Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 48, Winter 2024 p: 164-177

"Research Paper"

Studying the Population Structure of Spring Wheat Genotypes and Analysis of Marker-Trait Association under Water Deficit Conditions

Ahmad Majidi-Mehr[1], Mohammadhadi Pahlavani[2], Khalil Zaynali-Nezhad[2], Rahmatollah Karimizadeh[3] and Andreas Börner[4]

1- Ph. D. Postgraduate, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. (Corresponding author: ahmadmajidi1364@yahoo.com)
2- Associate Professor and Assistant Professor in Plant Breeding and Biotechnology Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3- Dryland Agricultural Research Institute, Kohgiloyeh and Boyerahmad Agricultural and Natural Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Research Organization (AREEO), Gachsaran, Iran
4- Professor Genebank Department, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK).
Received: 12 February, 2023 Accepted: 3 June, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Water deficit stress is a serious threat to food security worldwide. Association mapping is a suitable method to identify the location of quantitative traits based on linkage disequilibrium, which is highly effective in describing complex genetic traits. This study aimed to evaluate the population structure and the SNP markers association morphological traits of spring wheat genotypes under water deficit stress conditions.

Material and Methods: In this research, genome-wide association mapping was done for 111 spring wheat genotypes. Phenotyping evaluation was done in the form of a simple lattice design with two replications in the agricultural year 2020-2021 under non stress and water deficit stress conditions in the experimental field of Gachsaran Rain-fed Agricultural Research Station in Iran. Genotyping of the samples was done using SNP markers (15 K SNP array) in Trait-Genetic company in Germany. Each genotype was evaluated using 15 thousand SNP markers. The obtained SNP data were filtered in terms of MAF indices (minor allele frequency) and missing data (Missing data >10%). From each of the 21 pairs of bread wheat homologous chromosomes, seven SNP markers with no missing data and with suitable distribution were selected (147 markers in total) to determine the structure of the studied population (Q matrix) using STRUCTURE 2.3 software and the number of groups (K) was identified. The studied traits were flag leaf area, number of nodes, first internode length, number of tiller per plant, number of fertile tillers per plant, number of infertile tiller per plant, and spike weight. Genome-wide association mapping using TASSEL 5.0 software and the general linear model (GLM) method with Q matrix and decomposition into principal components with more than 80% justification (PCA) with 52 components was used.

Results: The results of the analysis of variance showed that there was an acceptable genetic variation in terms of all studied traits and also the reaction of genotypes was different in facing water deficit stress.

In the water deficit stress condition, chromosome 2A had the maximum significant correlation with 39 and chromosome 5A had the minimum association marker with the trait with four. In the of water stress conditions, three bread wheat genomes (A, B, and D) accounted for 53, 36, and 11% of the frequency of marker-trait association, respectively. A and D genomes of bread wheat under water deficit stress conditions ratio to non-stress conditions assigned a more prominent role for the examined traits. In total in the non-stress and water deficit stress condition 180 and 111 marker trait association (MTA) were identified respectively. In the water deficit stress conditions, the number of correlations with markers for flag leaf area, first internode length, tiller of number per plant, and spike weight were 17, 24, 10 and 19, respectively. In the water deficit stress condition, the frequency of significant marker association more significant than in non-stress condition for traits of first internode and fertile tiller of number per plant. Three bread wheat genomes showed an unequal contribution for the studied traits in terms of the number of identified marker-trait associations (MTA). Also, genome A had a significant contribution to grain yield under water stress conditions with 74% of significant correlations between the marker and the spike weight trait.

Conclusion: Finally, the MTAs identified in the present study can be used in the development of wheat breeding programs under water deficit conditions especially gene pyramiding or marker-assisted selection.

Keywords: General linear model, Marker,Marker-trait association, *Triticum aestivum* L.

"مقاله پژوهشی"

مطالعه ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم بهاره و تجزیه ارتباط نشانگر- صفت تحت شرایط کم‌آبی

احمد مجیدی‌مهر[۱]، محمد هادی پهلوانی[۲]، خلیل زینلی‌نژاد[۲]، رحمت‌الله کریمی‌زاده[۳] و آندریاس بورنر[۴]

۱- دانش‌آموخته دکتری ژنتیک و بهنژادی گیاهی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: ahmadmajidi1364@yahoo.com)
۲- به‌ترتیب دانشیار و استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳- مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گچساران، ایران
۴- استاد، مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی لایبنیز آلمان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۳
صفحه: ۱۶۴ تا ۱۷۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش کم‌آبی یک تهدید جدی برای امنیت غذایی در سراسر جهان است. نقشه‌یابی ارتباطی روش مناسبی جهت شناسایی جایگاه صفات کمی بر اساس عدم تعادل پیوستگی است که در تشریح نحوه توارث صفات پیچیده ژنتیکی کارآیی بالایی دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط نشانگرهای SNP با صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های گندم بهاره در شرایط تنش کم‌آبی بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم برای ۱۱۱ ژنوتیپ گندم بهاره انجام شد. ارزیابی فنوتایپینگ در قالب طرح لاتیس ساده با دو تکرار در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم گچساران تحت دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی صورت گرفت. ژنوتایپینگ نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای SNP (15 K SNP array) در شرکت TraitGenetic در کشور آلمان صورت گرفت. هر ژنوتیپ با استفاده از ۱۵ هزار نشانگر SNP مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های SNP به دست آمده از نظر شاخص‌هایMAF و داده‌های از دست رفته (Missing data >10%) فیلتر شدند. از هر یک از ۲۱ جفت کروموزوم همولوگ گندم نان، هفت نشانگر SNP فاقد داده گم‌شده و با توزیع مناسب انتخاب (۱۴۷ نشانگر در مجموع) شد. حصول ماتریس Q و تعیین تعداد گروه‌ها (K) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE 2.3 صورت گرفت. صفات مورد مطالعه سطح برگ پرچم، تعداد گره، طول اولین میان‌گره، تعداد پنجه در بوته، تعداد پنجه بارور در بوته، تعداد پنجه نابارور در بوته و وزن سنبله اندازه‌گیری شد. برای نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 5.0 و روش مدل خطی عمومی (GLM) همراه با ماتریس Q و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با توجیه بیش از ۸۰ درصد (PCA) با ۵۲ مؤلفه استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از نظر کلیه صفات مورد مطالعه تنوع ژنتیکی قابل قبولی وجود داشت و همچنین واکنش ژنوتیپ‌ها در مواجهه با تنش کم‌آبی متفاوت بود. در شرایط عدم تنش آبی کروموزوم 2A با ۳۹ عدد بیشترین ارتباط معنی‌دار و کروموزوم 5A با چهار عدد کمترین ارتباط نشانگر با صفت را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش کم‌آبی ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A، B و D) به‌ترتیب هر یک ۵۳، ۳۶ و ۱۱ درصد فراوانی ارتباط نشانگر با صفت را به خود اختصاص دادند. ژنوم‌هایA و D گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی نسبت به شرایط عدم تنش نقش بارزتری را برای صفات مورد بررسی به خود اختصاص دادند. در مجموع در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به‌ترتیب ۱۸۰ و ۱۱۱ ارتباط نشانگر با صفت (MTA) شناسایی شد. در شرایط تنش کم‌آبی تعداد ارتباط با نشانگر برای صفات سطح برگ پرچم، طول اولین میان‌گره، تعداد پنجه در بوته و وزن سنبله به‌ترتیب ۱۷، ۲۴، ۱۰ و ۱۹ بود. در شرایط تنش کم‌آبی فراوانی ارتباط معنی‌دار نشانگر بیشتری نسبت به شرایط عدم تنش آبی برای صفات طول اولین میان‌گره و تعداد پنجه بارور در بوته مشاهده گردید. ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان از نظر تعداد ارتباط نشانگر با صفت (MTA) شناسایی شده، سهم نابرابری را برای صفات مورد مطالعه نشان دادند. همچنین ژنوم A با برخورداری از ۷۴ درصد از ارتباطات معنی‌دار نشانگر با صفت وزن سنبله، سهم بسزایی در عملکرد دانه تحت شرایط تنش کم‌آبی داشت.

نتیجه‌گیری: در نهایت MTAهای شناسایی شده در مطالعه حاضر می‌تواند در توسعه برنامه‌های به‌نژادی گندم در شرایط تنش کم‌آبی به‌ویژه هرمی ساختن ژن‌ها و یا انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار بگیرند.

واژه‌های کلیدی: ارتباط نشانگر با صفت، مدل خطی عمومی، نشانگر، *Triticum aestivum* L.

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از گونه‌های تیره غلات می‌باشد که تولید جهانی آن در سال ۲۰۲۰ به ۷۷۰/۹۰ میلیون تن بالغ شده است (FAOSTAT, 2021). پیش‌بینی می‌شود که جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به بیش از نه میلیارد نفر برسد که در آن صورت حداقل به ۶۰ درصد افزایش در عملکرد گندم نیاز است (۵۰). برای دستیابی به این افزایش در عملکرد گندم لازم است نرخ بهبود کنونی که حدود یک درصد در سال است به حداقل ۱/۶ درصد ارتقاء پیدا کند (Lucas, 2012). این امر بیشتر با پیش‌بینی الگوهای غیرقابل پیش‌بینی بارندگی، مرتبط با تغییرات آب و هوایی که منجر به وقوع خشک‌سالی بیشتر می‌شود به چالش کشیده می‌شود (IPCC, 2013). با این حال میزان بهبود عملکرد نهایی، به مرحله رشد، شدت و طول وقایع تنش بستگی دارد (Daryanto et al., 2016; Sarto et al., 2017)؛ مانند بسیاری از محصولات دیگر، خشک‌سالی روی گندم در تمام مراحل رشد تأثیر می‌گذارد (Saeidi and Abdoli, 2015; Wang et al., 2015; Ding et al., 2018). طبق آمارنامه محصولات زراعی ایران در سال زراعی ۱۳۹۸، بیشترین میزان تولید دیم از بین محصولات زراعی مربوط به محصول گندم با تولید در حدود ۵/۲۳ میلیون تن و سهم ۶۵/۹۲ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی دیم بود که استان‌های کردستان (۱۸/۰۱ درصد)، گلستان (۱۴/۶۷ درصد)،

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

آذربایجان شرقی (۸/۲۹ درصد)، کرمانشاه (۷/۸۹ درصد) و همدان (۷/۰۲ درصد) در رتبه‌های اول تا پنجم تولیدکنندگان کشور قرار داشتند. این پنج استان در حدود ۵۵/۸۸ درصد از کل تولیدکنندگان گندم دیم در این سال را تأمین نموده‌اند (Agricultural Statistics, 2019).

