ریشه باید انجام گیرد (Ashraf *et al.*, 2019). در همین

واکنش آنها به تغییرات رطوبتی، از طریق رشد سریع ریشه‌های آنها به طرف منبع رطوبت است. جاجرمی (Jajarmi, 2013) عقیده دارد که ارقام دارای طول ریشه‌چه بیشتر دارای درصد و سرعت جوانه‌زنی بیشتری هستند که بیانگر آن است که این صفت برای تعیین ارقام مقاوم به خشکی دارای اهمیت می‌باشد. در تحقیق عبدی و همکاران (۲۰۱۵) ارقامی که دارای بیشترین تعداد ریشه‌های جنینی در زمان جوانه‌زنی بودند، بیشترین عملکرد دانه را داشتند و مشخص شد که سیستم ریشه گسترده در مرحله جوانه‌زنی با تحمل به خشکی در مرحله بلوغ ارتباط دارد. عدم وجود همبستگی بین تعداد ریشه و زاویه رشد ریشه امکان‌پذیر است زیرا برای هر دو صفت را نشان می‌دهد که وجود ارقامی مانند نادر و دوبرینیا با زاویه ریشه عمودی و تعداد بالای تعداد ریشه گواه این امر است. نتایج تحقیقات اوگا و همکاران (Uga et al., 2013) نیز نشان داد که ژن *DROI* اثر پلیوتروپی بر روی وزن ساقه و طول ریشه ندارد چراکه فقط زاویه رشد ریشه را تغییر می‌دهد. همبستگی مثبت بسیار بالا بین بیان ژن *HvDROI* و زاویه رشد ریشه در شرایط تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی، امکان استفاده از این ژن را برای گزینش زاویه رشد ریشه مطرح می‌سازد. متا آنالیز و آنالیز ترکیب آلی نشان داد که عمق سیستم ریشه و زاویه پخش ریشه از ویژگی‌های کاندید ارزشمندی برای بهبود عملکرد دانه با هر می کردن آل‌های مطلوب هستند (Jia et al., 2019). یافتن ژن‌هایی که میزان تظاهر آنها با صفات ریشه‌ای در ارتباط است، ما را از اندازه‌گیری مستقیم ریشه بی‌نیاز می‌کند و همچنین امکان اصلاح صفات مزبور از طریق تغییر بیان ژن‌های مورد نظر فراهم می‌کند. در تایید نتایج این تحقیق، اشرف و همکاران (Ashraf et al., 2019) برای پرده برداری از مکانیسم مولکولی ژن مشابه *DROI* (که زاویه رشد ریشه را در برنج کنترل می‌کند و منجر به تولید عملکرد بالا تحت تنش می‌شود) ۲ واریته جو (Scarlet و ISR42-8) و ۲ واریته گندم (NARC

در پتانسیل اسمزی پایین‌تر، گیاهچه‌ها دارای ریشه‌چه نازک و طویل‌تر نسبت به شاهد هستند. طبق نظر علیقلی‌زاده مقدم و همکاران (Aligholizadeh Moghaddam et al., 2021) افزایش طول ریشه‌چه همزمان با کاهش وزن ریشه‌چه تحت تنش اسمزی، نشان دهنده اینست که در اثر تنش، ریشه‌ها طویل‌تر و باریک‌تر شده‌اند. چند مطالعه دیگر نیز نشان داده‌اند که گیاهان در شرایط خشکی توزیع ریشه را برای دسترسی به آب موجود در لایه‌های مختلف خاک تنظیم می‌کنند (Morris et al., 2017; Song et al., 2020; Shabbir et al., 2021). در حالیکه مطالعات ژو و همکاران (Zhou et al., 2018) نشان دادند که خشکی به طور قابل توجهی طول ریشه و تراکم طول ریشه را کاهش داده، در حالی که باعث افزایش قطر ریشه می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که تعداد ریشه فقط تحت تنش ۵۰٪ ظرفیت زراعی دچار کاهش جزئی شد. در تحقیق علیقلی‌زاده مقدم و همکاران (Aligholizadeh Moghaddam et al., 2021) نیز تعداد ریشه‌چه در مقایسه با وزن و طول ریشه‌چه کمترین حساسیت را به تنش اسمزی نشان داد. همانگونه که نتایج مقایسه میانگین نشان داد از لحاظ طول ریشه رقم آرتان و از لحاظ زاویه رشد ریشه، ارقام نادر، آرتان، دوبرینیا و قافلان عمودی‌ترین رشد ریشه و از لحاظ تعداد ریشه بذری ارقام دوبرینیا، رادیکال، سهند، نادر و آبیدر بیشترین تعداد را به خود اختصاص دادند. در غلات ترکیب زاویه ریشه و طول ریشه منطقه‌ای از خاک را که توسط ریشه مورد استفاده قرار می‌گیرد، تعیین می‌کند (Kou et al., 2022). تحت تنش خشکی، گیاهان مقاوم به خشکی ریشه‌های عمیق‌تر تولید کرده و از این طریق به لایه‌های خاک عمیق‌تر که هنوز مرطوبند دست می‌یابند (Rich and Watt, 2013). بنابراین ریشه‌دهی عمیق یکی از عوامل کلیدی در اجتناب از خشکی در گیاهان محسوب می‌شود (Kou et al., 2022). عبدی و همکاران (۲۰۱۵) اظهار نمودند که از خصوصیات مهم گیاهان زراعی قابلیت

