



## Genome-wide association study for agronomic traits in spring bread wheat under different water conditions

Ahmad Majidi-Mehr<sup>1</sup>, Mohammad Hadi Pahlavani<sup>2\*</sup>, Khalil Zaynali Nezhad<sup>3</sup>, Rahmatollah Karimizadeh<sup>4</sup> and Andeas Borner<sup>5</sup>

1. Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (\*Corresponding author: [hpahlavani@yahoo.com](mailto:hpahlavani@yahoo.com))
3. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
4. Research Assistant Professor, Dryland Agricultural Research Institute, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Research Organization (AREEO), Gachsaran, Iran
5. Professor, Department of Genebank, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Leibniz, Germany

### Comprehensive abstract

#### Introduction

The main goal of genome-wide association study (GWAS) is to identify genes associated with a specific trait. In this mapping method, researchers compare the whole genomic DNA sequence of people in the community to find single nucleotide differences between them. Identifying and mapping effective genes in response to drought stress, in addition to understanding the molecular and physiological mechanisms, can provide breeders with a better understanding of the genetic structure of population and the genetic control of stress and its breeding in the studied population. In this experiment, the mapping genes controlling important agronomic traits of bread wheat under two non-stress and drought stress conditions using genome wide association analysis method was performed. The objective of the experiment was to analyze QTLs related to the response to water deficit and to identify markers related to some important and effective traits in bread wheat.

#### Materials and methods

The plant materials of this experiment were 121 spring bread wheat genotypes, including 111 lines obtained from local spring bread wheat varieties originating from 28 countries from five different continents and 10 spring bread wheat genotypes from Iran and Pakistan, which were evaluated under two non-stress and water deficit stress conditions in the field. Genotyping for the samples was done using SNP markers (15 K SNP array) at TraitGenetic Company in Germany, and each genotype was evaluated using a set of SNPs. To determine the population structure, 147 SNP markers with no missing data and with suitable distribution on 21 homologous chromosome pairs of bread wheat (seven markers per chromosome) were used. To determine the possible sub-populations and studying the population structure, Bayesian method and Structure software V 2.3.4 were used, and then the average fixation index (Fst) and membership matrix (Q) were calculated with the same software. Genome-wide association analysis with the general linear model (Q+PCA) method was used to identify the markers related to the studied traits under non-stress and drought stress conditions with average data in TASSEL 5.0 software.



## Research findings

The results of analysis of variance showed that there was an acceptable genetic diversity in terms of all the studied traits between the genotypes and reaction of the genotypes to water deficit stress was different. Based on genome-wide association mapping, in total, 511 and 469 significant marker-trait relationships were identified under non-stress and water deficit stress conditions, respectively. The most significant marker-trait association under water deficit stress was revealed for plant height, flag leaf area, peduncle length, and spike yield on chromosomes 1A, 2A, 3B, and 2A, respectively. Also, five SNP markers at positions of 113.30, 25.02, 13.90, 43.10, and 71.97 cM on chromosomes 2A, 2A, 5A, 6A, and 6B, respectively, showed the highest significant associations with flag leaf length and area, plant height, peduncle length, and spike yield under water deficit stress conditions, respectively. Multi-trait loci were also identified on chromosome 2A for flag leaf length, width and area, plant height and spike yield under water stress conditions. Finally, 21, 12, 14, 44, 92 and 14 significant marker-trait associations (QTLs) were found for flag leaf length, width and area, plant height, peduncle length and spike yield under water deficit stress conditions, respectively, using genome-wide association study.

## Conclusion

The results of this study provided valuable information on the genetic basis of the studied traits under water deficit stress conditions, which can be used in bread wheat breeding programs, including marker assisted selection (MAS).

**Keywords:** General linear model, Genome, Marker, QTL, SNP

---

Received: February 16, 2022

Accepted: May 18, 2022

## Cite this article:

**Majidi-Mehr, A., Pahlavani, M.H., Zaynali Nezhad, Kh., Karimizadeh, R. and Borner, A. 2022.** Genome-wide association study for agronomic traits in spring bread wheat under different water conditions. **Cereal Research** 12 (1): 1-19.



## تحلیل ارتباط در گستره ژنوم صفات زراعی در گندم نان بهاره تحت شرایط متفاوت آبی

احمد مجیدی مهر<sup>۱</sup>، محمد هادی پهلوانی<sup>۲\*</sup>، خلیل زینلی نژاد<sup>۳</sup>، رحمت‌الله کریمی‌زاده<sup>۴</sup> و آندریاس برنر<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران (\* نویسنده مسئول:

[hpahlavani@yahoo.com](mailto:hpahlavani@yahoo.com)

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
۴- استادیار پژوهشی، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویراحمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گچساران، ایران  
۵- استاد، گروه بانک ژن، مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی لاینیز (آی.پی.کی.)، لاینیز، آلمان