تنش‌های محیطی شامل گرما، شوری و خشکی تقریباً در تمام جنبه‌های گیاه از مرحله جوانه‌زنی تا مرحله رسیدگی تأثیر می‌گذارند (Nadeem et al., 2019). تنش کم‌آبی یک تهدید جدی و غیرقابل پیش‌بینی‌ترین محدودیتی است که اثرات نامطلوب فراوانی روی تولید محصولات زراعی در سراسر دنیا بر جای می‌گذارد (Anjum et al., 2017; Hussain et al., 2018). تنش کم‌آبی با ایجاد اختلال در فعالیت‌های مختلف گیاهی نظیر آسیمیلاسیون کربن، کاهش تورژسانس، افزایش تخریب اکسیداتیو و تغییر در تبادل گاز برگ اثرات مخرب زیادی را روی گیاهان ایجاد می‌کند و در نهایت منجر به کاهش عملکرد می‌شود (Hussain et al., 2018; Chowdhury et al., 2016). حساسیت گیاه به خشکی یک پدیده است و به عوامل متعددی از جمله مرحله رشد گیاه، پتانسیل ژنتیکی گیاه، طول و شدت تنش بستگی دارد (Zhu, 2002). همچنین خشکی بر رشد برگ، فعالیت آنزیم‌ها، تعادل یونی تأثیر می‌گذارد و در نهایت منجر به کاهش عملکرد می‌گردد (Todaka et al., 2017; Anjum et al., 2017). بر اساس گزارشات پژوهشگران مختلف تنش کم‌آبی در مرحله آبستنی (۲۰/۷۴٪ (Schneekloth et al., 2009))، طول سنبله (۱۶/۹۰٪ (Rizza et al., 2004))، پنجه‌زنی (۴۶/۸۵٪ (Rizza et al., 2004))، مرحله تشکیل دانه (۶۵/۵۰٪ (Sivamani et al., 2000; Tuberosa and Salvi, 2006) و تعداد دانه در مرحله گرده‌افشانی (۶۴/۴۶٪ (Rizza et al., 2004)) سبب کاهش عملکرد گندم می‌شود.

نشانگرهای مولکولی ابزارهای ارزشمندی برای به‌نژادگران گیاهی بویژه در جنبه‌های فیزیولوژی هستند که به کمک آن‌ها ژن‌های کنترل کننده صفاتی نظیر تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده را شناسایی شده و اعمال روش‌های دست‌ورزی ژنتیکی را آسان‌تر می‌نمایند. بهره‌گیری از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های به‌نژادی از طریق مطالعه ژن‌های مؤثر در صفات تحمل به تنش خشکی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده این صفات و گزینش این ژن‌ها صورت می‌گیرد. نشانگرهای ژنتیکی در نزدیکی ژن‌های هدف قرار داشته و ضمن اینکه معمولاً اثری بر فنوتیپ فرد ندارند، مکان مشخصی را در طول ژنوم به خود اختصاص می‌دهند (Mirmohammad-Meibodi et al., 2015). نقشه‌یابی QTL به‌طور گسترده برای کشف معماری ژنتیکی صفات مهم زراعی مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا اکثریت آن‌ها به‌وسیله تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند. با این حال معایب قابل توجهی برای نقشه‌یابی QTL وجود دارد، از جمله وضوح ضعیف و تعداد محدودی از آلل‌ها که ممکن است در هر مطالعه‌ای مورد ارزیابی قرار گیرد. با تولید نقشه‌های پیوستگی با وضوح بالا و روش‌های تعیین ژنوتیپ با قدرت عملیاتی بالا با تعداد داده‌هایی با پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) توانسته است به‌طور چشم‌گیری تراکم نقشه‌یابی QTL را افزایش دهد.

یکی از روش‌های مفید جهت یافتن QTLهای مرتبط با تحمل به تنش خشکی، استفاده از مطالعات نقشه‌یابی ارتباطی[1] است. نقشه‌یابی ارتباطی (AM) به‌واسطه بهره جستن از تنوع موجود در جمعیت‌های طبیعی و لحاظ کردن تمام وقایعی که در طول تکاملی در ژنوم آن‌گونه رخ داده است ارتباط بین تنوع فنوتیپی و چندشکلی موجود در ژنوم را شناسایی می‌کند (Zhu, 2002). همچنین با استفاده از نشانگرهایی با فراوانی و توزیع گسترده‌تر، نسبت به روش QTL mapping از دقت بالاتری برخوردار است (Wang et al., 2014; Falush et al., 2003). مطالعه ارتباطی در سطح ژنوم[2] (GWAS) در گیاه گندم به دلایل بزرگ‌تر بودن ژنوم، توالی ناقص ژنوم و پلی‌پلوئید بودن چالش‌برانگیز است. این‌ها تعیین نشانگرها را برای کروموزوم‌های همولوگ بسیار مشابه را دشوار می‌کند (Sukumaran and Yu, 2014). مطالعه ارتباطی در سطح ژنوم ممکن است فرصتی برای تسریع در شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی را در گندم را فراهم کند (Quraishi et al., 2011). تجزیه و تحلیل نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم (GWAS) بر اساس عدم تعادل پیوستگی متمرکز است که دقت بسیار بالاتری نسبت به نقشه‌یابی QTL متداول با استفاده از جمعیت‌های دو والدینی برای درک در معماری ژنتیکی صفات پیچیده دارد (Li et al., 2019a; Sallam et al., 2022). انتخاب به کمک نشانگر (MAS) به‌عنوان یک تکنیک کلیدی برای شکستن تنگنا[3] اصلاح برای بهبود پتانسیل عملکرد گندم در نظر گرفته می‌شود. پتانسیل کاربرد MAS بستگی به تعداد ژن‌های موجود و نشانگرهای مولکولی با پیوستگی شدید[4] دارد. تا به امروز در حدود ۶۵ ژن در گندم کلون شده است که از این میان ۴۰ ژن با عملکرد دانه و صفات مربوط مرتبط هستند (Liu et al., 2012; Li et al., 2018; Nadolska-Orczyk et al., 2017).

با توجه جایگاه ویژه نقشه‌های ارتباطی در سطح ارتقاء اطلاعات لازم جهت بهنژادی این پژوهش با دو هدف (۱) مطالعه ساختار جمعیت و (۲) ارزیابی ارتباط نشانگرهای SNP با صفات مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های گندم بهاره تحت شرایط تنش کم‌آبی صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

کشت و ارزیابی ژنوتیپ‌ها در مزرعه پژوهشی پردیس تحقیقات و آموزش کشاورزی در شهرستان گچساران از توابع استان کهگیلویه و بویراحمد در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ انجام گرفت. ارتفاع محل آزمایش از سطح دریا ۷۱۰ متر، طول جغرافیایی آن ۵۰ درجه و ۵۰ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۷ دقیقه شمالی می‌باشد. اقلیم محل اجرای آزمایش

1- Association mapping 2- Genome-Wide Association Study 3- Bottleneck 4- Tightly linked