(Manschadi *et al.* 2010) رابطه بین زاویه ریشه و عملکرد و به ویژه سهم آن در پایداری عملکرد تحت تنش غیر زنده را برجسته کرده است. بنابراین پیشنهاد شده است که همولوگ *DROI* در سایر تک لپه‌ها ممکن است برای سازگاری با خشکی مهم باشد (Uga *et al.* 2015). لذا تعیین سهم بیان این ژن در متحمل به خشکی ارقام جو ایرانی می‌تواند در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرد. همچنین با شناسایی نقش ژن‌های دیگر در زاویه و عمق ریشه و جمع کردن ژن‌های مطلوب در یک ژنوتیپ می‌توان گام مهمی در اصلاح تحمل به خشکی ارقام جو برداشت.

قدردانی

مولفین این مقاله وظیفه خود می‌دانند که از آقای دکتر فرهاد آهک‌پز به خاطر تامین بذور ارقام مورد آزمایش و آقای دکتر محمد ضعیفی‌زاده به خاطر مساعدت در انجام روش Real Time PCR تشکر و قدردانی نمایند.

Galaxy و 2009) را انتخاب کردند. در برنج الل *DROI-kp* تحت تنش خشکی تعداد دانه بیشتری تولید کرده و تحمل به تنش خشکی بالا و عملکرد بالایی نشان داد. در شرایط بدون تنش این گیاهان کاهش عملکردی نداشتند چراکه *DROI* فقط زاویه رویش ریشه را تغییر داده و بر بیوماس ریشه یا اندام هوایی تاثیری نداشت. این خاصیت *DROI* برای زارعینی که می‌خواهند هم در شرایط تنش‌دار و هم بدون تنش عملکرد مناسبی را داشته باشند بسیار ارزشمند است (Uga *et al.*, 2013). نکته مهم این است که در مراکز تحقیقاتی که امکانات RealTime PCR وجود ندارد، تعیین فنوتیپ ریشه با ریزوترون شیشه‌ای در کمتر از هفت روز کامل می‌شود، بنابراین ظرفیت توان بالای سیستم ریزوترون را در فنوتیپینگ برجسته می‌کند، بخصوص که مطالعه ناز و همکاران (Naz *et al.* 2014) وراثت پذیری بالا تا کافی را برای هر یک از صفات ریشه بررسی شده گزارش کرده است. یافته‌ها در ذرت (Ali *et al.* 2015)، برنج (Uga *et al.* 2013)، سورگوم (Mace *et al.* 2012) و گندم

