

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/idaj.2022.359560.378

تجزیه ارتباطی سراسر ژنوم برای صفات آگرونومیک گندم تحت شرایط آبیاری تکمیلی و دیم

حسین حاتم‌زاده^{۱*}، رضا محمدی^۲، ایرج برنوسی^۳، صابر گلکاری^۴، سوک وایندر سینگ^۵

۱- ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم شیروان، مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان شمالی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، شیروان، ایران

۲- موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور - واحد سرارود، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

۳- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- بخش زیست شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۵- دانشکده کشاورزی، دانشگاه واشنگتن، واشنگتن، آمریکا

چکیده مبسوط

مقدمه: مطالعات پویا گسترده ژنوم (GWAS¹) و نقشه‌یابی مکان ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTL²) دو راه‌کار اصلی هستند که به طور خیلی دقیق به تشریح مبانی ژنتیکی صفات پیچیده می‌پردازند. از این روی شناسایی صفات مهم آگرونومی و کاربرد روش‌های سودبخش به‌زراعی و به‌نژادی در دست‌یابی به عملکرد بالا می‌تواند نتیجه بخش باشد. در این تحقیق به منظور اصلاح برای تحمل به خشکی در گندم به تعیین ارتباطات نشانگر صفت در سراسر ژنوم برای صفات آگرونومیک کلیدی در گندم، پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها: ۲۴۹ توده بومی گندم نان از سراسر ایران گردآوری و در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم به صورت مشاهده‌ای در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم (سرارود کرمانشاه) مورد مقایسه قرار گرفتند. در فصل رشد و پس از برداشت داده‌های مربوط به صفات فنولوژیک، مورفولوژیک و فیزیولوژیک، یادداشت برداری‌های لازم انجام شد. داده‌های آزمایش بر اساس تجزیه واریانس مرکب نامتعادل آنالیز شدند. DNA با روش سینگ و بودن استخراج گردید. در نهایت پس از فیلتر نمودن تعداد ۱۸۹۰ نشانگر SNP بکار برده شد. تجزیه ارتباط با نرم‌افزار TASSEL5 استفاده شد. نمودارهای منهن با نرم‌افزار R رسم گردیدند.

یافته‌های پژوهشی: تجزیه ارتباط با روش MLM، تعداد ۶۴ و ۶۱ عدد QTL را به ترتیب در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم شناسایی نمود. نتایج نشان داد عدم تعادل پیوستگی بین کروموزوم‌ها متغییر است و با افزایش فاصله ژنتیکی، عدم تعادل پیوستگی کاهش می‌یابد. بعضی صفات مانند روز تا رسیدن و دوره پرشدن دانه، ارتفاع بوته و طول پدانکل، تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه، وزن هزار دانه و تعداد روز تا رسیدن توسط QTL‌های مشترکی کنترل می‌شدند که دلیلی بر وجود اثرات پلیوتروپیک یک ژن می‌باشد و می‌توان گزینش هم‌زمان را برای آن صفات انجام داد. نشانگرهای شناسایی شده در این مطالعه منابع ژنومیک سودبخشی هستند.

واژه‌های کلیدی: گندم، تنش خشکی، تجزیه ارتباط، SNP

* نگارنده مسئول: hosseinhatamzadeh@gmail.com تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۳

¹ Genome wide association studies

² Quantitative trait loci

مقدمه

می‌تواند در شناسایی نواحی ژنومیک تاثیرگذار از طریق تجزیه ارتباطی نشانگر- صفت نقش داشته و تجزیه مکان‌یابی ارتباطی را امکان‌پذیر سازد. تجزیه لینکاژی ارتباطات بین مجموعه‌های ژنی را نشان می‌دهد و درک بهتری از اثر رانش ژنتیکی، گزینش، جهش، نوترکیبی، مکان‌های صفات کمی، ژن‌های پیوسته یا جریان ژنی در جمعیت تحت مطالعه می‌دهد (Xu, Baird, 2015; Xu, 2010). دامنه LD گندم به عنوان یک گونه خودگشن بیش از سه برابر دامنه LD ذرت به عنوان یک گونه دگرگشن است (Bresghehlo and Sorrells, 2006). شناسایی نشانگرهای ژنتیکی قابل تشخیص، ژن‌های کاندید و QTL‌های مرتبط با صفات هدف، گزینش به کمک نشانگر و پل تلاقی صفت را تسهیل خواهند کرد (Berkman et al., 2012). یک مطالعه بر روی نقشه‌یابی ارتباطی با استفاده از ۱۸۶۳ نشانگرهای^۵ DArT انجام گرفت تا نشانگرهای مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد تحت رژیم‌های رطوبتی متضاد در منطقه USmid-west شناسایی شود (Edae et al., 2014). در مطالعه‌ای که بر روی ۱۵۰ لاین گندم دوروم از سراسر جهان انجام گردید، ۱۳۶۶ نشانگر SNP بکار گرفته شد و ارتباط نشانگرهای SNP با ۱۰ صفت زراعی به مدت چهار سال با مدل خطی مخلوط^۶ (MLM) اندازه‌گیری شد. بعضی نشانگرها با یک صفت و بعضی از آن‌ها با چندین صفت مرتبط بودند. ارتباطات نشانگرهای SNP برای صفات مشاهده شده در نواحی کروموزومی خاص به طور عمده در کروموزوم‌های 2A ، 5A ، 6A ، 7A ، 1B و 6B گروه‌بندی گردیدند. هم‌چنین این مطالعه نشان داد که نقشه‌یابی ارتباطی می‌تواند تجزیه‌های پیشین QTL را تکمیل و تقویت نماید و اطلاعات بیشتری برای گزینش به کمک نشانگر را فراهم آورد (Hu et al., 2015). در آزمایش‌هایی جداگانه‌ای چهار QTL برای عملکرد دانه شناسایی شد که دو QTL بر روی کروموزوم 4A جای گرفتند

گندم یکی از مهمترین و ضروری‌ترین گیاهان در تامین رژیم خوراکی سالم در جهان می‌باشد که نشاسته، پروتئین، فیبر، ویتامین ب، روی، کلسیم و آهن را فراهم می‌نماید (Mobley, 2013). محصول و راندمان گندم در اکثر نقاط جهان تحت تاثیر خشکی و دمای بالا قرار می‌گیرد که سبب کاهش در میزان تولید می‌گردد (Asseng et al., 2015; Lobell et al., 2011). اصلاح برای تحمل به خشکی یکی از اجزای کلیدی است که تولید پایدار گندم را تقویت می‌کند. مطالعاتی توسط پژوهشگران به منظور درک و کالبدشکافی اساس ژنتیکی صفات پیچیده از قبیل تحمل به خشکی از طریق تجزیه ارتباط نواحی ژنومیک و صفات آگرونومیک صورت گرفته است (Langridge and Reynolds, 2015; Tuberosa and Salvi, 2006). مطالعات ارتباطی سراسر ژنوم^۱ (GWAS) فهم و موشکافی اساس ژنتیکی ژن‌های کنترل کننده صفات اقتصادی پیچیده مانند تحمل به خشکی را تسهیل می‌کند. تجزیه ارتباطی سراسر ژنوم بر ارتباطات نشانگر صفت^۲ (MTA) تکیه دارد که شامل نشانگرهای نماینده و جمعیت‌های متنوع ژنتیکی مانند لاین‌های اینبرد برتر و ارقام اصلاح شده است. هدف مطالعات ارتباطی سراسر ژنوم (GWAS) تشخیص مناطق ژنومیکی می‌باشد که می‌توانند یا نشانگرها یا ژن‌ها یا QTL‌های مرتبط با صفات کلیدی زراعی و موفولوژیکی باشند یا برای اصلاح به کمک نشانگر، کشف ژن یا پل تلاقی ژنی^۳ باشند (Edae et al., 2014). در اغلب منابع ژنتیکی آگاهی از درک ساختار جمعیت و مقدار عدم تعادل لینکاژی^۴ (LD) موجود، پیش‌نیازی مهم هستند تا ترکیب ژنتیکی و ژنومیک جمعیت‌ها استنباط شده و بتوان پیش‌بینی صفات مورد نظر را در طی گزینش انجام داد. عدم تعادل پیوستگی در مجموعه ژنتیکی تحت مطالعه، به عنوان یک پیش‌بینی کننده با توان بالا

⁴ Linkage disequilibrium (LD)

⁵ Diversity Arrays Technology (DArT)

⁶ Mixed Linear Model (MLM)

¹ Genome wide association studies (GWAS)

² Marker trait association (MTS)

³ Gene Introgression

اوایل سنبله‌دهی و اواسط رسیدن دانه انجام شد) و دیم به صورت مشاهده‌ای در سال ۹۶-۱۳۹۵ پیاده شد. کلکسیون جمع‌آوری شده در ایستگاه تحقیقات کشاورزی سرارود کرمانشاه (34° 19'N, 47° 17'E;) 1351 m a.s.l) با کمترین و بیشترین دما سالیانه °C ۱۵- و °C ۴۵ و میزان بارش ۴۲۵ میلیمتر ارزیابی شدند. جمعیت تحت مطالعه برای صفات تعداد روز تا خوشه شکم^۲، تعداد روز تا سنبله‌دهی^۳، تعداد روز تا پرچم-دهی^۴، تعداد روز تا رسیدن^۵، دوره پر شدن دانه^۶، ارتفاع بوته^۷، طول پدانکل^۸، طول برگ پرچم^۹، طول سنبله^{۱۰}، محتوای آب نسبی^{۱۱}، خوانش SPAD^{۱۲} (محتوای کلروفیل II)، تعداد دانه در هر سنبله^{۱۳}، وزن هزار دانه^{۱۴}، عملکرد دانه^{۱۵} و شاخص برداشت^{۱۶} براساس دفترچه‌ی راهنمای اصلاح فیزیولوژیکی II برای ثبت فنوتیپی گندم فنوتیپ‌سنجی شدند (Pask et al., 2012). پس از تایید یکنواختی خطاهای آزمایشی با آزمون بارتلت^{۱۷} (Bartlett, 1937)، داده‌های آزمایش مشاهده‌ای بر اساس تجزیه واریانس مرکب نامتعادل آنالیز شدند (Hatamzadeh et al., 2022) و واریانس ژنتیکی بر اساس امیدهای ریاضی به دست آمد و واریانس فنوتیپی بعد از برآورد واریانس ژنتیکی، در واحد تیمار محاسبه شد. ضرایب تنوع ژنتیکی و فنوتیپی از نسبت انحراف معیار به میانگین تعیین گردید. سپس درجه تبیین ژنتیکی یا وارثت پذیری عمومی در مفهوم عام^{۱۸} h^2_b برآورد گردید (Valizadeh and Moghaddam, 1998).