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

دارای آب‌وهوای مدیترانه‌ای با تابستان گرم و زمستان نسبتاً مرطوب و ملایم است. این آزمایش در قالب طرح لاتیس ساده ۱۱×۱۱ اجرا گردید. در این تحقیق ۱۱۱ لاین حاصل از توده‌های محلی گندم نان بهاره با منشأ مختلف از ۲۸ کشور در پنج قاره آسیا، اروپا، امریکا شمالی و جنوبی، اقیانوسیه و دو ژنوتیپ منشأ نامعلوم داشت. همچنین از ۱۰ ژنوتیپ گندم نان بهاره از کشورهای ایران و پاکستان که اسامی آن‌ها در جدول ۱ ذکر شده است جهت کامل کردن بلوک‌های ناقص استفاده شد. برای سهولت در شناسایی از اعداد یک تا ۱۲۱ برای نام‌گذاری ژنوتیپ‌ها استفاده شد، و تجزیه و تحلیل‌های مولکولی روی ۱۱۱ ژنوتیپ فوق‌الذکر صورت گرفت. این منابع گیاهی از موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهان زراعی از کشور آلمان (IPK-Gatersleben) تهیه شده است که در حال حاضر در بانک ژن گندم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان نگهداری می‌شود. خاک مزرعه از نوع خاک‌های قهوه‌ای و دارای بافت لومی رسی سیلتی می‌باشد. برای اجرای آزمایش قبل از رسیدن فصل کاشت با استفاده از گاوآهن و دیسک نسبت به شخم و نرم کردن خاک و کشت ارقام در کرت‌های آزمایشی اقدام شد. کود شیمیایی بر مبنای ۱۰۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم و ۷۵ کیلوگرم اوره در هکتار در حد فاصل شخم با گاوآهن و دیسک با خاک مخلوط گردید. منبع کود فسفره در این آزمایش فسفات آمونیوم هم‌زمان با کاشت و منبع کود ازته نیترات آمونیوم بود. برای تکمیل نمودن ازت مورد نیاز گیاه، در نیمه دوم اسفندماه قبل از به ساقه رفتن بوته‌های گندم، بلافاصله بعد از بارندگی در منطقه، از کود نیترات آمونیوم به‌صورت سرک استفاده گردید. در این سال میزان بارندگی در ایستگاه گچساران ۵۹۱/۵ میلی‌متر بوده که در مقایسه با میانگین بلند مدت ۱۶۶/۳ میلی‌متر و نسبت به سال زراعی گذشته ۳۵/۹۱ درصد افزایش داشت. پراکنش بارندگی در پاییز ۴۳۷/۲، در زمستان ۱۵۴/۳ و در بهار صفر میلی‌متر بود. به‌عبارت دیگر، ۷۳/۹۱ درصد بارش‌ها در پاییز، ۲۶/۰۸ درصد در زمستان و صفر درصد در بهار به وقوع پیوست. داده‌های درجه حرارت نشان می‌دهند که متوسط دمای سال زراعی اخیر ۱۸/۵ درجه سانتی‌گراد بوده که نسبت به میانگین بلند مدت و سال زراعی گذشته ۰/۷ درجه سانتی‌گراد کاهش داشت. در سال زراعی اخیر تعداد روز یخبندان دو روز بود که در مقایسه با میانگین بلند مدت و سال زراعی گذشته یک روز کاهش داشت. آزمایش شامل دو تکرار بود که به‌طور جداگانه در دو شرایط آزمایش عدم تنش و تنش کم‌آبی اجرا گردید. در هر تکرار بذرهای ضدعفونی شده ۱۲۱ ژنوتیپ گندم نان با تیپ رشدی بهاره کشت شدند. هر کرت آزمایشی شامل یک خط به طول یک متر بود. بذور با فاصله پنج سانتی‌متر در عمق حدود سه الی پنج سانتی‌متری کشت شدند. فاصله بین دو خط (کرت) ۲۵ سانتی‌متر اعمال گردید. هر بلوک ناقص در این آزمایش شامل ۱۱ ژنوتیپ و طول آن ۲/۵ متر در نظر گرفته شد. فاصله بین بلوک‌های ناقص ۱/۵ متر بود که به‌عنوان راهرو در نظر گرفته شد. پنج خط به‌صورت نکاشت (۱/۲۵ متر) بین تکرارهای اول و دوم گذاشته شد. مبارزه با علف‌های هرز با روش وجین دستی در چندین مرحله صورت گرفت. منبع تأمین رطوبت برای هر دو شرایط محیطی آزمایش تنش کم‌آبی و عدم تنش، نزولات آسمانی و آبیاری بارانی تا قبل از مرحله فنولوژیکی شروع گلدهی[1] (گرده‌افشانی[2] (مقیاس زادوکس ۶۱)) بود (Zadoks et al., 1974). قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی در محیط تنش کم‌آبی اعمال شد که تا مرحله برداشت تداوم داشت، اما محیط عدم تنش در دو نوبت زمانی که بوته‌های گندم به اوایل مرحله زایشی رسیده‌اند، شامل مراحل گلدهی و شروع پر شدن دانه (مرحله خمیری دانه[3] (مقیاس زادوکس ۶۱ الی ۸۳)) رسیدند آبیاری انجام شد (Zadoks et al., 1974). صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل سطح برگ پرچم به روش Muller ((Muller,1991)، سانتی‌متر مربع)، تعداد گره، طول اولین میان‌گره، تعداد پنجه در بوته، تعداد پنجه بارور در بوته، تعداد پنجه نابارور در بوته و وزن سنبله بود. تجزیه واریانس برای هر دو شرایط عدم تنش آبی و تنش کم‌آبی با نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ صورت گرفت. سپس مطالعه ارتباط بین صفات مورفولوژیک با استفاده از آنالیز همبستگی پیرسون تعیین شد. برای ترسیم نمودار Heat-Map از بسته ggplot2 نرم‌افزاری R استفاده شد.

ارزیابی مولکولی و تجزیه داده‌ها

ژنوتایپینگ نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای SNP (15 K SNP array) در شرکت TraitGenetic در کشور آلمان صورت گرفت. هر ژنوتیپ با استفاده از مجموعه‌ای از SNPها مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های SNP به‌دست آمده از نظر شاخص‌های MAF (Minor Allele Frequency) و داده‌های از دست رفته (Missing data less than 10%) فیلتر شدند. از هر یک از ۲۱ جفت کروموزوم همولوگ گندم نان، هفت نشانگر SNP فاقد داده گم‌شده و با توزیع مناسب انتخاب (۱۴۷ نشانگر در مجموع) شد تا ساختار جمعیت مورد مطالعه (ماتریس Q) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE 2.3 و تعداد گروه‌ها (K) که ساختار جمعیت را بهتر نشان می‌دهند توسط نرم‌افزار Structure harvester تعیین شود. معیار انتخاب این نشانگرها توزیع یکنواخت در سراسر کروموزوم و نداشتن داده گم‌شده و داده هتروزیگوت بود. داده‌های ۱۴۷ نشانگر به‌صورت یک (حضور) و صفر (بدون حضور) امتیازدهی و ماتریس حاصل برای ساختار جمعیت استفاده شد. به‌منظور تعیین زیرگروه‌های احتمالی و بررسی ساختار جمعیت از روش بیزین و نرم‌افزار Structure V 2.3.4 (Falush et al., 2003; Pritchard et al., 2000) استفاده شد. این آنالیز روی ۱۱۱ ژنوتیپ گندم نان بهاره با ۱۰۰۰۰۰ بار Burn-in (استقلال آللی) و ۱۰۰۰۰۰ تکرار MCMC (Marker Chain Monte Carlo) در مقادیر مختلف K (از ۱ تا ۱۰ و ۵ تکرار برای هر K) انجام گرفت و عدد K بهینه بر اساس روش delta K محاسبه و تعیین شد. در نهایت با تعیین K بهینه که مربوط به بیشترین مقدار delta K به‌دست‌آمده بود، میانگین شاخص تثبیت (Fst) و ماتریس سهم

1- Flowering
2- Pollination
3- Dough development

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

عضویت (Q) با همین نرم‌افزار محاسبه شد. سپس با استفاده از داده‌های فنوتایپی، داده‌های ژنوتایپی و اطلاعات ساختار جمعیت، SNPهای مرتبط با تحمل به تنش کم‌آبی شناسایی شدند. نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 5.0 و روش مدل خطی عمومی[1] (GLM) همراه با ماتریس Q و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) با توجیه بیش از ۸۰ درصد از تنوع با ۵۲ مولفه انجام گردید. برای نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم فقط از آلل‌های با فراوانی بیش از پنج درصد استفاده شد. در ادامه به‌منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش آبی و تنش کم‌آبی از نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم با روش مدل خطی عمومی (Q+PCA) با میانگین داده‌ها در نرم‌افزار TASSEL 5.0 استفاده شد. برای نقشه‌یابی ارتباطی فقط نشانگرهایی با فراوانی بیش از ده درصد مورد استفاده قرار گرفت و مقادیر آماره P-value کمتر از ۰/۰۰۱ با ۱۰۰۰ جایگشت برآورد شد.