منابع

- Abdi H, Bihanta MR, Aziz Ov E, Choukan R. 2015. Investigation effect of drought stress level of PEG 6000 on seed germination principle and its relation with drought tolerance index in promising lines and cultivares of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Iranian journal of field crops research 12(4): 582- 596
- Ali ML, Luetchens J, Nascimento J, Shaver TM, Kruger GR, Lorenz AJ. 2015. Genetic variation in seminal and nodal root angle and their association with grain yield of maize under water-stressed field conditions. Plant and Soil 397(1): 213–225
- Aligholizadeh Moghaddam P, Ranjbar GA, Najafi-Zarrini H, Shahbazi H. 2021. Effect of water stress on germination and seedling characteristics of some bread wheat cultivars (*Triticum aestivum*). Iranian Journal Seed Research 7(2): 151-170
- Ashraf A, Rehman O, Muzammil S, Le ´ on J, Naz AA, Rasool F, Muhammad Ali1 G, Zafar Y, Ramzan Khan M. 2019. Evolution of Deeper Rooting 1-like homeologs in wheat entails the C-terminus mutations as well as gain and loss of auxin response elements. PLOS ONE 1-28
- Grossnicle SC. 2005. Importance of root growth in overcoming planting stress. New Forestes 30: 273-294
- Jajarmi V. 2013. Effect of drought stress on germination indices in seven wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding 8(4): 183-192 (In Persian)
- Jia Zh, Liu Y, Gruber BD, Neumann K, Kilian B, Graner A, von Wirén N. 2019. Genetic dissection of root system architectural traits in spring barley. Frontiers in Plant Science 10: 1-14
- Kou X, Han W, Kang J. 2022. Responses of root system architecture to water stress at multiple levels: A meta-analysis of trials under controlled conditions. Frontiers in Plant Science 13:1085409

- Kuijken RCP, Van Eeuwijk FA, Marcelis, LFM, Bouwmeester HJ. 2015. Root phenotyping: from component trait in the lab to breeding. *Journal of Experimental Botany* 66(18): 5389–5401
- Mace ES, Singh V, Van Oosterom EJ, Hammer GL, Hunt CH, Jordan DR. 2012. QTL for nodal root angle in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) co-locate with QTL for traits associated with drought adaptation. *Theoretical and Applied Genetics* 124: 97-109
- Manschadi AM, Christopher JT, Hammer GL, Devoil P. 2010. Experimental and modelling studies of drought adaptive root architectural traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biosystems* 144: 458-462
- Morris EC, Griffiths M, Golebiowska A, Mairhofer S, Burr-Hersey J, Goh T. 2017. Shaping 3D root system architecture. *Current Biology* 27 (17): 919–930
- Nakano Y, Konishi J, Ito H, Tanaka T, Seki M, Aoki H and Nagamine T. 2022. Polymorphism of *HvDRO1* and *HvqSOR1* associated with root growth angle in barley accessions. *Plant Root* 16:1-10.
- Naz AA, Arifuzzaman M, Muzammil S, Pillen K, Leon J. 2014. Wild barley introgression lines revealed novel QTL alleles for root and related shoot traits in the cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genetics* 15:107
- Lynch JP, Chimungu JG, Brown KM. 2014. Root anatomical phenes associated with water acquisition from drying soil: targets for crop improvement. *Journal of Experimental Botany* 65: 6155-6166
- Rich SM, Watt M. 2013. Soil conditions and cereal root system architecture: review and considerations for linking Darwin and weaver. *Journal of Experimental Botany* 64(5): 1193–1208
- Richard CA, Hickey LT, Fletcher S, Jennings R, Chenu K, Christopher JJ. 2015. High-throughput phenotyping of seminal root traits in wheat. *Plant Methods* 11:13
- Robinson H, Hickey L, Richard C, Mace E, Kelly A, Borrell A, Franckowiak J, Fox G. 2016. Genomic regions influencing seminal root traits in barley. *The plant genome* 9(1): 1-13
- Sayed M, Hamada A, Léon J, Naz A. 2017. Genetic mapping reveals novel exotic QTL alleles for seminal root architecture in barley advanced backcross double haploid population. *Euphytica* 213: 2
- Shabbir A, Mao H, Ullah I, Buttar NA, Ajmal M, Solangi KA. 2021. Improving water use efficiency by optimizing the root distribution patterns under varying drip emitter density and drought stress for cherry tomato. *Agronomy-Basel* 11(1): 3
- Song X, Gao X, Wu P, Zhao X, Zhang W, Zou Y. 2020. Drought responses of profile plant-available water and fine-root distributions in apple (*Malus pumila* mill.) orchards in a loessial, semi-arid, hilly area of China. *Science of Total Environment* 723: 137739
- Uga Y, Okuno K, Yano M. 2011. *Dro1*, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. *Journal of Experimental Botany* 62: 2485-2494
- Uga Y, Sugimoto K, Ogawa S, Rane J, Ishitani M, Hara N, 2013. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING1 increases rice yield under drought conditions. *Nature Genetics* 45:1097–110
- Uga Y, Kitomi Y, Ishikawa S, Yano M. 2015. Genetic improvement for root growth angle to enhance crop production. *Breeding Science* 65: 111–119
- Xu W, Jia L, Shi W, Liang J, Zhou F, Li Q, Zhang J. 2013. Abscisic acid accumulation modulates auxin transport in the root tip to enhance proton secretion for maintaining root growth under moderate water stress. *New Phytology* 197(1): 139-150
- Yuan JS, Wang D, Stewart CNJ. 2008. Statistical methods for efficiency adjusted real- time PCR quantification. *Biotechnology Journal* 3(1): 112-23
- Zhang Q, Yuan W, Wang Q, Cao Y, Xu F, Dodd IC. 2022. ABA regulation of root growth during soil drying and recovery can involve auxin response. *Plant Cell Environment* 45(3): 871–883
- Zhou G, Zhou X, Nie Y, Bai SH, Zhou L, Shao J. 2018. Drought induced changes in root biomass largely result from altered root morphological traits: Evidence from a synthesis of global field trials. *Plant Cell Environment* 41(11): 2589–2599