استخراج DNA و ژنوتیپ سنجی بوسیله توالی-یابی: DNA با روش سینگ و بودن (Singh and

(Pinto et al., 2010) و دو QTL دیگر به ترتیب بر روی کروموزوم‌های 3B (Shukla et al., 2015) و 7A (Quarrie et al., 2006) قرار گرفتند. در پژوهشی که بر روی لاین‌های اینبرد نوترکیب در چهار محیط انجام شد، هفت QTL برای طول سنبله شناسایی گردید که دو QTL واقع در کروموزوم‌های 1A و 1D در همه محیط‌ها پایدار دیده شدند (El-Feki, 2010). در آزمایشی حدود ۸۰۰ عدد QTL شناسایی شدند که با صفات فیزیولوژیکی مرتبط با خشکی، ارتباط داشتند. اما ۶۸ عدد QTLها یعنی ۹٪ آن‌ها جزو QTL های اصلی بودند که بیش از ۲۰٪ تنوع فنوتیپی را نشان دادند که بعضی از آن‌ها پایدار بودند (Gupta et al., 2017). در تحقیقی برای صفت فیزیولوژی خوانش SPAD یک QTL به نام *Qchl.ksu-3 B* گزارش گردید (Kumar et al., 2012). تعداد بسیار زیادی نشانگر، ژن و QTL مرتبط با چندین صفت پلی‌ژنیک در ۲۱ کروموزوم گندم نان نقشه‌یابی شده‌اند (Edae et al., 2010; Kuchel et al., 2007; Tsilo et al., 2014). این منابع ژنومیک برای درک مکانیسم ژنتیکی تحمل به خشکی و دیگر صفات اقتصادی موجود در گیاهان پلی-پلوئید پیچیده مانند گندم، ضروری و حیاتی هستند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و فنوتیپ‌سنجی: کلکسیونی از ۲۴۹ توده بومی گندم ایران از شش خاستگاه جغرافیایی (Hatamzadeh et al., 2022) از مرکز بین‌المللی اصلاح گندم و ذرت^۱ (CIMMYT) جمع‌آوری شد. آزمایش تحت شرایط آبیاری تکمیلی (آبیاری دوبار در

¹⁰ Spike length (SL)

¹¹ Relative water content (RWC)

¹² Chlorophyll content (SPAD reading)

¹³ Number of seed per spike (NSPS)

¹⁴ 1000 kernel weight (TKW)

¹⁵ Grain yield (GY)

¹⁶ Harvest index (HI)

¹⁷ Bartlett's test

¹⁸ Broad Sense Heritability (h^2_b)

¹ International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT)

² Days to booting (DTB)

³ Days to heading (DTH)

⁴ Days to anthesis (DTA)

⁵ Days to maturity (DTM)

⁶ Grain filling period (GFP)

⁷ Plant height (PH)

⁸ Peduncle length (PL)

⁹ Flag-leaf length (FL)

شدند. در کل ۳۷۶۲ عدد SNP شناسایی و ۱۸۹۰ عدد نشانگر SNP پس از فیلتر نمودن، بکار برده شد. تجزیه عدم تعادل پیوستگی و تجزیه ارتباط: برای تجزیه ارتباط صفات مورد مطالعه با نشانگرهای SNP از نرم افزار TASSEL5 استفاده شد. جهت جلوگیری از ارتباطات دروغین نشانگر- صفت^۱ از مدل خطی مخلوط (MLM)^۲ همراه با ماتریس خویشاوندی Kinship^۳ (K) و ماتریس ساختار جمعیت بر اساس سه مولفه اول تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) بر مبنای توجیه ۵۰ درصد تغییرات استفاده گردید (Bradbury et al., 2007). همچنین از صفات فنولوژیک (روز تا خوشه شکم، روز تا سنبله‌دهی، روز تا پرچم دهی، روز تا رسیدن) به عنوان کوواریت استفاده شد و پس از بررسی همه ترکیبات مختلف کوواریت‌ها با ماتریس‌های PCA و روابط خویشاوندی، بهترین ترکیبی که کمترین ساختار را دارا بود، انتخاب گردید. سپس براساس آن‌ها نمودارهای Q-Q برای بررسی کارایی تجزیه ارتباط و دقت QTL‌های شناسایی شده، رسم گردید. بطوریکه براساس نمودارهای Q-Q برای هر صفت، مقادیر p-value مشاهده شده و مورد انتظار، تطابق بالایی را نشان دادند. از دو معیار بون فرونی^۴ و میزان اکتشاف دروغین^۵ (Benjamini and Hochberg, 1995) FDR در سطح احتمال ۰.۵٪ به عنوان حد آستانه معنی‌داری استفاده گردید. جهت تعیین مکان احتمالی QTL‌های شناسایی شده بر روی کروموزوم‌های گندم، نمودار منهن با نرم‌افزار R رسم گردید.

نتایج و بحث

ارزیابی صفات فنوتیپی: تجزیه واریانس اختلافات معنی‌داری را در سطح احتمال ۰.۵٪ و ۰.۱٪ بین دو شرایط آبیاری تکمیلی و دیم و در بین شش خاستگاه جغرافیایی و اثرات متقابل آن‌ها، برای صفات تحت

(Bowden, 2011) از نمونه‌های بافت برگ فریز شده توسط ازت مایع، استخراج گردید. کمی سازی نمونه-های DNA با اسپکتروفتومتر (Thermo Fisher Nano-Drop ND8000 (Scientific Inc, USA) انجام شد. برای ثبت ژنوتیپی فن‌آوری آرایه‌های تنوع، مقدار ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ نانوگرم از DNA را به صورت سوسپانسیون در بافر TE با غلظت نهایی ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر حل شد و به شرکت Triticarte Pty. Ltd., Canberra, Australia برای بدست آوردن پروفایل ژنوم، فرستاده شد (Neumann et al., 2011). توالی‌های نشانگرهای DArT برای BLAST به عنوان query در سایت (<https://urgi.versailles.inra.fr/blast/blast.php>) IWGSC استفاده شدند تا کانتیگ‌ها بازیابی شوند. پنج عدد با بیشترین شباهت از نظر query، به عنوان query در BLASTX بکار برده شدند تا در پایگاه داده‌های NCBI که query‌هایی از گندم (*Triticum aestivum* L.)، براکیپودیوم (*Brachypodium distachyon* L.)، جو (*Hordeum vulgare* L.) و برنج (*Oryza sativa* L.) دارد، جستجو شود. لوکوس‌ها به صورت بود (۱) و نبود (۰) امتیاز بندی شدند. در کل مقدار فراخوانی برای جمعیت نزدیک به ۹۵٪ و مقادیر Q (برآوردهای کیفیت نشانگر) برای بیشتر نشانگرها بالای ۸۰٪ بود. SNP‌ها براساس مطالعات ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2015) و حسین و همکاران (Hussain et al., 2017) براساس معیارهای زیر فیلتر شدند: (۱) واریانت باید SNP‌های دو آلی باشند (۲) SNP‌ها با بیشتر از ۲۰٪ اطلاعات گمشده کنار گذاشته شدند (۳) ژنوتیپ‌ها با بیشتر از ۲۰٪ اطلاعات گمشده کنار گذاشته شدند (۴) نشانگرها با فراوانی آلی کمیاب (minor allele frequency) بیشتر از ۰/۰۵ نگه‌داشته

^۴ Bonferroni

^۵ Falls Discovery Rate (FDR)

^۱ False marker - trait associations

^۲ Mixed Linear Model (MLM)

^۳ Kinship Matrix (K)

برای ژنوم D در فاصله ۳۹ سانتی‌مورگان به کمتر از ۰/۱ رسیده بود یعنی همه نشانگرها در ژنوم D در داخل ۳۹ سانتی‌مورگان به عنوان یک QTL در نظر گرفته می‌شوند.

تجزیه ارتباط: با توجه به توزیع نرمال صفات آگرونومی و اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر تمامی صفات در سطح احتمال یک و پنج درصد (Hatamzadeh et al., 2022)، تجزیه ارتباط بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی برای صفات مورد مطالعه تحت شرایط آبیاری تکمیلی و دیم به طور جداگانه انجام گرفت. بر اساس تجزیه ارتباط برای صفات معنی‌دار در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم با استفاده از روش MLM (بر اساس نتایج پنج مولفه نخست PCA، روابط خویشاوندی و ترکیبات اختصاصی کوواریت‌ها)، تعداد ۶۴ و ۶۱ عدد QTL به ترتیب در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم با حد آستانه ۵% FDR شناسایی شدند (جدول ۴). مقدار $-\log_{10}(p \text{ value})$ بین ۱/۴۸ و ۴/۶۴ در شرایط آبیاری تکمیلی و بین ۲ و ۴/۷۸ در شرایط دیم بود و درصد تبیین واریانس فنوتیپی برای QTL‌های شناسایی شده بین ۱/۰۳ و ۸/۰۸ و بین ۱/۸۳ و ۱۰/۵۰ به ترتیب برای شرایط آبیاری تکمیلی و دیم متغیر بود (جدول ۴). این نشانگرهای معنی‌دار بر روی ۶۱ و ۶۰ ناحیه ژنومیک در سراسر ۱۶ و ۱۷ کروموزوم به ترتیب در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم نقشه‌یابی شدند. در شرایط آبیاری تکمیلی با استفاده از روش MLM برای صفات فنولوژیک در سطح آستانه ۵% FDR تعداد ۳۲ عدد QTL شناسایی شد. برای صفت روز تا سنبله دهی سه عدد QTL بر روی کروموزوم‌های 6A، 2B، و 5B و برای صفات روز تا پرچم‌دهی، روز تا رسیدن و دوره پرشدن دانه هر کدام

بررسی نشان داد (Hatamzadeh et al., 2022). همبستگی‌های مثبت بالا (جدول ۱) و وراثت پذیری-های بالایی (جدول ۲) برای بیشتر صفات مشاهده شد. **عدم تعادل پیوستگی:** در نقشه‌یابی ارتباطی که مکان‌یابی QTL‌ها بر اساس عدم تعادل پیوستگی صورت می‌گیرد علاوه بر ترکیب ساختاری جمعیت، گستره عدم تعادل پیوستگی (LD) در ژنوم نیز از اهمیت اساسی برخوردار است (Al-Maskri et al., 2012). در این مطالعه ابتدا شاخص عدم تعادل پیوستگی (r^2) برای ۱۸۹۰ عدد SNP برای کروموزوم‌ها و ژنوم‌های مختلف گندم در سراسر خاستگاه‌ها برآورد شدند. در این بررسی ۱۸۴۳۷۲ جفت نشانگرهای SNP از ۱۷۸۸۷۹۰ جفت نشانگر و به عبارتی (۱۰/۳۰۷٪)، معنی‌دار ($P < 0.01$) و بزرگتر مساوی ۰/۱ ($r^2 \geq 0.1$) بودند (جدول ۳). ژنوم A، B و D بترتیب دارای ۸۱۰۸۹ (۴/۵۳۳٪)، ۸۳۷۳۴ (۴/۶۸۱٪) و ۱۹۵۴۹ (۱/۰۹۲٪) جفت نشانگر با پیوستگی معنی‌دار و $r^2 \geq 0.1$ بودند (جدول ۳). بیشترین تعداد جفت نشانگر و کمترین آن با پیوستگی معنی‌دار و $r^2 \geq 0.1$ بترتیب متعلق به کروموزوم‌های 7A، 6B و 1A، 1D بود. نمودار الگوی کاهش عدم تعادل جفت نشانگرها، زوال عدم تعادل پیوستگی را برای ژنوم D، متمایزتر از ژنوم‌های A و B (شکل ۱، ۲ و ۳) نشان داد به طوریکه مقادیر اولیه رگرسیون برای ژنوم D، در عرض از مبدا بالاتری آغاز گردیده بود و فراوانی عدم تعادل پیوستگی با شدت کمتری در مقایسه با A و B صورت گرفته است. عدم تعادل پیوستگی برای ژنوم A و B در فاصله ۱۰ سانتی-مورگان به کمتر از ۰/۱ رسیده بود این بدان معنی است که همه نشانگرها داخل ۱۰ سانتی‌مورگان باید به عنوان یک QTL در نظر گرفته شوند و عدم تعادل پیوستگی

FDR5% برای صفات ارتفاع بوته، طول پدانکل، طول برگ پرچم و طول سنبله بترتیب بر روی کروموزوم‌های 5B، 5A، 2A و 7B شناسایی شدند. QTL |F|0--| شناسایی شد. 58:T>C ۱۰۰۴۶۹۶ مربوط به طول سنبله بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (۸٪/۲۰) صفات یاد شده را توجیه کرد. هیچ QTL مشترکی برای این صفات شناسایی نشد (شکل ۴ c و ۴ d).

در شرایط آبیاری تکمیلی برای صفات محتوای آب نسبی و خوانش SPAD سه QTL در سطح آستانه FDR5% شناسایی گردید. که یک QTL برای محتوای آب نسبی و دو QTL برای خوانش SPAD شناسایی شدند. این QTLها بترتیب بر روی کروموزوم‌های 7B، 6A و 7D قرار گرفته بودند. QTL |F|0--6:C>G| ۱۱۱۱۰۹۲ مربوط به خوانش SPAD بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (۷٪/۱۰۹) برای این دو صفت را توجیه کرد (شکل ۴ e). در شرایط دیم دو QTL در سطح آستانه FDR5% برای صفت محتوای آب نسبی بر روی کروموزوم‌های 2B و 5B شناسایی شدند.