جدول ۱- کد و منشأ ژنوتیپ‌های مطالعه شده

Table 1. Code and origin of the studied genotypes

منشا Origin	ژنوتیپ Genotype	شماره Code	منشا Origin	ژنوتیپ Genotype	شماره Code	منشا Origin	ژنوتیپ Genotype	شماره Code
ایران (IRN)	TRI 6129	83	ایتالیا (ITA)	TRI 4116	42	آمریکا (USA)	TRI 403	1
ایران (IRN)	TRI 6148	84	ایتالیا (ITA)	TRI 4117	43	چین (CHN)	TRI 2513	2
مکزیک (MEX)	TRI 10296	85	ایتالیا (ITA)	TRI 4118	44	نپال (NPL)	TRI 2619	3
برزیل (BAR)	TRI 10297	86	ایتالیا (ITA)	TRI 4126	45	هند (IND)	TRI 2656	4
ژاپن (JPN)	TRI 10311	87	ایتالیا (ITA)	TRI 4130	46	هند (IND)	TRI 2679	5
چین (CHN)	TRI 10336	88	ایتالیا (ITA)	TRI 4141	47	افغانستان (AFG)	TRI 2835	6
چین (CHN)	TRI 10338	89	ایتالیا (ITA)	TRI 4144	48	نپال (NPL)	TRI 2889	7
چین (CHN)	TRI 10340	90	استرالیا (AUT)	TRI 4545	49	پرتغال (PRT)	TRI 3126	8
قبرس (CYP)	TRI 10591	91	ایتالیا (ITA)	TRI 4145	50	آمریکا (USA)	TRI 3242	9
قبرس (CYP)	TRI 10593	92	ایتالیا (ITA)	TRI 4148	51	آلمان (GER)	TRI 3438	10
قبرس (CYP)	TRI 10620	93	ایتالیا (ITA)	TRI 4149	52	نیوزلند (NZL)	TRI 3477	11
قبرس (CYP)	TRI 10625	94	ایتالیا (ITA)	TRI 4171	53	نپال (NPL)	TRI 3492	12
قبرس (CYP)	TRI 10654	95	شوروی (SUN)	TRI 4540	54	پرتغال (PRT)	TRI 3511	13
یونان (GRC)	TRI 10688	96	شیلی (CHL)	TRI 4547	55	انگلستان (GBR)	TRI 3513	14
یونان (GRC)	TRI 10692	97	شیلی (CHL)	TRI 4549	56	پرتغال (PRT)	TRI 3526	15
یونان (GRC)	TRI 10693	98	شیلی (CHL)	TRI 4551	57	پرتغال (PRT)	TRI 3564	16
یونان (GRC)	TRI 10697	99	ایتالیا (ITA)	TRI 4563	58	اروگوئه (URY)	TRI 3569	17
یونان (GRC)	TRI 10702	100	استرالیا (AUT)	TRI 4919	59	هند (IND)	TRI 3570	18
یونان (GRC)	TRI 10703	101	آمریکا (USA)	TRI 4940	60	کانادا (CAN)	TRI 3631	19
نامعلوم (UNM)	TRI 10704	102	آمریکا (USA)	TRI 4942	61	کانادا (CAN)	TRI 3633	20
یونان (GRC)	TRI 10705	103	سوئد (SWE)	TRI 4943	62	آلمان (GER)	TRI 3664	21
یونان (GRC)	TRI 10707	104	استونی (EST)	TRI 5262	63	پرتغال (PRT)	TRI 3831	22
یونان (GRC)	TRI 10709	105	سوئد (SWE)	TRI 5304	64	فرانسه (FRA)	TRI 3839	23
نامعلوم (UNM)	TRI 10710	106	فرانسه (FRA)	TRI 5310	65	پرتغال (PRT)	TRI 3842	24
یونان (GRC)	TRI 10780	107	آرژانتین (ARG)	TRI 5315	66	ایتالیا (ITA)	TRI 3874	25
یونان (GRC)	TRI 10781	108	آرژانتین (ARG)	TRI 5325	67	ایتالیا (ITA)	TRI 3881	26
یونان (GRC)	TRI 10785	109	آمریکا (USA)	TRI 5332	68	فرانسه (FRA)	TRI 3895	27
آمریکا (USA)	TRI 11020	110	اسپانیا (ESP)	TRI 5333	69	اروگوئه (URY)	TRI 3925	28
آلمان (GER)	TRI 11082	111	آلمان (GER)	TRI 5342	70	چین (CHN)	TRI 3929	29
ایران (IRN)	Bam	112	آلمان (GER)	TRI 5357	71	اروگوئه (URY)	TRI 3926	30
ایران (IRN)	Kavir	113	بلغارستان (BGR)	TRI 5386	72	چین (CHN)	TRI 3931	31
ایران (IRN)	Sardari	114	اسپانیا (ESP)	TRI 5425	73	نپال (NPL)	TRI 3955	32
ایران (IRN)	Chamran 2	115	سوئد (SWE)	TRI 5426	74	نپال (NPL)	TRI 3964	33
ایران (IRN)	Gonbad	116	آمریکا (USA)	TRI 5438	75	نپال (NPL)	TRI 3981	34
پاکستان (PAK)	SARC-3	117	ایران (IRN)	TRI 6503	76	ایتالیا (ITA)	TRI 4013	35
پاکستان (PAK)	SARC-1	118	ایران (IRN)	TRI 5645	77	کانادا (CAN)	TRI 4041	36
ایران (IRN)	Arg	119	ایران (IRN)	TRI 5653	78	چین (CHN)	TRI 4042	37
پاکستان (PAK)	SARC-4R	120	ایران (IRN)	TRI 5692	79	هند (IND)	TRI 4056	38
پاکستان (PAK)	SARC-4W	121	ایران (IRN)	TRI 5984	80	پرتغال (PRT)	TRI 4081	39
			ایران (IRN)	TRI 6094	81	افغانستان (AFG)	TRI 4112	40
			ایران (IRN)	TRI 6108	82	افغانستان (AFG)	TRI 4113	41

USA، آمریکا؛ CHN، چین؛ NPL، نپال؛IND، هند؛ AFG، افغانستان؛ PRT، پرتغال؛ GER، آلمان؛ NZL، نیوزیلند؛ GBR، انگلستان؛ URY، اروگوئه؛ CAN، کانادا؛ FRA، فرانسه؛ ITA، ایتالیا؛AUT، استرالیا؛ SUN، شوری؛ CHL، شیلی؛ SWE، سوئد؛ EST، استونی؛ ARG، آرژانتین؛ ESP، اسپانیا؛ BGR، بلغارستان؛ IRN، ایران؛ BRA، برزیل؛ JPN، ژاپن؛ CYP، قبرس و GRC، یونان و UNM نامعلوم

1- General Linear Model

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بر اساس طرح لاتیس ساده نشان داد که مزیت نسبی این طرح نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای بیشتر صفات در هر دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی برای صفات مورد بررسی کم (کمتر از صد) بود، ازاین‌رو برآورد واریانس‌ها و امید ریاضی میانگین مربعات بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت گرفت (جدول ۲). نتایج حاصل از تجزیه واریانس طبق جدول ۲ نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در دو شرایط آزمایش وجود داشت که این موضوع بیانگر وجود تنوع مطلوب ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه و احتمال وجود سازوکارهای مختلف بین آن‌ها در واکنش به تنش کم‌آبی است که در مطالعات آتی می‌توان از این صفات در اهداف به‌نژادی بهره‌مند شد. در حقیقت وجود تنوع ژنتیکی در صفات مرتبط با شرایط تنش کم‌آبی جهت انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا و درک بهینه سازوکارهای مرتبط با تحمل به کم‌آبی در گندم مؤثر است. بنابراین جمعیت مورد مطالعه جمعیت مناسبی برای نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و وزن سنبله در ژنوتیپ‌های گندم نان بهاره در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی

Table 2. Analysis of variance for the morphological and spike weight in spring bread wheat genotypes under non stress and water deficit stress.

وزن سنبله (Spike weight)	تعداد پنجه نابارور در بوته (Infertile tiller number per plant)	تعداد پنجه بارور در بوته (Fertile tiller number)	تعداد پنجه در بوته (Tiller number per plant)	طول اولین میان گره (First internode length)	تعداد گره (Number of node)	سطح برگ پرچم (Flag leaf area)		منابع تغییرات Source of variation	
0.07 ^{ns}	2.42 *	47.24 **	51.00 **	0.11 ^{ns}	0.14 ^{ns}	10.45 ^{ns}	عدم تنش Non-stress	بلوک Block	
0.01 ^{ns}	7.22 ^{ns}	29.95 **	64.30 **	0.21 ^{ns}	0.23 ^{ns}	0.50 ^{ns}	تنش کم‌آبی Water-deficit stress		
0.72 **	4.25 **	71.72 **	15.97 **	7.77 **	0.57 **	105.81 **	عدم تنش Non-stress	ژنوتیپ Genotype	میانگین مربعات Mean of squear
0.59 **	20.64 **	9.83 **	23.54 **	2.53 **	0.81 **	41.68 **	تنش کم‌آبی Water-deficit stress		
0.03	0.55	1.17	2.97	0.18	0.24	1.88	عدم تنش Non-stress	اشتباه آزمایشی Error experimaental	
0.04	1.03	1.98	3.69	0.26	0.10	6.05	تنش کم‌آبی Water-deficit stress		
8.58	32.71	16.97	18.19	5.36	7.35	13.49	عدم تنش Non-stress	ضریب تغییرات Coefficient of variation	
11.92	25.98	16.04	13.41	5.30	12.24	10.95	تنش کم‌آبی		

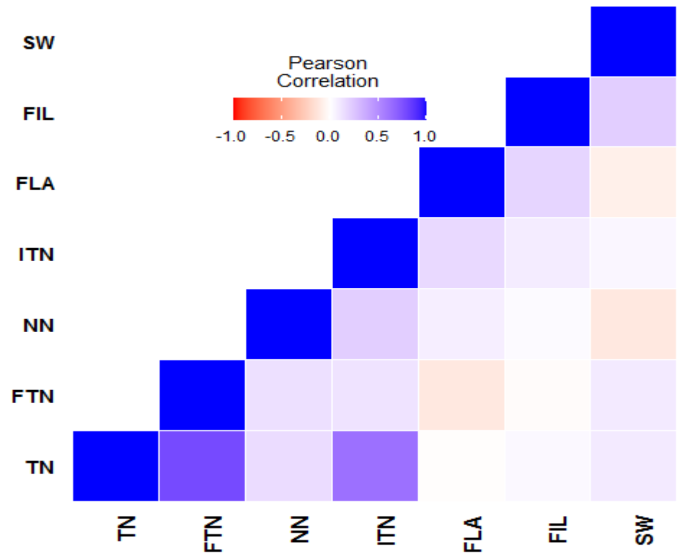
ns، * و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Non-significant and significant at 5 and 1 percent probability level, respectively

به‌منظور بررسی ارتباط صفات مورد مطالعه با همدیگر و شناسایی روابط احتمالی آنها با همدیگر در دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی و تشکیل ماتریس ضرایب همبستگی فنوتیپی ساده بین صفات از ضریب همبستگی پیرسون استفاده گردید. همان‌گونه که در شکل یک در شرایط عدم تنش نشان داده شده است یک همبستگی قوی بین صفات تعداد پنجه بارور با تعداد پنجه در بوته ($r_{0.01}$>0.78) و تعداد پنجه نابارور با تعداد پنجه در بوته ($r_{0.01}$>0.62) مشاهده می‌شود. وجود این ارتباط حاکی از اثر مستقیم این صفات روی همدیگر است. همچنین در این شرایط بین وزن سنبله با طول اولین میانگره همبستگی متوسط و معنی‌داری مشاهده گردید. طبق شکل دو در شرایط تنش کم‌آبی بین صفت تعداد پنجه نابارور در بوته با تعداد پنجه در بوته یک همبستگی قوی ($r_{0.01}$>0.79) مشاهده شد.