DOI: 10.22092/idaj.2024.364117.419

The effect of HvDRO1 gene expression on the root system architecture of some barley cultivars under water deficit stress in rhizotron environment

Aylar Saadat Sattarzadeh¹, Hossein Shahbazi^{2*}, Varham Rashidi³, Alireza Ahmadzadeh³, Farhad Farahvash³

1- PhD Student, Department of Agronomy and plant breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2- Agri Biotech Research Center, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran.

3- Department of Agronomy and plant breeding, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The root system architecture is one of the basic characteristics of barley cultivars in drought stress tolerance. So that the genotypes with more vertical roots will have more tolerance to drought. Therefore, root growth angle is a suitable trait to improve drought tolerance in barley. For this purpose, to investigate the effect of HvDRO1 gene expression on root system architecture of barley cultivars under water stress, an experiment was conducted using glass rhizotrons.

Materials & Methods: The experiment was conducted as a factorial design, in which the first factor included 10 barley cultivars and the second factor included drought stress (nonstress, 75% FC and 50% FC). The experiment was carried out in 2022 at Agricultural Biotechnology Research Center of Islamic Azad University, Ardabil. After the root growth, the root numbers, length and angle of the roots were measured. Then, HvDRO1 gene expression was measured by real-time PCR.

Research findings: The results of ANOVA showed that there are significant differences in all the traits which indicates the existence of genetic diversity among the tested cultivars. The effect of drought stress was significant on all traits, so that caused an increase in root length and HvDRO1 gene expression in both stress levels (75% FC and 50% FC), a decrease in the root numbers and an increase in the root angle under the 50% FC. Mean comparisons showed that the root length ranged from 22.4 to 30.8 cm, so that Artan had the longest root and 8 other varieties (Gaflan, Abidar, Nader, Ansar, Sararoud 1, Dobrinia, Sahand and Fasih) were ranked next. The seminal root number of cultivars ranged from 3.39 to 4.33, so that Dobrinia, Radical, Sahand, Nader and Abidar had the highest root numbers. The root growth angle varied from 69.4 to 76.8 degrees, so that cultivars Sararoud, Artan, Abider, Sahand, Fasih and Gafalan had the most vertical roots. In terms of HvDRO1 gene expression, under 75% FC, Artan, Gaflan, Nader and Sahand, and under 50% FC, Gaflan had the highest amount. The results of correlations showed that the expression rate of HvDRO1 gene showed a positive correlation with the root length under 75% FC ($r=0.74^*$). Under 50% FC, the expression rate of HvDRO1 gene had not significant correlation with root length, but showed a positive correlation with the root angle ($r=0.85^{**}$). Regression analysis showed that under 75% FC, the expression of this gene explained 55.6% of the changes in root length and under 50% FC, it explained 74.6% of the changes in the root angle, suggesting the possibility of using the HvDRO1 gene expression to select the root system architecture in barley.

Key words: Gene expression, Deeper rooting, Root system architecture, water deficit stress

* Corresponding author: e.zeidali@ilam.ac.ir

Submit date: 2023/11/14 Accept date: 2024/09/14