QTL |F|0--20:A>G| ۱۲۰۳۱۱۳ بر روی کروموزوم 5B بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (۶٪/۱۹۶) را توجیه کرد (شکل ۴ f). مقادیر پایین FDR5% برای صفت خوانش SPAD برابر با ۱/۸۷۳ بود در نتیجه تعداد QTLهای بسیار زیادی (۲۱ عدد QTL) در سطوح ۵٪ شناسایی گردیدند. QTL |F|0--25:C>T| ۱۰۴۶۸۳۹ بر روی کروموزوم 1B با بیشترین Log10 (p value) - در سطح آستانه معنی دار ۵٪، بیشترین مقدار R² را نشان داد و ۵/۱۴٪ از تغییرات فنوتیپی صفت خوانش SPAD را توجیه نمود (جدول ۴).

یک QTL بترتیب بر روی کروموزوم‌های 7A، 5D و 5D شناسایی گردید. که QTL |F|0--18:T>C| ۱۱۱۴۵۹۵ با ۱۰۹ سانتی‌مورگان مربوط به روز تا خوشه شکم بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (۶٪/۲۶) برای این صفات را توجیه کرد (شکل ۴). در شرایط دیم هشت QTL در سطح آستانه FDR5% شناسایی شد. برای صفت روز تا خوشه شکم دو QTL بر روی کروموزوم 1B، برای روز تا سنبله دهی دو عدد QTL بر روی کروموزوم 5A، و برای صفات روز تا پرچم‌دهی و روز تا رسیدن هر کدام یک QTL بترتیب بر روی کروموزوم‌های 3A و 1B و دوره پرشدن دانه دو QTL بر روی کروموزوم 3D شناسایی گردید. QTL |F|0--32:T>C| ۲۲۷۸۳۳۲ با ۳۱۵ سانتی‌مورگان مربوط به روز تا خوشه شکم بیشترین درصد (۱۰٪/۵۰) از تغییرات فنوتیپی صفات فنولوژیک را توجیه کرد. هیچ QTL مشترکی برای این صفات شناسایی نشد (شکل ۴ a و ۴ b). ام‌وادزینگنی و همکاران (Mwadzingeni *et al.*, 2017) در مطالعه تجزیه ارتباطی سراسر ژنوم در گندم در دو شرایط تنش خشکی و عدم تنش، چهار لوکوس که بیشترین ارتباط معنی‌دار را با صفت روز تا سنبله-دهی داشتند شناسایی و دامنه درصد تغییرات فنوتیپی آن را بین ۲۴/۹۶٪ و ۳۷/۷۷٪ گزارش کردند.

در شرایط آبیاری تکمیلی در سطح آستانه FDR5% تعداد یازده QTL برای صفات ارتفاع بوته (۴ عدد)، طول پدانکل (۳ عدد) و طول سنبله (۴ عدد) شناسایی شدند. این QTLها بر روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 3A، 2B، 3B، 5B و 7B قرار گرفته بودند. QTL |F|0--41:A>T| ۱۰۷۲۷۱۱ مربوط به طول پدانکل بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (۵٪/۱۶) برای این صفات را توجیه کرد. در شرایط دیم چهار QTL در سطح آستانه

جدول ۱- ضرایب همبستگی صفات تحت بررسی در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم (قطر بالا شرایط آبیاری تکمیلی، قطر پایین شرایط دیم)

Table 1. Correlation coefficients of traits under investigation in supplementary irrigation and rainfed conditions (upper diameter in supplementary irrigation conditions, lower diameter in rainfed conditions)

صفات	DTB	DTH	DTA	DTM	GFP	PH	PL	FL	SL	RWC	SPAD	NSPS	TKW	HI	GY
DTB	1	0.940**	0.875**	0.672**	-0.402**	-0.201**	-0.295**	-0.042	0.245**	0.238**	0.495**	-0.227**	-0.511**	-0.369**	-0.360**
DTH	0.753**	1	0.953**	0.744**	-0.421**	-0.220**	-0.334**	-0.016	0.224**	0.241**	0.428**	-0.291**	-0.501**	-0.416**	-0.393**
DTA	0.769**	0.971**	1	0.778**	-0.446**	-0.217**	-0.338**	0.031	0.198**	0.214**	0.381**	-0.291**	-0.451**	-0.407**	-0.357**
DTM	-0.11	-0.09	-0.13	1	0.214**	-0.291**	-0.434**	-0.066	0.125	0.235**	0.254**	-0.264**	-0.209**	-0.372**	-0.194**
GFP	-0.187**	-0.221**	-0.270**	-0.06	1	-0.067	-0.084	-0.144*	-0.132	0	-0.236**	0.074	0.403**	0.101	0.278**
PH	-0.225**	-0.291**	-0.276**	0.04	-0.155*	1	0.824**	0.310**	0.441**	-0.075	-0.542**	0.177**	0.202**	0.205**	0.095
PL	-0.264**	-0.358**	-0.359**	-0.03	-0.04	0.710**	1	0.273**	0.254**	-0.034	-0.459**	0.160*	0.198**	0.247**	0.083
FL	-0.310**	-0.510**	-0.501**	-0.02	-0.02	0.489**	0.492**	1	0.244**	0.09	-0.067	0.134	-0.03	0.055	-0.011
SL	0.209**	0.145*	0.188**	0.04	-0.140*	0.342**	0.1	0.130*	1	0.145*	0.024	0.096	-0.231**	-0.001	-0.087
RWC	0.09	0.193**	0.188**	-0.05	0.02	-0.175**	-0.146*	-0.143*	-0.01	1	0.215**	-0.011	-0.074	-0.112	-0.077
SPAD	-0.320**	-0.256**	-0.241**	0.09	0.142*	-0.06	0.03	-0.04	-0.06	0.05	1	0.033	-0.515**	-0.168*	-0.153*
NSPS	-0.13	-0.139*	-0.139*	-0.01	0.03	0.165*	0.131*	0.151*	-0.07	-0.11	0.11	1	0.098	0.750**	0.575**
TKW	-0.1	-0.245**	-0.211**	-0.02	0.177**	0.003	0.05	0.11	-0.155*	0.1	0.05	0.154*	1	0.324**	0.435**
HI	-0.12	-0.210**	-0.204**	0.01	0.04	-0.01	0.06	0.06	-0.174**	-0.02	0.12	0.735**	0.346**	1	0.506**
GY	-0.12	-0.176**	-0.158*	-0.05	0.12	0.11	0.06	0.1	-0.07	-0.05	0.09	0.776**	0.542**	0.700**	1

تعداد روز تا خوشه شکم (DTB)، تعداد روز تا سنبله‌دهی (DTH)، تعداد روز تا پرچم‌دهی (DTA)، تعداد روز تا رسیدن (DTM)، دوره پر شدن دانه (GFP)، ارتفاع بوته (PH)، طول پدانکل (PL)، طول برگ پرچم (FL)، طول سنبله (SL)، محتوای آب نسبی (RWC)، خوانش SPAD (SPAD)، تعداد دانه در هر سنبله (NSPS)، وزن هزار دانه (TKW)، عملکرد دانه (GY)، شاخص برداشت (HI). * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

جدول ۲- وراثت پذیری عمومی برآورد شده برای ۱۵ صفات تحت بررسی در توده‌های بومی گندم نان در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم

Table 2. Broad sense heritability for 15 traits under investigation in bread wheat landraces under supplementary irrigation and rainfed conditions

وراثت پذیری % Heritability	روز تا خوشه شکم (DTB)	روز تا سنبله‌دهی (DTH)	روز تا پرچم‌دهی (DTA)	روز تا رسیدن (DTM)	دوره پر شدن دانه (GFP)	ارتفاع بوته (PH)	طول پدانکل (PL)	طول برگ پرچم (FL)	طول سنبله (SL)
آبیاری تکمیلی	91.04	90.06	87.32	64.49	79.86	62.6	60.71	78.01	64.85
دیم	54.86	73.00	74.28	58.42	90.63	80.35	58.41	59.64	70.63

جدول ۲- ادامه
Table 2. Continued

وراثت پذیری % Heritability	محتوای آب نسبی (RWC)	محتوای کلروفیل II (SPAD)	تعداد دانه در هر سنبله (NSPS)	وزن هزار دانه (TKW)	شاخص برداشت (HI)	عملکرد دانه (GY)
آبیاری تکمیلی	13.46	88.81	59.98	77.07	74.87	76.08
دیم	7.74	78.99	58.90	85.71	56.10	71.87

تغییرات فنوتیپی (۳۷٪/۷) صفات عملکرد دانه و اجزای آن را توجیه کرد. هیچ QTL مشترکی برای این صفات در شرایط دیم شناسایی نشد (شکل ۵ c و ۵ d). مقادیر پایین FDR5% واری صفات شاخص برداشت برابر با ۱۹۲۷ بود در نتیجه تعداد QTL‌های بسیار زیادی (۱۹ عدد QTL) در سطوح ۵٪ شناسایی گردیدند. QTL $F[0--58:A>G]$ با 1252901 بر روی کروموزوم 6B با بیشترین $-\log_{10}(p \text{ value})$ در سطح آستانه معنی‌دار ۵٪، بیشترین مقدار R^2 را نشان داد و ۲۷٪ از تغییرات فنوتیپی صفت شاخص برداشت را توجیه نمود.

بحث: برآوردهای وراثت‌پذیری عمومی بالایی و همچنین همبستگی‌های مثبت معنی‌داری در بین صفات مورد مطالعه مشاهده شد (جدول ۱ و ۲). این نتایج هم ارزش داده‌ها را در تجزیه ارتباط نشانگر-صفت ثابت می‌کند و هم نشان می‌دهد که می‌توان از کلکسیون حاضر به عنوان پایگاه جامعی از صفات زراعی مفید، جهت گزینش و تجزیه ارتباط نشانگر-صفت بهره گرفت. ام‌وادزینگنی و همکاران (Mwadzingeni *et al.*, 2017) و لیدو و همکاران (Laido *et al.*, 2014)

در شرایط آبیاری تکمیلی صفات برای عملکرد دانه و اجزای آن، در سطح آستانه FDR5% شش QTL شناسایی شد. برای صفات تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه هر کدام دو QTL بر روی کروموزوم‌های 1A و 2B و برای صفات وزن هزار دانه و شاخص برداشت هر کدام یک QTL بترتیب بر روی کروموزوم-های 2B و 6B شناسایی گردید. QTL $F[0--28:G>A]$ با 1020140 مربوط به تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه بر روی کروموزوم 2B به ترتیب با موقعیت ۱۵۷ و ۱۵۸ سانتی مورگان بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی (به ترتیب ۶۳٪/۷ و ۸۳٪/۸) برای این صفات را توجیه کرد (شکل ۵ a و ۵ b). در شرایط دیم برای عملکرد دانه و اجزای آن، هفت QTL در سطح آستانه FDR5% شناسایی شد. برای صفات تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه هر کدام یک QTL بر روی کروموزوم 5A و برای صفت وزن هزار دانه پنج QTL بر روی کروموزوم-های 7A، 1B، 2B، 3B و 6B شناسایی گردید. QTL $F[0--21:C>T]$ با 2256346 بر روی کروموزوم 5A با موقعیت ۱۵ cM مربوط به عملکرد دانه بیشترین درصد

است در حالی که جریان ژنی بالایی بین *T. aestivum* و *Ae. tauchii* صورت نگرفته است (Berkman et al., 2013). با توجه به نتایج و نمودارها می‌توان بیان داشت عدم تعادل پیوستگی بین کروموزوم‌ها متغیر است و کروموزوم‌های ژنوم D از بلوک‌های پیوستگی بزرگتری نسبت به ژنوم‌های A و B برخوردار بودند.