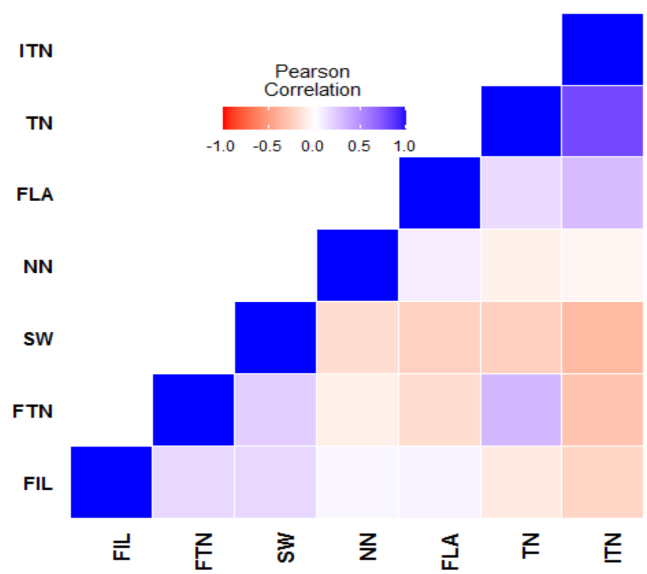
تجزیه همبستگی روشی برای بررسی رابطه بین متغیرهاست. در مطالعه‌ای محسنی و همکاران (Mohseni et al., 2016) گزارش دادند که در شرایط تنش رطوبتی همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفت وزن سنبله اصلی با مساحت برگ و همبستگی منفی و معنی‌داری بین تعداد پنجه کل در بوته با مساحت برگ پرچم مشاهده گردید. همچنین آنها اظهار داشتند که بین وزن سنبله اصلی با تعداد پنجه کل در بوته همبستگی معنی‌دار مشاهده نگردید.

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]



شکل ۱- نقشه حرارتی ماتریس همبستگی بین صفات مورفولوژیک و وزن سنبله ژنوتیپ‌های گندم نان در شرایط عدم تنش. سطح برگ پرچم (FLA)؛ تعداد گره (NN)؛ طول اولین میان‌گره (FIL)؛ تعداد پنجه در بوته (TN)؛ تعداد پنجه بارور در بوته (FTN)؛ تعداد پنجه نابارور در بوته (ITN) و وزن سنبله (SW).

Figure 1. Heat map of the correlation matrix between morphological and spike weight traits of bread wheat genotypes in non-stress conditions. Flag Leaf Area (FLA); Number of Node (NN); First Internode Length (FIL); Tiller Number per plant (TN); Fertile Tiller Number per plant (FTN); Infertile Tiller Number per plant (ITN) and Spike Wight (SW).



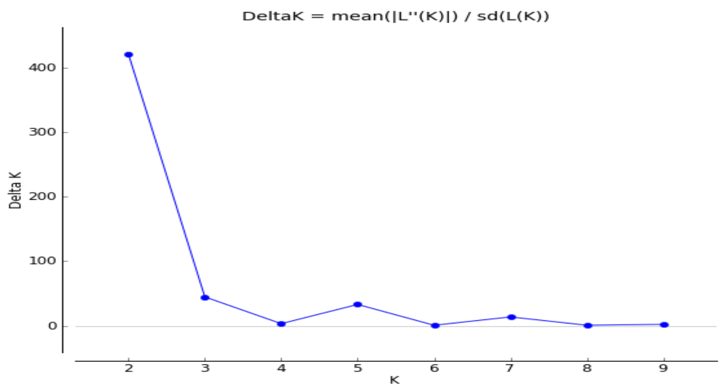
شکل ۲- نقشه حرارتی ماتریس همبستگی بین صفات مورفولوژیک و وزن سنبله ژنوتیپ‌های گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی . سطح برگ پرچم، FLA؛ تعداد گره، NN؛ طول اولین میان‌گره، FIL؛ تعداد پنجه در بوته، TN؛ تعداد پنجه بارور در بوته، FTN؛ تعداد پنجه نابارور در بوته، ITN و وزن سنبله، SW .

Figure 1. Heat map of the correlation matrix between morphological and spike weight traits of bread wheat genotypes in water deficit stress conditions. Flag Leaf Area (FLA); Number of Node (NN); First Internode Length (FIL); Tiller Number per plant (TN); Fertile Tiller Number per plant (FTN); Infertile Tiller Number per plant (ITN) and Spike Wight (SW).

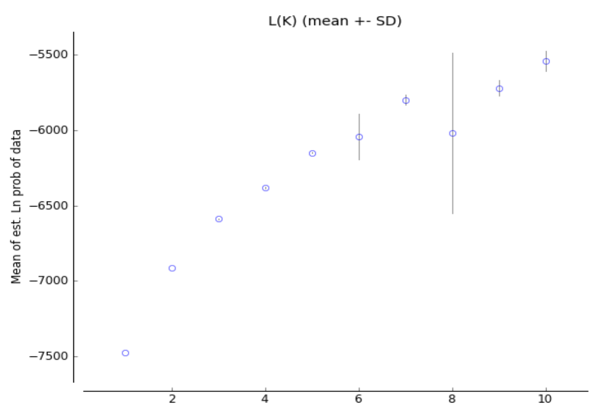
علیرغم مزیت‌هایی که نقشه‌یابی ارتباطی دارد ولی این روش به‌دلیل وجود ساختار در جمعیت سبب ایجاد ارتباط کاذب بین نشانگر با صفت می‌شود. در این مطالعه تجزیه ساختار با استفاده از ۱۴۷ نشانگر و نرم‌افزار Structure و Structure Harveste نشان داد که شاخص delta K بیشترین مقدار را در K=۲ دارد که نشان‌دهنده وجود دو تا زیر جمعیت بود. بنابراین ۱۱۱ ژنوتیپ در دو زیر گروه تقسیم شدند (شکل ۳ و شکل ۴). در نهایت با قرار دادن K=۲ در نرم‌افزار Structure ماتریس Q (به‌علت حجم زیاد داده‌ها ذکر نشده است) به‌دست آمد. وجود زیرگروه‌ها درون یک ژرم‌پلاسم، می‌تواند به دلایلی از جمله تفاوت در منشا جغرافیایی، گزینش طبیعی یا مصنوعی یا رانش ژنتیکی باشد (Buckler and Thornsberry, 2002؛

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

(Flint-Garcia et al., 2005). نمودار ارائه‌شده توسط نرم‌افزار Structure برای ۱۱۱ ژنوتیپ گندم بهاره (شکل ۵) نیز تأییدی بر مقدار K بهینه می‌باشد که محور افقی مربوط به ژنوتیپ‌ها و محور عمودی سهم تعلق هر فرد به هر گروه را نشان می‌دهد. همچنین در این نمودار ساختار جمعیت، وقتی درصد عضویت یک ژنوتیپ به یک خوشه بیشتر یا مساوی ۰/۷ باشد، ژنوتیپ به آن خوشه نسبت داده می‌شود، ولی در صورتی که درصد عضویت کمتر از این مقدار باشد، به‌عنوان ژنوتیپ ترکیبی (مخلوط شده) در نظر گرفته می‌شود (Spataro et al., 2011). در برنامه‌های اصلاحی گندم تعداد زیادی از اصلاح‌گران گندم نیز از شیوه ساختار جمعیت استفاده کردند (Bilgrami, 2018; Ahmed et al., 2021; Sukumaran et al., 2018). گزارش شده است که آن دسته از توده‌هایی که ترکیب ژنتیکی متنوعی دارند می‌توانند برای ترکیبات مورد نیاز برای تولید چندین صفت معنی‌دار جهت بدست آوردن عملکرد بهتر استفاده شوند (Ahmed et al., 2022). تشخیص توده‌های گندم بر اساس پایه ژنتیکی آنها برای غربالگری موثر و پیش‌بینی کردن زودرسی توده‌ها در برنامه‌های اصلاحی گندم برای تولید ارقام پرمحصول مفید خواهد بود (Ahmed et al., 2021). در مطالعه زراع کهن و همکاران (۲۰۱۸) در مورد نقشه‌یابی ارتباطی جو تحت تنش شوری با استفاده از ۴۰۷ نشانگرهای AFLP و SSR ، ساختار ژنتیکی جمعیت را به دو زیر جمعیت فرعی (K=2) تقسیم کردند.



شکل ۳- تعیین زیرگروه‌ها با استفاده از Structure Harvester. محور عمودی مقدار ΔK و محور افقی تعداد زیرجمعیت‌ها را نشان می‌دهد
Figure 3. Determining subgroups using Structure Harvester. The vertical axis shows the value of ΔK and the horizontal axis shows the number of subpopulations



شکل ۴- نتایج نرم‌افزار Structure harvester لگاریتم ارزش حداکثر درست نمایی برای تجزیه بر اساس ۱۴۷ نشانگرهای SNP نشان می‌دهد
Figure 4 . The results of the Structure harvester software show the logarithm of the maximum likelihood value for analysis based on 147 SNP markers

شکل ۵- نمودار ساختار جمعیت با استفاده از ۱۴۷ نشانگر SNP (K=2)، محور افقی مربوط به ژنوتیپ‌ها و محور عمودی سهم تعلق هر فرد به هر گروه را نشان می‌دهد و هر رنگ نشان‌دهنده یک زیرگروه می‌باشد.

Figure 5. Population structure diagram using 147 SNP markers (K=2), the horizontal axis corresponds to genotypes and the vertical axis shows the contribution of each individual to each group, and each color represents a subgroup.

در این مطالعه 15K SNP از آرایه 90K ایلومینا[1] برای شناسایی SNPهای مرتبط با صفات مورفولوژیک استفاد شد. ارتباط نشانگر با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی ارزیابی شدند. توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش متفاوت بودند (جدول ۳). در شرایط عدم تنش ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A، B و D) به‌ترتیب با توزیع فراوانی ارتباط معنی‌دار ۴۹، ۴۸ و ۳ درصد مشاهده گردید. کروموزوم 2A با ۳۹ بیشترین ارتباط معنی‌دار و کروموزوم 5A با چهار عدد کمترین ارتباط نشانگر با صفت در شرایط عدم تنش در بین ژنوم A به خود اختصاص داد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در ژنوم B کروموزوم‌های 7B و 4B به‌ترتیب هر کدام با ۲۱ و ۲ ارتباط نشانگر با صفت (MTA[2]) بیشترین و کمترین ارتباط نشانگر با صفت در شرایط عدم تنش نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در شرایط عدم تنش کروموزوم 7D با چهار ارتباط نشانگر با صفت بیشترین فروانی ارتباط معنی‌دار با نشانگر را در بین کروموزوم‌های ژنوم D برای صفات مورد مطالعه به خود اختصاص داد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفت برای شرایط تنش کم‌آبی در ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان نیز متفاوت بودند (جدول ۳). ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A، B و D) به‌ترتیب دارای ۵۳، ۳۶ و ۱۱درصد ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت را در شرایط تنش کم‌آبی به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش کم‌آبی در مقایسه با شرایط عدم تنش ژنوم D گندم نان اختلافی بیش از هشت درصد در فراوانی ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت را نشان داد. نتایج این مطالعه حاکی از آن است که در شرایط تنش کم‌آبی ژنوم‌های A و D نقش بارزتری را نسبت به شرایط عدم تنش داشتند. بیشترین و کمترین فراوانی ارتباط نشانگر با صفت در شرایط تنش کم‌آبی برای ژنوم A گندم نان به‌ترتیب روی کروموزوم‌های 7A و 1A مکان‌یابی شد. همچنین در این شرایط کروموزوم‌های 1B و 5B به‌ترتیب نقش مهم‌تری برای توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفات مورد مطالعه نشان دادند. در ژنوم D کروموزوم 1D نسبت به بقیه کروموزوم‌های این ژنوم فراوانی ارتباط معنی‌دار بیشتری را به‌خود اختصاص داد.

به‌طور کلی در دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به‌ترتیب ۴۳ و ۱۷ ارتباط معنی‌دار نشانگر با سطح برگ پرچم روی کروموزوم‌های مختلف گندم نان مشاهده شد (جدول ۴). در شرایط عدم تنش ۱۲ ارتباط نشانگر با سطح برگ پرچم روی ژنوم A و ۳۰ ارتباط روی ژنوم B و یک ارتباط معنی‌دار نشانگر با سطح برگ پرچم روی ژنوم D توزیع شد (داده‌ها نشان داده نشده است). در شرایط تنش کم‌آبی ۱۳ ارتباط نشانگر با سطح برگ پرچم روی ژنوم A و یک ارتباط روی ژنوم B و دو ارتباط معنی‌دار نشانگر با سطح برگ پرچم روی ژنوم D توزیع شد (داده‌ها نشان داده نشده است). در این مطالعه در شرایط تنش کم‌آبی کروموزوم 2A با ۱۱ و کروموزوم‌های 1A و 7A با یک عدد ارتباط معنی‌دار نشانگر با سطح برگ پرچم را در ژنوم A را به خود اختصاص دادند. همچنین در این مطالعه مشخص شد که در شرایط تنش کم‌آبی بقیه کروموزوم‌های ژنوم A هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری را با نشانگرهای SNP برای سطح برگ پرچم نشان ندادند. در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی ارتباط نشانگر با صفت تعداد گره به‌ترتیب ۳۸ و ۱۲ روی کروموزوم‌های گندم نان توزیع شدند. توزیع ارتباط نشانگر با صفت تعداد گره روی ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان در هر دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی متفاوت بودند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در شرایط عدم تنش ژنوم B با ۲۸ ارتباط معنی‌داری نشانگر با صفت تعداد گره بیشترین و ژنوم D با سه عدد کمترین ارتباط معنی داری نشانگر با صفت را به خود اختصاص دادند.

در شرایط تنش کم‌آبی ژنوم D بیشترین (نه ارتباط) و ژنوم A کمترین (یک ارتباط) ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت تعداد گره را نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). همچنین در این شرایط کروموزوم 7A با نه عدد بیشترین ارتباط نشانگر با صفت تعداد گره در این مطالعه نشان داد. طول اولین میان‌گره در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به‌ترتیب ۱۴ و ۲۴ ارتباط

1- Illumina
2- Marker Trait Association

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

نشانگر با صفت را به‌خود اختصاص دادند (جدول ۴). توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با طول اولین میانگره در ژنوتیپ‌های گندم بهاره متفاوت بودند. بیشترین توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با طول اولین میانگره در شرایط عدم تنش متعلق به ژنوم A و کروموزوم 4A بود. ژنوم A در بین ژنوم‌های سه‌گانه گندم و کروموزوم 7A (۱۰ ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت) در شرایط تنش کم‌آبی برای صفت طول اولین میان‌گره نقش بارزتری را نسبت به بقیه ژنوم و کروموزوم‌های گندم بهاره داشتند. همچنین در این شرایط ژنوم A با ۵۰٪، ژنوم B با ۳۳٪ و در نهایت ژنوم D با ۱۷٪ توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با طول اولین میان‌گره را نشان دادند. در شرایط عدم تنش ۱۱ ارتباط معنی‌داری نشانگر با صفت تعداد پنجه در بوته در این مطالعه مشاهده گردید. بیشترین توزیع فروانی ارتباط معنی‌دار نشانگر مربوط به ژنوم B با ۶۰٪ و ژنوم D با ۳۰٪ درصد در مرتبه دوم قرار گرفت. کروموزوم 7A با سه ارتباط نشانگر با تعداد پنجه در بوته بیشترین توزیع فراوانی ارتباط نشانگر را در ژنوم A به خود اختصاص داد.

در شرایط تنش کم‌آبی ۱۰ ارتباط معنی‌داری نشانگر با تعداد پنجه در بوته مشاهده گردید. بیشترین توزیع فراوانی ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت مربوط به ژنوم B با ۶۰٪ و ژنوم A با ۱۰٪ کمترین توزیع فروانی ارتباط نشانگر با تعداد پنجه در بوته را نشان داد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در این مطالعه در شرایط تنش کم‌آبی به‌غیر از کروموزوم 3A بقیه کروموزوم‌های ژنوم A هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری را برای صفت تعداد پنجه در بوته نشان ندادند. کروموزوم‌های 3B و 5B هر کدام با دو ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت تعداد پنجه در بوته بیشترین توزیع فراوانی نشانگر را در ژنوم B نشان دادند. در شرایط عدم تنش به‌ترتیب ژنوم B و A به‌ترتیب نقش بارزتری برای صفات تعداد پنجه بارور در بوته و تعداد پنجه نابارور در بوته داشتند (جدول ۳). در شرایط عدم تنش فقط ژنوم B دارای ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت تعداد پنجه بارور در بوته بود. کروموزوم 5B بیشترین توزیع فراوانی نشانگر با صفت تعداد پنجه بارور در بوته را نشان داد (داده‌ها نشان داده نشده است). در شرایط عدم تنش صفات تعداد پنجه بارور در بوته و تعداد پنجه نابارور در بوته به‌ترتیب ۸ و ۲۵ ارتباط نشانگر با صفات را نشان دادند (جدول ۴).

بیشترین توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفات تعداد پنجه بارور در بوته و تعداد پنجه نابارور در بوته را در شرایط تنش کم‌آبی مربوط به ژنوم B بود. در شرایط تنش کم‌آبی بیشترین توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با تعداد پنجه بارور در بوته روی کروموزوم 1B (شش نشانگر) مکان‌یابی شد. در شرایط تنش کم‌آبی تعداد ۱۵ و ۱۴ ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفات تعداد پنجه بارور در بوته و تعداد پنجه نابارور در بوته مشاهده شد (جدول ۴). در شرایط عدم تنش ژنوم A با ۸۳٪ بیشترین فراوانی ارتباط نشانگر با صفت وزن سنبله را به خود اختصاص داد (جدول ۳). در این شرایط کروموزوم 2A با ۱۸ ارتباط معنی‌دار نشانگر با وزن سنبله بیشترین توزیع فراوانی را به خود اختصاص داد (داده‌ها نشان داده نشده است). وزن سنبله در شرایط عدم تنش ۴۱ ارتباط معنی‌دار نشانگر را نشان داد. در شرایط تنش کم‌آبی ژنوم A با ۷۴٪ بیشترین توزیع فراوانی نشانگر و ژنوم D با ۱۱٪ کمترین توزیع فراوانی نشانگر را به خود اختصاص دادند (داده ها نشان داده نشده است). کروموزوم 7A با ۲۳ عدد ارتباط نشانگر با صفت بیشترین توزیع فراوانی ارتباط معنی‌دار نشانگر را به خود اختصاص داد. در شرایط تنش کم‌آبی به‌جز کروموزوم‌های 1D و 2D بقیه کروموزوم‌های ژنوم D در گندم نان برای صفت وزن سنبله ارتباط معنی‌دار نشانگری را نشان ندادند. توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با وزن سنبله در شرایط تنش کم‌آبی ۳۸ عدد بود (جدول ۴). نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی در جو با استفاده از روش مدل خطی مخلوط (MLM) گزارش شده است که ۴۶ نشانگر (مکان ژنی) ارتباط معنی‌داری با صفات فنولوژیک (روز تا پنجه‌دهی، روز تا ساقه‌دهی، دوره‌ی پر شدن دانه و روز تا رسیدن فیزیولوژیک)، در شرایط تنش شوری مشاهده شد (Zare-Kohan et al., 2018). ژن‌ها و QTLهای مرتبط با تحمل به خشکی و ویژگی‌های عملکرد دانه که در ژنوم کامل گندم در ۲۱ کروموزوم توزیع شده بودند توسط چندین به‌نژادگر گندم تشریح شده‌اند (Qaseem et al., 2018). مطالعه ارتباط نشانگر با صفت (MTA) ارتباط بین تنوع مورفولوژیکی و ژنتیکی ویژه را در یک ژنوم شناسایی می‌کند که در نهایت ویژگیهای مرتبط با مکان ژنومی را درک می‌شود (Su et al., 2019).