تجزیه ارتباط: درک اساس ژنتیکی صفات پیچیده در گیاهان پلی‌پلوئید از قبیل گندم فرصتی را برای اصلاح تحمل به خشکی ارائه می‌کند. توان تشخیص QTL بستگی به اندازه نمونه، معماری ژنتیکی صفت و وراثت پذیری صفت دارد (Yu et al., 2008). در این پژوهش ۲۴۹ توده بومی گندم نان ایرانی از شش خاستگاه مطالعه شدند تا ارتباط نواحی ژنومیک با صفات آگرونومیک در چنین جمعیت متنوعی شناسایی شوند. برآوردهای وراثت پذیری بالایی (جدول ۲) و نیز همبستگی‌های مثبت و معنی‌داری (جدول ۱)، در بین صفات تحت مطالعه، مشاهده شد که تاییدی بر ارزش داده‌ها در تجزیه نشانگر صفت می‌باشد (Laido et al., 2014).

به ژنوم، جایگاه‌های کنترل کننده چنین صفاتی می‌توانند مشابه باشند. یعنی جایی که یک ژن اثرات پلیوتروپیک بر روی چند صفت با همبستگی بالا دارد، نشان می‌دهد که چند صفت با همدیگر دارای ارتباط می‌باشند. در حقیقت وجود اثرات پلیوتروپیک بیانگر گزینش هم‌زمان برای آن صفات می‌باشد. دهولاکیا و همکاران (Dholakia et al., 2003) گزارش کردند که صفات با همبستگی بالا اغلب بوسیله یک QTL مشترک کنترل می‌شوند. برای مثال لوکوس ۲D | ۱۲۸.۱۴۶۵۸۴۶۰۰ | ۴۰۲۱۸۲۷ | ۴۰۲۱۸۲۷ چند صفت را کنترل می‌کند مانند ارتفاع بوته، طول سنبله، تعداد گلچه هر سنبله و تعداد دانه هر سنبله که اغلب همبستگی بالایی داشتند (Baloch et al., 2013; Kashif and Khaliq, 2004).

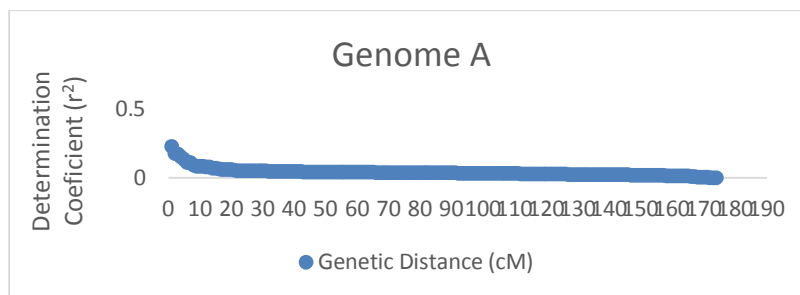
گزارش کردند، صفاتی که برآوردهای وراثت‌پذیری بالایی را نشان دادند، برای کشف QTL مناسب تشخیص داده شدند.

عدم تعادل پیوستگی: نتایج نشان داد که عدم تعادل پیوستگی در طول کروموزوم و از کروموزومی به کروموزوم دیگر و ژنوم‌های مختلف متفاوت است و با افزایش فاصله ژنتیکی، عدم تعادل پیوستگی کاهش می‌یابد. شاخص عدم تعادل پیوستگی در حالت کلی نشان داد که کروموزوم‌های 4D و 7D بترتیب بیشترین و کمترین (۰/۰۶۵ و ۰/۰۲۷) عدم تعادل پیوستگی را نشان دادند. مقادیر شاخص عدم تعادل پیوستگی ژنوم‌ها در حالت کلی نزدیک به یکدیگر بود به طوریکه ژنوم‌های A، B و D بترتیب ۰/۰۴۳، ۰/۰۳۸ و ۰/۰۴۰ را نشان دادند. این شاخص در فاصله کمتر از ۵ سانتی-مورگان برای ژنوم‌های A، B و D بترتیب ۰/۴۲۲، ۰/۳۷۴ و ۰/۵۶۹ و در فاصله بیشتر از ۵۰ سانتی-مورگان بترتیب ۰/۱۷۵، ۰/۱۶۰ و ۰/۱۴۶ بود. با توجه به مقادیر شاخص در فاصله کمتر از ۵ سانتی-مورگان می‌توان اظهار داشت که ژنوم D دارای کم بودن زوال عدم تعادل پیوستگی در مقایسه با ژنوم A و B است (جدول ۳). در برخی گزارش‌ها به مقادیر متفاوت عدم تعادل پیوستگی برای کروموزوم‌ها و ژنوم‌ها اشاره شده است (Edae et al., 2014; Nielsen et al., 2014). در حالت کلی ژنوم D دارای مقادیر شاخص عدم تعادل پیوستگی بیشتری در مقایسه با ژنوم‌های A و B است (Wang et al., 2014; Nielsen et al., 2014). دلیل بیشتر بودن عدم تعادل پیوستگی در ژنوم D به خاطر جوان‌تر بودن این ژنوم می‌باشد و نیز نوعی اثر گلوگاه (به خاطر دورگ‌گیری گندم تتراپلوئید با تعداد بسیار اندکی از گیاه *Ae. tauchii*) برای ژنوم D رخ داد که سبب کاهش تنوع و افزایش بلوک‌های عدم تعادل پیوستگی در ژنوم D گردیده است (Warburton et al., 2006; Chao et al., 2010). هم‌چنین وجود احتمالی جریان ژنی اولیه بین *T. aestivum* و نیای تتراپلوئید *T. turgidum* سبب افزایش تنوع ژنتیکی در ژنوم‌های A و B گشته

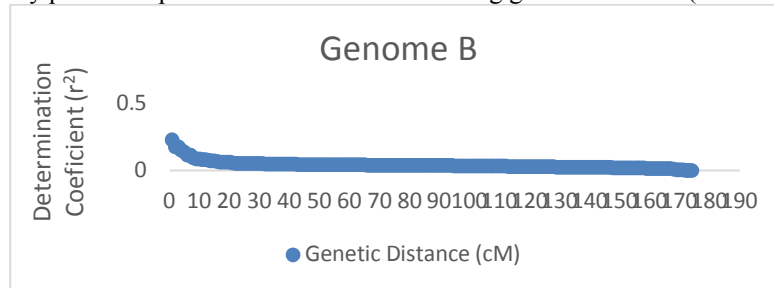
جدول ۳- تعداد جفت نشانگرهای مشاهده شده، جفت نشانگرهای معنی‌دار و میانگین شاخص عدم تعادل پیوستگی در ژنوم و کروموزوم‌های توده‌های بومی گندم

Table 3. The No. of pairs of observed and significant markers, the average index of linkage disequilibrium in the genome, chromosomes of wheat landraces

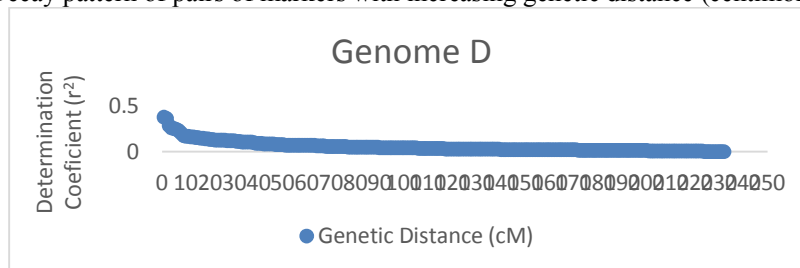
r^2 in D \geq 50 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	%SNP with D \geq 50 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	SNPs with D \geq 50 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	r^2 in D \leq 5 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	%SNP with D \leq 5 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	SNPs with D \leq 5 cM $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	r^2 in SNP $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	%SNP $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	SNP $r^2 \geq 0.1$ & P \leq 0.01	r^2	r^2	تعداد کل جفت نشانگر	کروموزوم
0.190	0.343	632	0.413	0.082	152	0.242	0.647	1192	10	0.051	8777	1A
0.172	0.370	682	0.367	0.110	202	0.208	1.793	3306	19	0.040	31116	1B
0.140	0.017	32	0.509	0.013	24	0.185	0.699	1288	3	0.042	10818	1D
0.168	0.579	1067	0.587	0.333	614	0.228	5.902	10882	18	0.060	61851	2A
0.160	0.212	390	0.326	0.323	595	0.205	7.118	13123	20	0.046	100951	2B
0.152	0.004	7	0.510	0.011	21	0.161	0.789	1454	4	0.034	15293	2D
0.177	0.274	505	0.312	0.097	178	0.192	5.207	9600	5	0.039	89969	3A
0.160	0.397	732	0.396	0.124	228	0.180	8.001	14752	14	0.039	136731	3B
0.160	0.009	17	0.564	0.015	27	0.174	1.034	1907	6	0.029	30066	3D
0.147	0.044	82	0.429	0.057	106	0.175	2.729	5031	7	0.031	75658	4A
0.157	0.007	13	0.513	0.007	12	0.183	1.872	3451	2	0.037	35507	4B
0.169	0.003	6	0.759	0.004	8	0.210	1.234	2276	2	0.065	10973	4D
0.178	0.225	414	0.407	0.105	193	0.189	7.995	14740	15	0.041	128532	5A
0.156	0.178	329	0.332	0.105	193	0.176	8.237	15187	16	0.037	154150	5B
0.127	0.001	2	0.546	0.006	11	0.185	1.654	3050	3	0.044	22824	5D
0.170	0.132	244	0.412	0.081	150	0.183	7.293	13447	2	0.042	109887	6A
0.169	0.078	143	0.321	0.150	277	0.177	9.685	17856	11	0.037	180401	6B
0.135	0.015	27	0.575	0.017	32	0.178	2.804	5169	2	0.039	46991	6D
0.193	0.348	642	0.398	0.139	257	0.190	14.209	26197	12	0.040	234649	7A
0.146	0.099	183	0.366	0.155	286	0.168	8.710	16059	20	0.031	225086	7B
0.136	0.013	24	0.522	0.017	31	0.168	2.389	4405	5	0.027	78560	7D
0.175	1.945	3586	0.422	0.895	1650	0.200	43.981	81089	69	0.043	709323	ژنوم A
0.160	1.341	2472	0.374	0.972	1793	0.185	45.416	83734	102	0.038	863942	ژنوم B
0.146	0.062	115	0.569	0.084	154	0.180	10.603	19549	25	0.040	215525	ژنوم D
0.160	3.348	6173	0.455	1.951	3597	0.188	10.307	184372	196	0.040	1788790	کل



شکل ۱- الگوی زوال عدم تعادل پیوستگی جفت نشانگرها با افزایش فاصله ژنتیکی (سانتی مورگان) در ژنوم A در توده‌های بومی گندم
 Figure 1- Linkage disequilibrium Decay pattern of pairs of markers with increasing genetic distance (centimorgan) in genome A in wheat landraces



شکل ۲- الگوی زوال عدم تعادل پیوستگی جفت نشانگرها با افزایش فاصله ژنتیکی (سانتی مورگان) در ژنوم B در توده‌های بومی گندم
 Figure 2- Linkage disequilibrium Decay pattern of pairs of markers with increasing genetic distance (centimorgan) in genome B in wheat landraces



شکل ۳- الگوی زوال عدم تعادل پیوستگی جفت نشانگرها با افزایش فاصله ژنتیکی (سانتی مورگان) در ژنوم D در توده‌های بومی گندم
 Figure 3- Linkage disequilibrium Decay pattern of pairs of markers with increasing genetic distance (centimorgan) in genome D in wheat landraces

جدول ۴- اطلاعات QTL های شناسایی شده با استفاده از نشانگرهای SNP در سطح آستانه FDR 5% و Bon 5%
 Table 4. Information of QTLs identified using SNP markers at the threshold level of FDR 5% and Bon 5%