در مطالعه‌ای احمد و همکاران (Ahmed et al., 2021) گزارش کردند که در محیط تنش کم‌آبی ۵۰ عدد نشانگر SNP ارتباط قوی با سطح برگ پرچم روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 2B، 2D، 3A، 3B، 4A، 4B، 5A، 6D و 7A وجود داشت که با نتایج این پژوهش روی کروموزوم‌های 2A، 2B و 7A مطابقت داشت. در مطالعات متعددی از نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم برای یافتن MTA/QTL های کنترل‌کننده صفات در ژنوم گندم نان استفاده شده است (Sukumaran et al., 2018; Shokat et al., 2020; Li et al., 2019b; Abou-Elwafa and Shehzad, 2021; Anjumet al., 2017; Ahmed et al., 2022). در مطالعه‌ای محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2005) برای صفت سطح برگ پرچم سه QTL بر روی کروموزوم‌های 1B، 5B و 2D پیدا کردند. در مطالعه دیگری ژائو و همکاران (Zhao et al., 2018) نشانگرهای معنی‌دار مرتبط با سطح برگ پرچم را روی کروموزوم 2A تحت چهار شرایط محیطی در جمعیت اینبردلاین گندم شناسایی کردند. در آزمایشی Bilgrami (Bilgrami, 2018) تعداد ۳۳ ارتباط معنی‌دار برای صفت وزن سنبله تحت شرایط آبیاری عادی روی کروموزوم‌های 1B، 1D، 2B، 3B، 5B، 5D، 6B و 7A و ۵ ارتباط معنی‌دار بر روی کروموزوم‌های 1B، 1D و 4B تحت شرایط تنش خشکی شناسایی کردند که با نتایج این مطالعه در

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

شرایط تنش کم‌آبی روی کروموزوم‌های 1D و 4B مطابقت داشت. در بررسی توسط بلگرامی (Bilgrami, 2018)، یک جمعیت شامل۹۲ ژنوتیپ گندم هگزا پلوئید ایرانی با استفاده از Illumina iSelect 15K SNP مورد ارزیابی قرار گرفت که حاکی از وجود ۱۳ و ۱۱ ارتباط معنی دار در شرایط آبی متفاوت به‌ترتیب برای صفات تعداد پنجه کل و تعداد پنجه بارور در ۱۰ کروموزوم از کروموزوم‌های گندم مکان‌یابی شدند. لی و همکاران (Li et al., 2019b) گزارش دادند که مکان‌ها و نشانگرهای SNP معنی‌دار شناسایی شده می‌توانند برای هرمی کردن آلل‌های مطلوب در توسعه ارقام پر محصول استفاده شوند. همچنین اظهار داشتند که هر دو روش نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم و نشانگرهای ژنتیکی با تراکم بالا ارزیابی قابل اعتمادی برای شناسایی مکان‌های ژنومی عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن هستند و درک جدیدی را در مورد معماری ژنتیکی عملکرد دانه ارائه می‌دهند. کوآری و همکاران (Quarrie et al., 2005) برای نقشه‌یابی ژنتیکی در چهار محیط نورویچ انگلستان، آلماتی قزاقستان، زاجچار صربستان و ساراگوسا اسپانیا در مرحله رسیدگی دانه QTLهایی را برای مقاومت به تنش خشکی در گندم دابل‌هاپلوئید را بر روی کروموزوم‌های 1A، 1B، 2A، 2B، 2D،، 3D، 5A، 5B، 7A و 7B مکان‌یابی کردند که کروموزوم‌های 1B، 2A، 2B، 2D، 5A و 5B با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت.

جدول ۳- بیشترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار بر روی ژنوم و کرووموزوم در ۱۱۱ ژنوتیپ گندم نان

Table 3. The maximum number of significant marker-trait association on genome and choromosome in 111 bread wheat genotypes

ارتباطات معنی‌دار نشانگر با صفت Significant marker trait associations		
توزیع بر مبنای ژنوم و کروموزوم Distribution based on genome and chromosome		
ژنوم Genome	عدم تنش Non-stress	تنش کم‌آبی Water-deficit stress
ژنوم A	Total 88 MTA (1A=6, 2A=39, 3A=11, 4A=11, ,5A=4, 6A=5, 7A=12)	Total 59 MTA (1A=0, 2A=22, 3A=4, 4A=3, ,5A=3, 6A=3, 7A=23)
ژنوم B	Total 87 MTA (1B=15, 2B=6, 3B=11, 4B=2, 5B=16, 6B=16, 7B=21)	Total 40 MTA (1B=10, 2B=3, 3B=5, 4B=5, 5B=9, 6B=2, 7B=6)
ژنوم D	Total 5 MTA (1D=2, 2D=0, 3D=0, 4D=1, 5D=0, 6D=0 ,7D=2)	Total 12 MTA (1D=5, 2D=1, 3D=0, 4D=2, 5D=2, 6D=0,7D=2)

جدول ۴- بیشترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت معنی دار در ۱۱۱ ژنوتیپ گندم نان بر اساس صفات مورد مطالعه

Table 4. The maximum number of significant marker-trait association in 111 bread wheat genotypes based on studied traits

ارتباطات معنی دار نشانگر با صفت توزیع بر مبنای صفات Significant marker trait association with distribution based on traits			
تنش کم‌آبی Water-deficit stress	عدم تنش Non-stress	صفت Triat	
17	43	سطح برگ پرچم	Flag leaf area
12	38	تعداد گره	Noumber of Node
24	14	طول اولین میان گره	First internode length
10	11	تعداد پنجه در بوته	Tiller number per plant
15	8	تعداد پنجه بارور در بوته	Fertile tiller number per plant
14	25	تعداد پنجه نابارور در بوته	Infertile tiller number per plant
19	41	وزن سنبله	Spike weight

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر با استفاده از ۱۵ هزار نشانگر SNP پویش گسترده‌ی ژنومی در ژنوتیپ‌های گندم بهاره با هدف تعیین ارتباط میان داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی صورت گرفت و نتایج حاکی از وجود ارتباط‌های بسیار معنی‌دار در صفات مورد مطالعه بود. در مجموع ۱۸۰ و ۱۱۱ ارتباط نشانگر با صفت (QTL) به‌ترتیب در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی معنی‌دار شد. توزیع ارتباط نشانگر با صفات مورد مطالعه در این پژوهش در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی متفاوت بودند. در شرایط عدم تنش توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفات مورد مطالعه در ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان بهاره (A، B و D) به‌ترتیب با ۴۹، ۴۸ و ۳ بودند. در این شرایط کروموزوم 2A بیشترین توزیع فراوانی ارتباط نشانگر با صفت را در بین ژنوم A با ۴۴ درصد به‌خود اختصاص داد. همچنین در این شرایط کروموزوم 5A با چهار عدد (پنج درصد) کمترین ارتباط نشانگر با صفت را نشان دادند. در شرایط تنش کم‌آبی ژنوم‌های سه‌گانه گندم نان (A، B و D) به‌ترتیب با ۵۳، ۳۶ و ۱۱ توزیع فراوانی ارتباط نشانگرهای SNP با صفات مورد مطالعه را نشان دادند. همچنین در این شرایط کروموزوم 7A دارای بیشترین ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت (۲۱ درصد) و کروموزوم 6D فاقد ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفت بود. همان‌طوری که مشاهده می‌شود با مقایسه دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی ژنوم‌های A و D در شرایط تنش کم‌آبی نقش بارزتری را به خود اختصاص دادند. ژنوم D گندم نان در شرایط تنش کم‌آبی نسبت به شرایط عدم تنش اختلافی بیش از هشت درصد را در توزیع فراوانی ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفات مورد مطالعه را نشان داد. در مجموع در شرایط تنش کم‌آبی برای صفات سطح برگ پرچم، تعداد پنجه در بوته، تعداد پنجه بارور در بوته و وزن سنبله به‌ترتیب ۱۷، ۱۰، ۱۵ و ۱۹

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

ارتباط نشانگر با صفت مشاهده گردید. همچنین برای این صفات در شرایط تنش کم‌آبی به‌ترتیب ژنوم‌های A، B و A نقش بارزتری را ایفا کردند. در مجموع MTAهای شناسایی شده در مطالعه حاضر می‌تواند در توسعه برنامه‌های به‌نژادی گندم در شرایط تنش کم‌آبی بویژه هرمی ساختن ژن‌ها و یا انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار بگیرند.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم و مسئولان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد به‌خاطر مساعدت در فراهم شدن امکانات مورد نیاز اجرای پژوهش تشکر می‌شود. همچنین از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی از کشور آلمان (IPK-Gatersleben) و بانک ژن"جهان‌نما" دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌خاطر در اختیار قرار دادن منابع گیاهی این پژوهش قدردانی می‌گردد. همچنین از دانشگاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌دلیل فراهم آوردن زمینه‌ی پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع

Abou-Elwafa, S. F., & Shehzad, T. (2021). Genetic diversity, GWAS and prediction for drought and terminal heat stress tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68, 711-728.

Agricultural Statistics, (2019). Annual Report. Ministry of Agriculture Press. https://www.maj.ir/Index.aspx (In Persian).

Ahmed, H. G. M. D., Naeem, M., Zeng, Y., Rashid, M. A. R., Ullah, A., Saeed, A., & Qadeer, A. (2022). Genome-wide association mapping for high temperature tolerance in wheat through 90k SNP array using physiological and yield traits. *PLoS One*, 17(1), e0262569.

Ahmed, H. G. M. D., Iqbal, M. N., Iqbal, M. A., Zeng, Y., Ullah, A., Iqbal, M., ... & Hussain, S. (2021). Genome-wide association mapping for stomata and yield indices in bread wheat under water limited conditions. *Agronomy*, 11(8), 1646.

Anjum, S. A., Ashraf, U., Zohaib, A., Tanveer, M., Naeem, M., Ali, I., ... & Nazir, U. (2017). Growth and developmental responses of crop plants under drought stress: a review. *Zemdirbyste-Agriculture*, 104(3).

Bilgrami, S.S. (2018). Association mapping of yield characteristics in Iranian wheat
genotypes under drought stress. PhD Thesis. Zabol University. Zabol. Iran, 216 pp (In Persian).

Buckler IV, E. S., & Thornsberry, J. M. (2002). Plant molecular diversity and applications to genomics. *Current opinion in plant biology*, 5(2), 107-111.

Chowdhury, J. A., Karim, M. A., Khaliq, Q. A., Ahmed, A. U., & Khan, M. S. A. (2016). Effect of drought stress on gas exchange characteristics of four soybean genotypes. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 41(2), 195-205.

Daryanto, S., Wang, L., & Jacinthe, P. A. (2016). Global synthesis of drought effects on maize and wheat production. *PloS one*, 11(5), e0156362.

Ding, J., Huang, Z., Zhu, M., Li, C., Zhu, X., & Guo, W. (2018). Does cyclic water stress damage wheat yield more than a single stress?. *PloS one*, 13(4), e0195535.

Elshire, R. J., Glaubitz, J. C., Sun, Q., Poland, J. A., Kawamoto, K., Buckler, E. S., & Mitchell, S. E. (2011). A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS one*, 6(5), e19379.

Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.

FAOSTAT, (2021). http://www.fao.org/faostat/en/#home.

Flint-Garcia, S. A., Thuillet, A. C., Yu, J., Pressoir, G., Romero, S. M., Mitchell, S. E., ... & Buckler, E. S. (2005). Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The plant journal*, 44(6), 1054-1064.

Hussain, M., Farooq, S., Hasan, W., Ul-Allah, S., Tanveer, M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2018). Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. *Agricultural water management*, 201, 152-166.

IPCC¬ .(2013). “Summary for policymakers”, in Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the International Panel on Climate Change. Eds. Stocker, T. Qin, D., Plattner, G. Tignor, M. Allen, S. Boschung, J. (Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press). Available at: https://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/.4.

Li, F., Wen, W., He, Z., Liu, J., Jin, H., Cao, S., ... & Xia, X. (2018). Genome-wide linkage mapping of yield-related traits in three Chinese bread wheat populations using high-density SNP markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 1903-1924.

Li, F., Wen, W., Liu, J., Zhang, Y., Cao, S., He, Z., ... & Xia, X. (2019a). Genetic architecture of grain yield in bread wheat based on genome-wide association studies. *BMC plant biology*, 19(1), 1-19.
Li, H., Zhou, Y., Xin, W., Wei, Y., Zhang, J., & Guo, L. (2019b). Wheat breeding in northern China: achievements and technical advances. *The Crop Journal*, 7(6), 718-729.
Liu, L., Wang, L., Yao, J., Zheng, Y., & Zhao, C. (2010). Association mapping of six agronomic traits on chromosome 4A of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Plant Breeding*, 1(5).
Liu, Y., He, Z., Appels, R., & Xia, X. (2012). Functional markers in wheat: current status and future prospects. *Theoretical and applied genetics*, 125, 1-10.
Lucas, H. (2012). Breakout session P1.1 National Food Security-the wheat initiative-an international research initiative for wheat improvement. In Second Global Conference Agricultural Research for Development, 1-3.pp. Uruguay.
Mirmohammad-Meibodi, S.A.M., M. Golabadi and P. Golkar. (2015). Plant breeding for tolerance drought stress. Academic Jihad of Isfahan Industrial Unit. 232 pp (In Persian).
Mohammadi, V., Ghanadha, M. R., Zali, A. A., Yazdi Samadi, B., & Byrne, P. (2005). Mapping QTLs for morphological traits in wheat. *Iran Journal Agriculture Science*, 36(1), 145-57.
Mohseni, M., Mortazavian, S. M., Ramshini, H. A., & Foghi, B. (2016). Evaluation of bread wheat genotypes under normal and post-anthesis drought stress conditions for agronomic traits. *Journal of Crop Breeding*, 8(18), 16-29.
Muller, J. (1991). Determining leaf surface area by means of linear measurements in wheat and triticale (brief report). *Archiv Fuchtungsforsch*, 21(2), 121-123.
Nadeem, M., Li, J., Yahya, M., Wang, M., Ali, A., Cheng, A., ... & Ma, C. (2019). Grain legumes and fear of salt stress: Focus on mechanisms and management strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 799.
Nadolska-Orczyk, A., Rajchel, I. K., Orczyk, W., & Gasparis, S. (2017). Major genes determining yield-related traits in wheat and barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 130, 1081-1098.
Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
Qaseem, M. F., Qureshi, R., Muqaddasi, Q. H., Shaheen, H., Kousar, R., & Röder, M. S. (2018). Genome-wide association mapping in bread wheat subjected to independent and combined high temperature and drought stress. *PLoS one*, 13(6), e0199121.
Quarrie, S. A., Steed, A., Calestani, C., Semikhodskii, A., Lebreton, C., Chinoy, C., ... & Dodig, D. (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, 865-880.
Quraishi, U. M., Murat, F., Abrouk, M., Pont, C., Confolent, C., Oury, F. X., ... & Salse, J. (2011). Combined meta-genomics analyses unravel candidate genes for the grain dietary fiber content in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Functional & integrative genomics*, 11, 71-83.
Rasheed, A., Wen, W., Gao, F., Zhai, S., Jin, H., Liu, J., ... & He, Z. (2016). Development and validation of KASP assays for genes underpinning key economic traits in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 129, 1843-1860.
Rizza, F., Badeck, F. W., Cattivelli, L., Lidestri, O., Di Fonzo, N., & Stanca, A. M. (2004). Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop science*, 44(6), 2127-2137.
Saeidi, M., & Abdoli, M. (2015). Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(4), 885-898.
Sallam, A., Eltaher, S., Alqudah, A. M., Belamkar, V., & Baenziger, P. S. (2022). Combined GWAS and QTL mapping revealed candidate genes and SNP network controlling recovery and tolerance traits associated with drought tolerance in seedling winter wheat. *Genomics*, 114(3), 110358.
Sallam, M., Benhajali, H., Savoia, S., de Koning, D. J., & Strandberg, E. (2022). Across-countries genomic prediction using national breeding values or multitrait across-countries evaluation breeding values. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3282-3295.
Sarto, M. V. M., Sarto, J. R. W., Rampim, L., Rosset, J. S., Bassegio, D., da Costa, P. F., & Inagaki, A. M. (2017). Wheat phenology and yield under drought: a review. *Australian Journal of Crop Science*, 11(8), 941-946.
SAS (Statistical Analysis System) Institute, 2002-2010. The SAS software for windows, version 9.3, INC, Cary, NC, USA.
Scherer, A., & Christensen, G. B. (2016). Concepts and relevance of genome-wide association studies. *Science Progress*, 99(1), 59-67.

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]

Schneekloth, J., Bauder, T., & Hansen, N. (2009). Limited irrigation management: principles and practices. Crop series. Irrigation; no. 4.720.
Shokat, S., Sehgal, D., Liu, F., & Singh, S. (2020). GWAS analysis of wheat pre-breeding germplasm for terminal drought stress using next generation sequencing technology.
Sivamani, E., Bahieldin, A., Wraith, J. M., Al-Niemi, T., Dyer, W. E., Ho, T. H. D., & Qu, R. (2000). Improved biomass productivity and water use efficiency under water deficit conditions in transgenic wheat constitutively expressing the barley HVA1 gene. *Plant science*, 155(1), 1-9.
Spataro, G., Tiranti, B., Arcaleni, P., Bellucci, E., Attene, G., Papa, R., ... & Negri, V. (2011). Genetic diversity and structure of a worldwide collection of Phaseolus coccineus L. *Theoretical and applied genetics*, 122, 1281-1291.
Su, J., Zhang, F., Chong, X., Song, A., Guan, Z., Fang, W., & Chen, F. (2019). Genome-wide association study identifies favorable SNP alleles and candidate genes for waterlogging tolerance in chrysanthemums. Horticulture research, 6.
Sukumaran, S., & Yu, J. (2014). Association mapping of genetic resources: achievements and future perspectives. Genomics of Plant Genetic Resources: Volume 1. Managing, sequencing and mining genetic resources, 207-235.
Sukumaran, S., Reynolds, M. P., & Sansaloni, C. (2018). Genome-wide association analyses identify QTL hotspots for yield and component traits in durum wheat grown under yield potential, drought, and heat stress environments. Frontiers in plant science, 9, 81.
Todaka, D., Zhao, Y., Yoshida, T., Kudo, M., Kidokoro, S., Mizoi, J., ... & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2017). Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions. The Plant Journal, 90(1), 61-78.
Tuberosa, R., & Salvi, S. (2006). Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. Trends in plant science, 11(8), 405-412.
United Nations. (2019). World Population Prospects 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/423) (United Nations: Department of Economic and Social Affairs, Population Division). Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12283219.
Wang, S., Wong, D., Forrest, K., Allen, A., Chao, S., Huang, B. E., ... & Akhunov, E. (2014). Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. Plant biotechnology journal, 12(6), 787-796.
Wang, X., Vignjevic, M., Liu, F., Jacobsen, S., Jiang, D., & Wollenweber, B. (2015). Drought priming at vegetative growth stages improves tolerance to drought and heat stresses occurring during grain filling in spring wheat. Plant Growth Regulation, 75, 677-687.
Zadoks, J. C., Chang, T. T., & Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. Weed research, 14(6), 415-421.
Zare-Kohan, M., N. Babaeian Jelodar, R. Aghnoum, S.A. Tabatabaee, S.K. Kazemi Tabar. (2018). Association mapping of some phenological traits in barley under salt stress. Journal of Crop Breeding, 10(26), 12-21.
Zhao, C., Y. Bao, X. Wang, H. Yu, A. Ding, C. Guan, J. Cui, Y. Wu, H. Sun, X. Li and D. Zhai. (2018). QTL for flag leaf size and their influence on yield-related traits in wheat. Euphytica, 214(11):1-15.
Zhu, C., Gore, M., Buckler, E. S., & Yu, J. (2008). Status and prospects o
Zhu, J. K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. Annual review of plant biology, 53(1), 247-273.

[DOI: 10.61186/jcb.15.48.164]