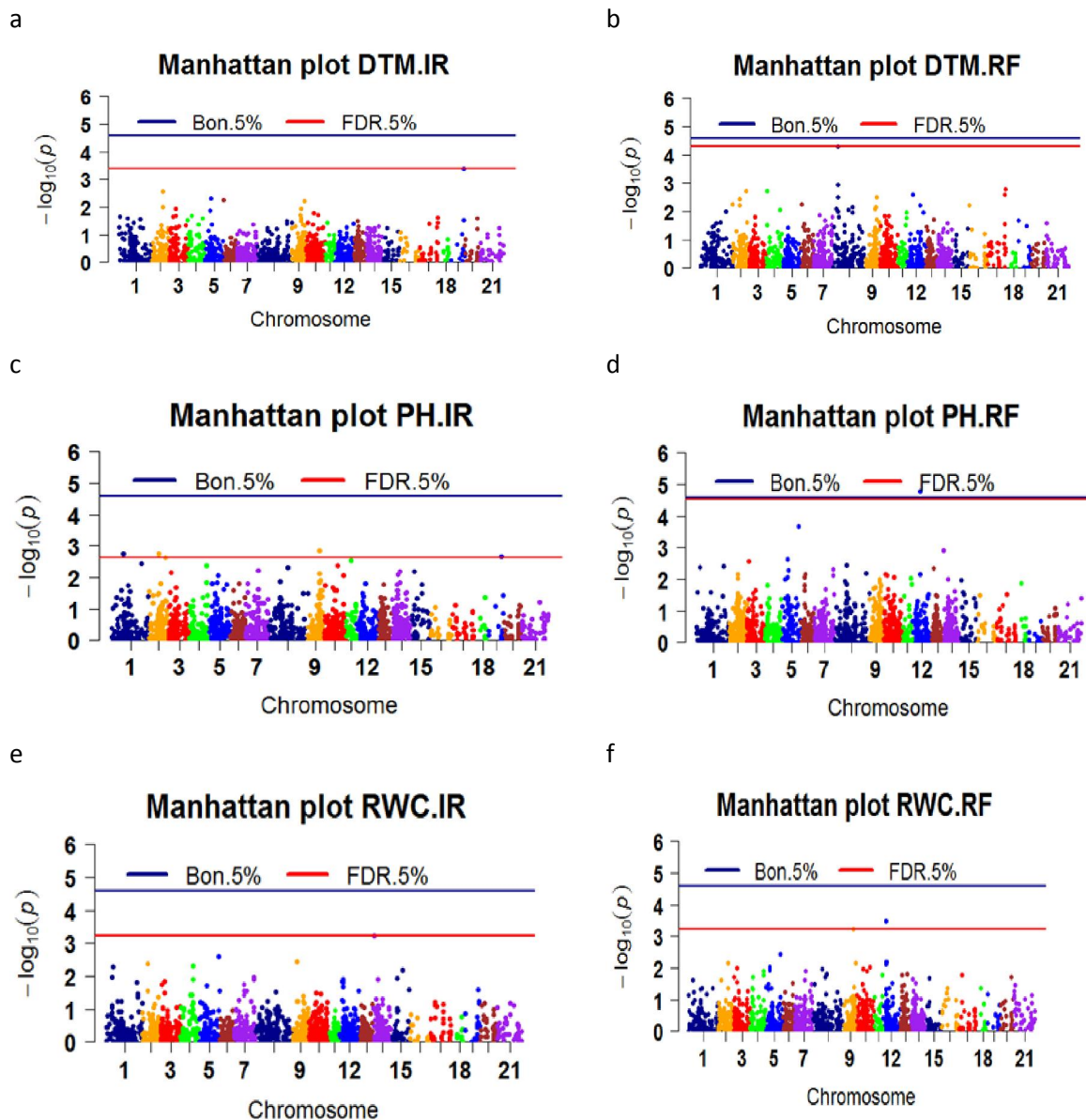
شرایط	صفت	کواریت	نشانگر	کروموزوم	موقعیت فیزیکی (cM)	-Log ₁₀ (p value)	R ²	FDR 5%	Bon 5%
	DTB	0	1114595 F 0--18:T>C	2A	109	3.119758224	6.257		
	DTB	0	1220443 F 0--42:C>A	3B	33	2.974694135	5.7		
	DTB	0	1056945 F 0--52:A>G	3A	28	2.619788758	4.555		
	DTB	0	1228614 F 0--42:G>C	2A	109	2.603800653	5.278		
	DTB	0	1201588 F 0--43:G>A	1A	251	2.54515514	4.468		
	DTB	0	987811 F 0--7:T>C	3B	103	2.401209493	4.154		
	DTB	0	1081189 F 0--30:T>C	5B	49	2.401209493	4.18		
	DTB	0	1126311 F 0--16:G>C	1A	261	2.395773947	4.573		
	DTB	0	1242723 F 0--60:C>A	7B	134	2.378823718	4.411		
	DTB	0	1223104 F 0--25:G>A	4B	110	2.346787486	4.836		
	DTB	0	1127015 F 0--33:A>G	7A	178	2.343901798	4.384	1.648	4.577
	DTB	0	985813 F 0--9:C>A	6B	69	2.283996656	3.969		
	DTB	0	1035046 F 0--26:C>T	6B	61	2.268411235	3.951		
	DTB	0	1275924 F 0--18:C>T	2A	176	2.241845378	4.816		
	DTB	0	996275 F 0--10:A>T	3B	184	2.238824187	3.964		
	DTB	0	979743 F 0--67:C>A	1A	485	2.20481541	4.013		
	DTB	0	1127347 F 0--1105664 F 0--	3B	186	2.188424994	3.592		
	DTB	0	1030302 F 0--10:A>G	7A	111	2.171340103	3.763		
	DTB	0	1093756 F 0--68:G>A	4A	160	2.152427341	3.837		
آبیاری تکمیلی	DTB	0	1127347 F 0--62:A>G	3B	186	2.131355562	3.671		
	DTB	0	1098664 F 0--41:C>T	6B	55	2.089375595	3.538	1.648	4.577
	DTB	0	1107107 F 0--50:C>T	6B	12	2.069050969	3.396		
	DTB	0	996025 F 0--16:A>T	3B	104	2.040958608	3.351		
	DTB	0	1087592 F 0--37:G>A	5A	100	2.018181393	3.244		
	DTB	0	979722 F 0--18:T>C	2B	139	2.010995384	3.944		
	DTB	0	992437 F 0--49:G>A	3A	89	2.008330993	3.251		
	DTH	DTB	1193738 F 0--61:A>C	6A	168	3.450996738	1.2	3.347	
	DTH	DTB	1075404 F 0--6:T>A	2B	52	3.350665141	1.04		
	DTH	DTB	1165661 F 0--63:A>G	5B	93	3.377785977	1.272		
	DTA	DTB	1100804 F 0--28:A>C	7A	121	4.647817482	1.032	4.523	
	DTM	DTB	981564 F 0--54:T>A	5D	236	3.403402904	2.348	3.398	
	GFP	DTM	981564 F 0--54:T>A	5D	236	3.293282218	5.59	3.292	
	PH	DTM	1011115 F 0--14:C>T	1A	152	2.761953897	4.799	2.646	
	PH	DTM	1013660 F 0--40:G>C	2A	130	2.749579998	4.99		
	PH	DTM	1125680 F 0--7:A>G	2B	153	2.8569852	5.137		
	PH	DTM	1150426 F 0--13:G>A	5D	211	2.675717545	4.88		
	PL	DTM	1011115 F 0--14:C>T	1A	152	2.761953897	4.799	2.650	
	PL	DTM	1092041 F 0--8:G>A	2B	164	2.754487332	4.005		
	PL	DTM	1072711 F 0--41:A>T	7B	214	2.756961951	5.16		
	FL	DTM	1094220 F 0--54:G>A	7B	104	2.749579998	5.615	1.345	

جدول ۴- ادامه
Table 4. continued

شرایط	صفت	کوواریت	نشانگر	کروموزوم	موقعیت فیزیکی (cM)	-Log ₁₀ (p value)	R ²	FDR 5%	Bon 5%
آبیاری تکمیلی	FL	DTM	1084185 F 0--56:A>T	5A	76	2.404503778	4.676		
	FL	DTM	1007283 F 0--52:G>C	3B	33	2.310691141	4.241		
	FL	DTM	1000653 F 0--22:T>C	5B	102	2.287350298	4.309		
	FL	DTM	1002325 F 0--62:A>G	5A	76	2.266802735	3.883		
	FL	DTM	1143802 F 0--27:T>C	1A	144	2.231361899	4.567		
	FL	DTM	1267090 F 0--9:G>T	2B	96	2.161150909	3.767	1.345	
	FL	DTM	3024566 F 0--31:T>G	3B	133	2.123782159	3.681		
	FL	DTM	1051996 F 0--55:A>G	1B	162	2.076238039	3.812		
	FL	DTM	1126495 F 0--64:G>C	2A	174	2.070581074	4.024		
	FL	DTM	1202759 F 0--52:A>C	5A	77	2.054039296	3.499		
	FL	DTM	1138009 F 0--40:C>T	6B	65	2.033389013	3.5		4.577
	SL	DTM	1128716 F 0--54:C>T	3A	236	1.518270803	2.074		
	SL	DTM	1105068 F 0--14:C>G	3A	252	1.486649201	2.071		
	SL	DTM	1228717 F 0--22:A>G	3B	32	1.595850751	2.239	1.487	
	SL	DTM	1000564 F 0--23:G>A	5B	221	1.729321164	2.485		
	RWC	DTM	1102954 F 0--30:C>T	7B	24	3.223298816	6.733	3.222	
	SPAD	DTM	1111092 F 0--6:C>G	6A	19	3.012333735	7.093	3.009	
	SPAD	DTM	1120346 F 0--65:T>C	7D	244	3.048662481	6.122		
	NSPS	DTM	1119289 F 0--51:C>G	1A	441	2.982966661	5.893		2.860
	NSPS	DTM	1020140 F 0--28:G>A	2B	157	3.93930216	7.626		
TKW	DTM	992531 F 0--43:A>C	6B	48	3.415668776	6.633	3.409		
HI	DTM	1042533 F 0--15:G>T	2B	164	3.580044252	6.417	3.569		
GY	DTM	1020140 F 0--28:G>A	2B	157	3.93930216	7.626		3.921	
GY	DTM	1126657 F 0--67:G>C	2B	158	4.086716098	8.083			
دیم	DTB	0	2278332 F 0--32:T>C	1B	315	4.590067	10.505	4.301	
	DTB	0	993307 F 0--30:A>G	1B	318	4.493495	8.13		
	DTH	DTB	1203750 F 0--26:T>C	5A	71	3.600326	2.896	3.357	
	DTH	DTB	994103 F 0--13:T>A	5A	71	3.360514	2.571		
	DTA	0	1215397 F 0--36:T>A	3A	18	3.408935	6.847	3.410	
	DTM	DTB, DTH, DTA	1056786 F 0-- 100000447 F 0--	1B	84	4.304518	1.83	4.301	
	GFP	DTM	989098 F 0--40:C>T	3D	285	3.428291	6.138	3.420	4.577
	GFP	DTM	1149694 F 0--45:G>A	3D	292	3.596879	6.344		
	PH	DTM	1226746 F 0--18:G>A	5B	112	4.785156	7.328	4.523	
	PL	DTM	1070231 F 0--19:G>C	5A	128	3.812479	5.649	3.796	
	FL	DTM	1003109 F 0--54:T>C	2A	47	4.064997	5.701	4.046	
	SL	DTM	1004696 F 0--58:T>C	7B	77	4.101275	8.204	4.097	
	RWC	DTM	1107872 F 0--8:G>A	2B	157	3.229885	6.083		3.229
	RWC	DTM	1203113 F 0--20:A>G	5B	59	3.47237	6.965		
	SPAD	DTM	1046839 F 0--25:C>T	1B	249	3.011441	5.144		
	SPAD	DTM	1012499 F 0--37:T>A	3A	128	3	5.201	1.874	
	SPAD	DTM	987390 F 0--40:C>T	7A	285	2.679854	4.328		

جدول ۴- ادامه
Table 4. continued

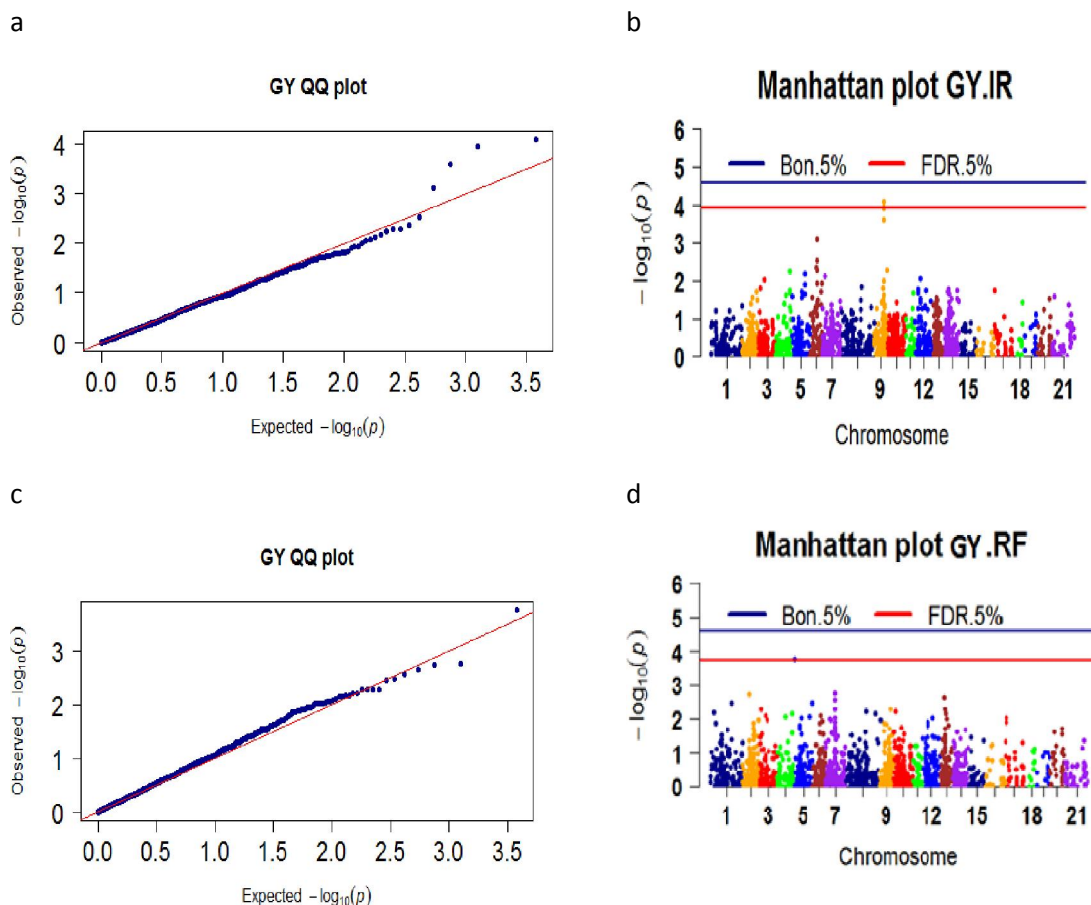
شرایط	صفت	کوواریت	نشانگر	کروموزوم	موقعیت فیزیکی (cm)	-Log ₁₀ (p value)	R ²	FDR 5%	Bon 5%
	SPAD	DTM	1006675 F 0--13:C>G	3A	226	2.486782	3.866		
	SPAD	DTM	1136337 F 0--25:T>C	1B	341	2.430626	3.923		
	SPAD	DTM	999485 F 0--39:T>C	6A	123	2.338187	4.166		
	SPAD	DTM	1042356 F 0--45:T>C	3B	135	2.243364	3.631		
	SPAD	DTM	1097343 F 0--23:A>G	7A	285	2.238072	3.823		
	SPAD	DTM	987710 F 0--42:G>C	6B	109	2.228413	4.261		
	SPAD	DTM	996275 F 0--10:A>T	3B	184	2.198596	3.581		
	SPAD	DTM	1068196 F 0--9:G>A	7D	143	2.197226	3.536		
	SPAD	DTM	1054439 F 0--11:A>T	1B	336	2.184422	3.46		
	SPAD	DTM	1112925 F 0--29:A>G	2A	232	2.159894	3.537	1.874	
	SPAD	DTM	1075160 F 0--13:A>G	3A	23	2.154282	3.516		
	SPAD	DTM	999037 F 0--41:G>A	7A	171	2.133122	3.164		
	SPAD	DTM	1126576 F 0--38:A>G	4B	120	2.095826	3.226		4.577
	SPAD	DTM	1216307 F 0--20:G>A	7A	286	2.053548	3.54		
	SPAD	DTM	978121 F 0--	7A	170	2.048662	3.171		
	SPAD	DTM	1123074 F 0--5:C>T	1A	319	2.036212	3.175		
	SPAD	DTM	1269485 F 0--	5B	149	2.022734	3.211		
	SPAD	DTM	1120346 F 0--65:T>C	7D	244	2.004365	3.421		
	NSPS	DTB	1087201 F 0--37:T>C	5A	251	3.29243	5.565	3.284	
	TKW	DTM	2277534 F 0--36:G>A	7A	46	3.216811	5.72		
	TKW	DTM	1056786 F 0--	1B	84	3.205512	5.334		
	TKW	DTM	1051052 F 0--59:G>C	2B	205	3.37366	5.768	3.167	
	TKW	DTM	1009481 F 0--14:A>G	3B	95	3.576754	6.422		
	TKW	DTM	1122215 F 0--53:T>C	6B	63	3.169411	5.509		
	HI	DTM	1252901 F 0--58:A>G	6B	52	2.801343	5.267		
	HI	DTM	1203649 F 0--17:A>G	3A	126	2.661544	4.464		
	HI	DTM	3034354 F 0--44:T>C	1B	104	2.590067	4.84		
	HI	DTM	1142880 F 0--49:G>C	4A	221	2.444906	4.317		
	HI	DTM	1003066 F 0--30:G>C	1A	327	2.360514	3.764		
	HI	DTM	1216317 F 0--58:A>T	1B	452	2.312471	3.944		
	HI	DTM	1229178 F 0--14:C>T	1A	252	2.281498	3.517		
	HI	DTM	1131906 F 0--46:G>T	1B	529	2.262013	3.773		
	HI	DTM	1210484 F 0--63:C>T	4A	223	2.210419	3.714		
	HI	DTM	1014363 F 0--17:C>A	3A	209	2.185752	3.843	1.927	
	HI	DTM	1218776 F 0--57:G>A	7A	145	2.137869	3.569		4.577
	HI	DTM	992845 F 0--17:G>A	5B	86	2.085128	3.151		
	HI	DTM	1088589 F 0--38:T>C	3A	16	2.071092	3.252		
	HI	DTM	1126560 F 0--25:T>C	3B	252	2.068034	3.517		
	HI	DTM	1207572 F 0--55:A>G	7A	148	2.059982	3.13		
	HI	DTM	3064679 F 0--36:G>A	1B	490	2.051587	3.125		
	HI	DTM	1091466 F 0--65:G>A	7B	215	2.024568	3.522		
	HI	DTM	1092511 F 0--38:G>A	1D	81	2.015923	3.164		
	HI	DTM	1110688 F 0--43:G>A	2B	151	2.014125	2.998		
	GY	DTM	2256346 F 0--21:C>T	5A	15	3.761954	7.379	3.745	



شکل ۴- پلات منهن برای ۱۸۹۰ نشانگر SNP مورد استفاده برای صفت روز تا رسیدن (DTM)، ارتفاع بوته (PH) و محتوای آب نسبی (RWC) توده‌های بومی گندم در شرایط آبیاری تکمیلی (IR) و دیم (RF). خطوط آبی و قرمز به ترتیب نشان دهنده حد آستانه 5% Bonferroni و 5% FDR.

Figure 4- Manhattan plot for 1890 SNP markers used for trait days to maturity (DTM), plant height (PH) and relative water content (RWC) of wheat landraces under supplemental irrigation (IR) and rainfed (RF) conditions. The blue and red lines represent the Bonferroni 5% and FDR 5% thresholds, respectively.

1=1A, 2=2A, 3=3A, 4=4A, 5=5A, 6=6A, 7=7A, 8=1B, 9=2B, 10=3B, 11=4B, 12=5B, 13=6B, 14=7B, 15=1D, 16=2D, 17=3D, 18=4D, 19=5D, 20=6D, 21=7D



شکل ۵- نمودار Q-Q برای صفت عملکرد دانه توده‌های بومی گندم در شرایط آبیاری تکمیلی (IR) (بالا) و دیم (RF) (پایین) و پلات منهن برای ۱۸۹۰ نشانگر SNP مورد استفاده برای صفت عملکرد دانه توده‌های بومی گندم در شرایط آبیاری تکمیلی (بالا) و دیم (پایین). خطوط آبی و قرمز به ترتیب نشان دهنده حد آستانه 5% Bonferroni و 5% FDR هستند.

Figure 5- Q-Q diagram for the grain yield trait of native wheat populations under supplemental irrigation (IR) (up) and rainfed (RF) (bottom) conditions and Manhattan plot for 1890 SNP markers used for the grain yield trait of native wheat populations in supplementary irrigation (up) and rainfed (bottom) conditions. The blue and red lines represent the Bonferroni 5% and FDR 5% thresholds, respectively.

1=1A, 2=2A, 3=3A, 4=4A, 5=5A, 6=6A, 7=7A, 8=1B, 9=2B, 10=3B, 11=4B, 12=5B, 13=6B, 14=7B, 15=1D, 16=2D, 17=3D, 18=4D, 19=5D, 20=6D, 21=7D

چنین یافته‌هایی نتایج مطالعه حاضر را تایید می‌کنند به طوری که در شرایط آبیاری تکمیلی نشانگر |F|0--T>A:54 ۹۸۱۵۶۴ در دو صفت روز تا رسیدن و دوره پرشدن دانه مشترک بود و نشانگر |F|0--14:C>T در دو صفت ارتفاع بوته و طول پدانکل و نشانگر QTL |F|0--28:G>A:۱۰۲۰۱۴۰ مربوط به تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه بر روی کروموزوم

ژن‌های شناسایی شده در جمعیت فعلی، به مخزن موجود منابع ژنتیکی و ژن‌های کاندید می‌افزاید. بعضی از این QTLها در مطالعات پیشین شناسایی شده بودند (Liu et al., 2015; Racedo et al., 2016; Sajjad et al., 2014; Mwadzingeni et al., 2017). صفات با همبستگی بالا می‌توانند از نظر سهم مستقیم یا غیر مستقیم یک صفت به صفت دیگر توجیه شوند. با نگاهی

2B برای این دو صفت مشترک دیده شد. این صفات همبستگی بالایی را با همدیگر نشان دادند (جدول ۱). در شرایط دیم نیز یک QTL مشترک ($F|0--|$) 100202447|F|0--23:C>G بین وزن هزار دانه و تعداد روز تا رسیدن بر روی کروموزوم 1B در موقعیت ۸۴ سانتی‌مورگان مشاهده شد که بیانگر اثر پلیوتروپی این QTL بر روی این دو صفت می‌باشد. بنابراین می‌توان گزینش هم‌زمان را برای صفات فوق انجام داد. در مطالعه حاضر بعضی لوکوس‌ها فقط یک صفت را کنترل کردند برای مثال لوکوس $F|0--|$ 43:A>C ۹۹۲۵۳۱ وزن هزار دانه را در شرایط آبیاری تکمیلی و لوکوس $F|0--37:T>C|$ ۱۰۸۷۲۰۱ تعداد دانه در سنبله را در شرایط دیم تحت تاثیر قرار دادند. در تحقیقی، از کروموزوم 5B به عنوان لنگرگاه یک ناحیه که چندین صفت آگرونومیک از جمله تعداد گلچه در هر سنبله، ارتفاع بوته، روز تا رسیدن و طول سنبله را کنترل می‌کند، نام برده شده است (Edae *et al.*, 2017; Mwadzingeni *et al.*, 2014). بعضی لوکوس‌ها فقط یک صفت را تحت تاثیر قرار می‌دهند. برای مثال دو لوکوس $|013.546408570|977308|977308$ 2B و $|023.182120080|1251215|1251215$ ارتفاع بوته را نسبت به دیگر صفات ارزیابی شده در مطالعه حاضر تحت تاثیر قرار دادند (Mwadzingeni *et al.*, 2017). در پژوهش حاضر کروموزوم 5B نواحی ژنومیک مرتبط با صفات روز تا سنبله‌دهی و طول سنبله (شرایط آبیاری تکمیلی) و ارتفاع بوته، محتوای آب نسبی و خوانش SPAD (شرایط دیم) را حمل می‌نماید. شرایط آبیاری تکمیلی نشان داد QTL‌های صفات ارتفاع بوته ($F|0--|$) 1125680 F|0--7:A>G| و طول پدانکل ($8:G>A$ 1092041) با فاصله‌های ۱۵۳ و ۱۶۴ سانتی-مورگان بر روی کروموزوم 2B شناسایی گردیدند که می‌توان کروموزوم 2B را جایگاه ژن‌های کنترل کننده این صفات دانست. در پژوهش الکساندر و همکاران (Alexander *et al.*, 2012) و پینتو و همکاران (Pinto

et al., 2010) گزارش کردند نشانگری که صفت ارتفاع بوته را کنترل می‌کرد با نواحی ژنومیک بر روی کروموزوم 2B مرتبط بود ولی در مطالعه متوز و همکاران (Mathews *et al.*, 2008) نشانگر کنترل کننده صفت ارتفاع بوته مرتبط با نواحی ژنومیک بر روی کروموزوم‌های 1B و 5A گزارش شد. در شرایط دیم بر روی کروموزوم 1B سه QTL مربوط به صفات روز تا خوشه شکم ($F|0--32:T>C|$) ۲۲۷۸۳۳۲ و $F|0--30:A>G|$ ۹۹۳۳۰۷ و روز تا رسیدن ($F|0--100202447|F|0--23:C>G|$) ۱۰۵۶۷۸۶ بترتیب با فاصله‌های ۳۱۵، ۳۱۸ و ۸۴ سانتی‌مورگان شناسایی گردیدند. بنابراین می‌توان کروموزوم 1B را جایگاه ژن‌های کنترل کننده صفات روز تا خوشه شکم و روز تا رسیدن برشمرد. پلگ و همکاران (Peleg *et al.*, 2009) در پژوهشی لوکوسی که بر روی روز تا سنبله‌دهی اثر می‌گذارد را بر روی کروموزوم 5A در شرایط تنش گزارش کردند. هم‌چنین بر روی کروموزوم 5A دو QTL مربوط به صفات تعداد دانه در هر سنبله ($F|0--|$) 1087201 F|0--37:T>C| و عملکرد دانه ($21:C>T$) ۲۲۵۶۳۴۶ بترتیب با فاصله‌های ۲۵۱ و ۱۵ سانتی‌مورگان در شرایط دیم شناسایی گردید. بنابراین می‌توان کروموزوم 5A را جایگاه ژن‌های کنترل کننده صفات تعداد دانه در هر سنبله و عملکرد دانه برشمرد. در گزارشی کروموزوم 5D به عنوان لنگرگاهی برای صفت عملکرد دانه گزارش شد (Quarrie *et al.*, 2005). یک ارتباط نشانگر صفت برای وزن هزار دانه بر روی کروموزوم 7B گزارش شد (Laido *et al.*, 2014; Mwadzingeni *et al.*, 2017) که با نتایج ما همراستا نبود.

به طور معمول نواحی QTL‌ی که بر روی یک صفت ویژه تحت شرایط تنش اثر می‌گذارند، می‌توانند صفت را تحت شرایط عدم تنش کنترل کنند (Mathews *et al.*, 2008). این حالت در مطالعه حاضر دیده نشد. در حالت ایده‌آل اثرات چنین لوکوس‌هایی ممکن است بوسیله تغییر در محیط خارجی تحت تاثیر قرار نگیرد.

شرایط دیم نشانگر $F|0--58:T>C|$ ۱۰۰۴۶۹۶ که صفت طول سنبله را کنترل می‌کند با نشانگری با شماره دسترسی XM_037608049.1 به میزان ۱۰۰٪ در سایت NCBI شباهت داشت. در شرایط دیم نشانگر $F|0--58:A>G|$ ۱۲۵۲۹۰۱ که صفت شاخص برداشت را کنترل می‌کند با سه نشانگر با شماره‌های دسترسی XM_037594829.1، XR_002231703.1 و XR_005773005.1 بترتیب به میزان از ۹۸/۵۵٪ و ۹۸/۰۸٪ در سایت NCBI شباهت داشت.

نتیجه‌گیری

ارتباطات نشانگر صفت برای شناسایی نواحی ژنومی، که مرتبط با صفات فنوتیپی با اهمیت برای اصلاح می‌باشند، کلیدی است. مطالعه حاضر ۶۴ و ۶۱ (بترتیب در شرایط آبیاری تکمیلی و دیم) ارتباطات نشانگر صفت معنی‌داری را شناسایی نمود (جدول ۴). فقط یک نشانگر با صفات دوره پر شدن دانه، محتوای آب نسبی و شاخص برداشت در شرایط آبیاری تکمیلی و ارتفاع بوته، طول پدانکل، طول برگ پرچم، طول سنبله و عملکرد دانه در شرایط دیم مرتبط بودند. به جز صفت محتوای آب نسبی، دیگر صفات وراثت پذیری متوسط و بیشتر از متوسطی را نشان دادند. علت اینکه وراثت پذیری عمومی صفت محتوای آب نسبی در هر دو شرایط کمتر از متوسط بوده است احتمال می‌رود به خاطر اثرات محیطی بوده است که بیشتر از اثرات ژنتیکی بر روی صفت اثر گذاشته‌اند و سبب بزرگ شدن واریانس فنوتیپی و در نتیجه کوچک شدن آن گردیده است. در مطالعه حسینی و همکاران (Hosseini et al., 2015) مقادیر وراثت پذیری عمومی صفت محتوای آب نسبی در شرایط تنش و عدم تنش (بترتیب ۱۷ و ۲۹) از دیگر صفات تحت مطالعه کمتر گزارش شد در حالی که در پژوهش علی سعید (Ali Said, 2014) مقدار وراثت پذیری عمومی بالا گزارش شد. نشانگرهای شناسایی شده در این مطالعه منابع ژنومیک سودبخشی

هنگامی که اصلاح برای سازگاری وسیع مد نظر است چنین نواحی ژنومیکی می‌توانند در ارتباطات نشانگر صفت یا پل تلاقی سودمند باشند. در مطالعه حاضر نشانگرهای $F|0--14:C>T|$ ۱۰۱۱۱۱۵ با صفات ارتفاع بوته و طول پدانکل بر روی کروموزوم 1A، نشانگر $F|0--28:G>A|$ ۱۰۲۰۱۴۰ بر روی کروموزوم 2B با صفات تعداد دانه در سنبله و عملکرد دانه و نشانگر $F|0--54:T>A|$ ۹۸۱۵۶۴ بر روی کروموزوم 5D با صفات روز تا رسیدن و دوره پر شدن دانه، فقط در شرایط آبیاری تکمیلی مرتبط بودند. از طرف دیگر بعضی مکان‌های ژنی ممکن است صفات ویژه‌ای را به طور متفاوت در مجموعه‌های مختلفی از محیط‌های رشدی تحت تاثیر قرار دهند، در نتیجه هنگامی که شرایط محیطی تغییر می‌کند، نشانگرها یا لوکوس‌ها به طور ناموافق و متناقض با صفات ویژه‌ای مرتبط می‌شوند که این منجر به شناسایی نشانگرها یا لوکوس‌هایی می‌شوند که اطمینان اندکی به نتایج تجزیه ارتباط آن-ها خواهد بود (Mwadzingeni et al., 2017). این حالت مشاهده شد برای نشانگر $F|0--10:A>T|$ ۹۹۶۲۷۵ بر روی کروموزوم 3B که با صفات روز تا خوشه شکم (در شرایط آبیاری تکمیلی) و خوانش SPAD (در شرایط دیم) مرتبط بود. در شرایط آبیاری تکمیلی نشانگر $F|0--61:A>C|$ ۱۱۹۳۷۳۸ که صفت تعداد روز تا سنبله‌دهی را کنترل می‌کند با نشانگری با شماره دسترسی^۱ XM_037589331.1 به میزان ۹۸/۵۵٪ در سایت NCBI^۲ شباهت داشت. در مطالعه دیگری مارکرهایی که با صفت روز تا سنبله‌دهی مرتبط بودند نزدیک به ۱۰۰٪ تشابه با گونه‌های دیگر گیاهی مانند ذرت جارو (*Sorghum bicolor*) و برنج (*Oryza sativa*) دیده شد (Mwadzingeni et al., 2017). در شرایط آبیاری تکمیلی نشانگر $F|0--28:G>A|$ ۱۰۲۰۱۴۰ که صفت عملکرد دانه را کنترل می‌کند با نشانگری با شماره دسترسی XM_037633812.1 به میزان ۹۸/۵۳٪ در سایت NCBI شباهت داشت. در

² National Center for Biotechnology Information

¹ Accession number

استفاده از یک جمعیت بزرگتر تعیین اعتبار نماییم. هم‌چنین کاربرد مدل مخلوط چند لوکوسی (MLMM) همان‌طور که سگورا و همکاران (Segura et al., 2012) پیشنهاد دادند، می‌تواند تشخیص ارتباطات را افزایش دهد.

هستند تا بتوانیم گزینش به کمک نشانگر و پل تلاقی صفت را در گندم تحت شرایط تنش و عدم تنش آغاز نماییم و نیز آن‌ها را برای نقشه‌یابی دقیق و کلون نمودن ژن‌ها و QTL‌های زمینه‌ای بکار بریم. ناگفته نماند مطالعات بیشتری نیاز است تا نشانگرهای معنی‌داری را که در پژوهش حاضر شناسایی شدند با

منابع

- Ali Said A. 2014. Generation mean analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress conditions. *Annals of Agricultural Science*. 59(2): 177–184.
- Alexander LM, Kirigwi FM, Fritz AK, Fellers JP. 2012. Mapping and quantitative trait loci analysis of drought tolerance in a spring wheat population using amplified fragment length polymorphism and Diversity Array Technology markers. *Crop Science*. 52(1): 253-61.
- Al-Maskri AY, Sajjad M, Khan SH. 2012. Association Mapping: A Step Forward to Discovering New Alleles for Crop Improvement. *International Journal of Agriculture & Biology*. 14: 153–160.
- Asseng S, Ewert F, Martre P, Rötter R, Lobell D, Cammarano D, et al. 2015. Rising temperatures reduce global wheat production. *Nature Climate Change*. 5(2):143-7.
- Baird SJ. 2015. Exploring linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*. 15(5): 1017-9. doi: 10.1111/1755-0998.12424P MID: 26261040
- Baloch M, Baloch E, Jatoi W, Veasar N. 2013. Correlations and heritability estimates of yield and yield attributing traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering and Veterinary Sciences (PJAAEVS)*. 29(2): 96-105.
- Bartlett MS. 1937. Properties of sufficiency and statistical tests. In *Proceedings of the Royal Statistical Society, Series A*, 160, 268–282 JSTOR 96803.
- Benjamini Y, Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of royal statistical society*. 57: 289-300.
- Berkman PJ, Lai K, Lorenc MT, Edwards D. 2012. Next-generation sequencing applications for wheat crop improvement. *American Journal of Botany*. 99(2): 365-71. doi: 10.3732/ajb.1100309P MID: 22268223
- Berkman PJ, Visendi P, Lee HC, Stiller J, Manoli S, Lorenc MT, Lai K, Batley J, Fleury D, Šimková H, Kubalaková M. 2013. Dispersion and domestication shaped the genome of bread wheat. *Plant biotechnology journal*. 11(5), pp.564-571.
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*. 23(19), pp.2633-2635.
- Breseghele F, Sorrells, ME. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*. 172 (2), pp.1165-1177.
- Chao S, Dubcovsky J, Dvorak J, Luo MC, Baenziger SP, Matnyazov R, Clark DR, Talbert LE, Anderson JA, Dreisigacker S, Glover K. 2010. Population- and genome-specific patterns of linkage disequilibrium and SNP variation in spring and winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC genomics*. 11(1), p.1.
- Dholakia B, Ammiraju J, Singh H, Lagu M, Roder M, Rao V, et al. 2003. Molecular marker analysis of kernel size and shape in bread wheat. *Plant Breeding*. 122(5): 392-5.
- Eade EA, Byrne PF, Haley SD, Lopes MS, Reynolds MP. 2014. Genome-wide association mapping of yield and yield components of spring wheat under contrasting moisture regimes. *Theoretical and applied genetics*. 127 (4): 791-807. doi: [10.1007/s00122-013-2257-8](https://doi.org/10.1007/s00122-013-2257-8) PMID: [24408378](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24408378/)
- El-Feki W. 2010. Mapping quantitative trait loci for bread making quality and agronomic traits in winter wheat under different soil moisture levels. Ph.D. dissertation, Colorado State University, U.S.A.
- Gupta PK, Singh Balyan H, Gahlaut V. 2017. QTL Analysis for Drought Tolerance in Wheat: Present Status and Future Possibilities. *Agronomy*. 7, 5; doi: [10.3390/agronomy7010005](https://doi.org/10.3390/agronomy7010005).

- Hatamzadeh H, Golkari S, Bernousi I, Mohammadi R, Singh SW. 2022. Study on Relationships among Bread Wheat Landraces from Geographical Origins across Iran under Supplemental Irrigation and Rain-Fed Conditions. *Journal of Agroecology*. 4(13): 653-668 (in Persian). DOI: 10.22067/jag.v13i4.88501.
- Hosseini B, Majidi MM, Mirlohi A. 2015. Genetic analysis of some physiological traits in polycross populations of *Dactylis glomerata* under normal and drought conditions. *Plant Process and Function*. 4(11): 113-126 (in Persian).
- Hussain W, Baenziger PS, Belamkar V, Guttieri MJ, Venegas JP, Easterly A, Sallam A, Poland J. 2017. Genotyping-by-sequencing derived high-density linkage map and its application to QTL mapping of flag leaf traits in bread wheat. *Scientific Reports*. 7:16394. doi: 10.1371/journal.pone.0019379.
- Hu X, Ren J, Ren X, Huang S, Sabiel SAI, Luo M, Eviatar Nevo E, Chunjie Fu, C, Junhua Peng J., Sun D. 2015. Association of Agronomic Traits with SNP Markers in Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. durum (Desf.)). *PLOS ONE*. 10(6): 1-23. e0130854. doi: 10.1371/journal.pone.0130854.
- Kashif M, Khaliq I. 2004. Heritability, correlation and path coefficient analysis for some metric traits in wheat. *International Journal of Agriculture & Biology*. 6(1): 138-42.
- Kuchel H, Williams K, Langridge P, Eagles H, Jefferies S. 2007. Genetic dissection of grain yield in bread wheat. I. QTL analysis. *Theoretical and applied genetics*. 115(8): 1029-41. doi: 10.1007/s00122-007-0629-7 PMID: 17713755
- Kumar S, Banks TW, Cloutier S. 2012. SNP discovery through nextgeneration sequencing and its applications. *International journal of plant genomics*, 2012.
- Laido G, Marone D, Russo MA, Colecchia SA, Mastrangelo AM, De Vita P, et al. 2014. Linkage disequilibrium and genome-wide association mapping in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *PIOS ONE*. 9(4): e95211. doi: 10.1371/journal.pone.0095211 PMID: 24759998
- Langridge P, Reynolds MP. 2015. Genomic tools to assist breeding for drought tolerance. *Current Opinion in Biotechnology*. 32:130-5. doi: [10.1016/j.copbio.2014.11.027](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.027) PMID: 25531270
- Liu Z, El-Basyoni I, Kariyawasam G, Zhang G, Fritz A, Hansen J, Marais F, Friskop A, Chao S, Akhunov E, Baenziger PS. 2015. Evaluation and association mapping of resistance to tan spot and stagonospora nodorum blotch in adapted winter wheat germplasm. *Plant Disease*. 99:1333-1341.
- Lobell DB, Schlenker W, Costa-Roberts J. 2011. Climate trends and global crop production since 1980. *Science*. 333(6042):616-20.
- Mathews KL, Malosetti M, Chapman S, McIntyre L, Reynolds M, Shorter R, et al. 2008. Multi-environment QTL mixed models for drought stress adaptation in wheat. *Theoretical and applied genetics*. 117(7): 1077-91. doi: 10.1007/s00122-008-0846-8 PMID: 18696042
- Mobley AR, Slavin JL, Hornick BA. 2013. The future of recommendations on grain foods in dietary guidance. *Journal of Nutrition*. 143(9):1527-32.
- Mwadingeni L, Shimelis H, Rees DJG, Tsilo TJ. 2017. Genome-wide association analysis of agronomic traits in wheat under drought stressed and non-stressed conditions. *PLOS ONE*. 12(2): e0171692. doi:10.1371/journal.pone.0171692
- Neumann K, Kobiljski B, Denčić S, Varshney RK, Börner A. 2011. Genome-wide association mapping: a case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*. 27(1): 37-58.
- Nielsen NH, Backes G, Stougaard J, Andersen SU, Jahoor A. 2014. Genetic diversity and population structure analysis of European hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *PLOS ONE* 9:e94000. doi: 10.1371/journal.pone.0094000.
- Pask AJD, Pietragalla J, Mullan D, Reynolds MP. 2012. Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping. *International Wheat and Maize Improvement Centre (CIMMYT)*, DF, Mexico.
- Peleg Z, Fahima T, Krugman T, Abbo S, Yakir D, Korol AB, et al. 2009. Genomic dissection of drought resistance in durum wheat × wild emmer wheat recombinant in breed line population. *Plant Cell Environ*. 32(7): 758-79. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.01956.x PMID: 19220786
- Pinto RS, Reynolds MP, Mathews KL, McIntyre CL, Olivares-Villegas JJ, Chapman SC. 2010. Heat and drought adaptive QTL in a wheat population designed to minimize confounding agronomic effects. *Theoretical and Applied Genetics*. 121: 1001-1021.
- Quarrie SA, Quarrie SP, Radosevic R, Rancic D, Kaminska A, Barnes JD, Leverington M, Ceoloni C, Dodig D. 2006. Dissecting a wheat QTL for yield present in a range of environments: from the QTL to candidate genes. *Journal of Experimental Botany*. 57(11): 2627-2637.

- Quarrie S, Steed A, Calestani C, Semikhodskii A, Lebreton C, Chinoy C, et al. 2005. A high-density genetic map of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) from the cross Chinese Spring × SQ1 and its use to compare QTLs for grain yield across a range of environments. *Theoretical and applied genetics*. 110(5): 865-80. doi: 10.1007/s00122-004-1902-7 PMID: 15719212
- Racedo J, Gutiérrez L, Perera MF, Ostengo S, Pardo EM, Cuenya MI, Welin B, Castagnaro AP. 2016. Genome-wide association mapping of quantitative traits in a breeding population of sugarcane. *BMC Plant Biology*. 16: 1–16.
- Sajjad M, Khan SH, Ahmad MQ, Rasheed A, Mujeeb-Kazi A, Khan IA. 2014. Association mapping identifies QTLs on wheat chromosome 3A for yield related traits. *Cereal Research Communications*. 42:177–188.
- Segura V, Vilhjalmsson BJ, Platt A, Korte A, Seren UÈ, Long Q, et al. 2012. An efficient multi-locus mixed-model approach for genome-wide association studies in structured populations. *Nature genetics*. 44(7): 825-30.
- Singh S, Bowden RL. 2011. Molecular mapping of adult-plant race-specific leaf rust resistance-gene Lr12 in bread wheat. *Molecular Breeding*. 28: 137–142. doi: 10.1007/s11032-010-9467-4
- Shukla S, Singh K, Patil RV, Kadam S, Bharti S, Prasad P, Singh NK, Khanna-Chopra R. 2015. Genomic regions associated with grain yield under drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*. 203: 449-467.
- Tsilo TJ, Hareland GA, Simsek S, Chao S, Anderson JA. 2010. Genome mapping of kernel characteristics in hard red spring wheat breeding lines. *Theoretical and applied genetics*. 121(4): 717-30. doi: 10.1007/s00122-010-1343-4 PMID: 20425103
- Tuberosa R, Salvi S. 2006. Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. *Trends Plant Science*. 11(8):405-12. doi: [10.1016/j.tplants.2006.06.003](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.003) PMID: [16843036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16843036/)
- Valizadeh M, Moghaddam M. 1998. Introduction to quantitative genetics. Nashr Center Publications. Tehran University. 548 pp.
- Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang E, Maccaferri M, Salvi S, Milner S, Cattivelli L, Mastrangelo AM, Whan A, Stephen S, Barker G, Wieseke R, Plieske J, IWGSC, Lillemo M, Mather D, Appels R, Dolferus R, Brown-Guedira G, Korol A, Akhunova AR, Feuillet C, Salse J, Morgante M, Pozniak C, Luo M, Dvorak J, Morell M, Dubcovsky J, Ganai M, Tuberosa R, Lawley C, Mikoulitch I, Cavanagh C, Edwards KJ, Hayden M, Akhunov E. 2014. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90,000 SNP array. *Plant Biotechnology Journal*. 12 (6): 787-796. doi: 10.1111/pbi.12183.
- Warburton ML, Crossa J, Franco J, Kazi M, Trethowan R, Rajaram S, Pfeiffer W, Zhang P, Dreisigacker S, Van Ginkel M. 2006. Bringing wild relatives back into the family: recovering genetic diversity in CIMMYT improved wheat germplasm. *Euphytica*. 149(3): 289-301.
- Xu Y. 2010. Molecular plant breeding. CABI 2010.
- Yu J, Holland JB, McMullen MD, Buckler ES. 2008. Genetic design and statistical power of nested association mapping in maize. *Genetics*. 178: 539–551.
- Zhang, X, Pérez-Rodríguez P, Semagn K, Beyene Y, Babu R, López-Cruz MA, San Vicente F, Olsen M, Buckler E, Jannink JL, Prasanna BM, Crossa J. 2015. Genomic prediction in biparental tropical maize populations in water-stressed and well-watered environments using lowdensity and GBS SNPs. *Heredity*. 114: 291–299. doi: 10.1038/hdy.2014.99

Doi: 10.22092/idaj.2022.359560.378

Genome-wide association analysis of agronomic traits in wheat under supplemental irrigation and rain-fed conditions

Hossein Hatamzadeh^{1*}, Reza Mohammadi², Iraj Bernousi³, Saber Golkari⁴, Sukhwinder Singh⁵

1. Dryland Agricultural Research Station, North Khorasan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shirvan, Iran.
2. Dryland Agricultural Research Institute, Sararood Branch, AREEO, Kermanshah, Iran.
3. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
4. Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (ARREO), Karaj, Iran.
5. Crop Improvement Department, Washington University, USA.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Genome-wide association studies (GWAS) and quantitative trait locus (QTL) gene mapping are two main approaches that describe the genetic basis of complex traits very precisely. Therefore, identification of important agronomic traits and the use of beneficial agronomic and breeding methods in achieving high yield can be fruitful. This research was conducted to determine genome-wide trait-marker associations for key agronomic traits in wheat, in order to breed for drought tolerance.

Materials and Methods: 249 landraces of Iranian bread wheat from throughout Iran were collected and compared under supplemental irrigation and rain-fed conditions at the deputy Dryland Agriculture Research Station (Kermanshah, Iran). During the growing season and after harvesting, data related to phenological, morphological and physiological traits were recorded and measured. The experiment data were analyzed based on unbalanced combined analysis of variance. DNA was extracted by Singh and Bowden method. Finally, after filtering, 1890 SNP markers were used. Association analysis was done with TASSEL 5 software. Manhattan diagrams were drawn with R software.

Research findings: Association analysis with MLM method identified 64 and 61 QTLs numbers in supplementary irrigation and rainfed conditions, respectively. The results showed that the linkage disequilibrium among chromosomes is variable and with increasing genetic distance, the linkage disequilibrium decreasing. Some traits were controlled by common QTLs, which is a proof of the existence of pleiotropic effects of a gene, and simultaneous selection can be done for those traits. The markers who identified in this study are useful genomic resources.

Key Words: Wheat, Drought Stress, Association Analysis, SNP

* Corresponding author: hosseihatamzadeh@gmail.com Submit date: 2023/02/17 Accept date: 2023/05/01