### چکیده جامع

**مقدمه:** هدف اصلی تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS)، شناسایی ژن‌های مرتبط با یک صفت خاص است. در این روش نقشه‌یابی، محققین توالی DNA کل ژنومی افراد جامعه را با هدف یافتن تفاوت‌های تکنوکلوتیدی بین آن‌ها مورد مقایسه قرار می‌دهند. شناسایی و مکان‌یابی ژن‌های مؤثر در واکنش به کم‌آبی، علاوه بر شناخت مکانیسم‌های مولکولی و فیزیولوژیک، می‌تواند درک بهتری از ساختار ژنتیکی جمعیت و کنترل ژنتیکی تنش و نحوه اصلاح آن را در جمعیت مورد مطالعه در اختیار به‌نژادگر قرار دهد. در این آزمایش نیز نقشه‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مهم زراعی گندم نان تحت دو شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی با استفاده از روش تحلیل ارتباطی گستره ژنوم انجام شد. هدف از آزمایش، تحلیل QTL‌های مرتبط با واکنش به کم‌آبی و شناسایی نشانگرهای مرتبط با برخی صفات مهم و مؤثر در گندم نان بود.

**مواد و روش‌ها:** مواد گیاهی این آزمایش، ۱۲۱ ژنوتیپ گندم نان بهاره شامل ۱۱۱ لاین حاصل از توده‌های محلی گندم نان بهاره با منشأ ۲۸ کشور از پنج قاره مختلف و ۱۰ ژنوتیپ گندم نان بهاره از کشورهای ایران و پاکستان بود که تحت دو شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی در شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعیین ژنوتیپ برای نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای SNP (15 K SNP array) در شرکت TraitGenetic کشور آلمان انجام و هر ژنوتیپ با استفاده از مجموعه‌ای از SNP‌ها ارزیابی شد. برای تعیین ساختار جمعیت، از ۱۴۷ نشانگر SNP فاقد داده گم‌شده و با توزیع مناسب روی ۲۱ جفت کروموزوم همولوگ گندم نان (هر کروموزوم هفت نشانگر) استفاده شد. به‌منظور تعیین زیرگروه‌های احتمالی و بررسی ساختار جمعیت از روش بی‌زین و نرم‌افزار Structure V 2.3.4 استفاده و سپس با تعیین تعداد بهینه زیرگروه‌ها، میانگین شاخص تثبیت (Fst) و ماتریس سهم عضویت (Q) با همین نرم‌افزار محاسبه شد. در ادامه به‌منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی از تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم با روش مدل خطی عمومی (Q+PCA) در نرم‌افزار TASSEL 5.0 بر مبنای میانگین داده‌ها استفاده شد.

**یافته‌های تحقیق:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل قبولی از نظر کلیه صفات مورد مطالعه بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت و واکنش ژنوتیپ‌ها در مواجهه با تنش کم‌آبی متفاوت بود. بر اساس نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم، در مجموع

در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به‌ترتیب ۵۱۱ و ۴۶۹ ارتباط معنی‌دار نشانگر- صفت شناسایی شد. بیش‌ترین ارتباط معنی‌دار نشانگر- صفت در تنش کم‌آبی برای صفات ارتفاع بوته، سطح برگ پرچم، طول پدانکل و عملکرد سنبله به‌ترتیب روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 3B و 2A مشاهده شد. همچنین، پنج نشانگر SNP به‌ترتیب در جایگاه‌های ۱۱۳/۳۰، ۲۵/۰۲، ۱۳/۹۰، ۴۳/۱۰ و ۷۱/۹۷ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های 2A، 2A، 5A، 6A و 6B دارای بالاترین ارتباط معنی‌دار با صفات طول و سطح برگ پرچم، ارتفاع بوته، طول پدانکل و عملکرد سنبله تحت شرایط تنش کم‌آبی بودند. علاوه بر این، مکان‌های چند صفتی نیز روی کروموزوم 2A برای صفات طول، عرض و سطح برگ پرچم، ارتفاع بوته و عملکرد سنبله تحت شرایط تنش کم‌آبی شناسایی شد. در نهایت بر اساس تحلیل ارتباطی گستره ژنوم، به‌ترتیب ۲۱، ۱۲، ۱۴، ۴۴، ۹۲ و ۱۴ ارتباط معنی‌دار نشانگر- صفت (QTLs) برای صفات طول، عرض و سطح برگ پرچم، ارتفاع بوته، طول پدانکل و عملکرد سنبله تحت شرایط تنش کم‌آبی شناسایی شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از این مطالعه، اطلاعات ارزشمندی را در زمینه مبنای ژنتیکی صفات مورد مطالعه در محیط تنش کم‌آبی ارائه داد که می‌توان از آنها در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان از جمله گزینش به‌کمک نشانگر (MAS) استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** ژنوم، مدل خطی عمومی، نشانگر، SNP، QTL

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۲۸

**نحوه استناد به این مقاله:**

مجیدی مهر، احمد، پهلوانی، محمد هادی، زینلی‌نژاد، خلیل، کریمی‌زاده، رحمت‌اله و برنر، آندریاس. ۱۴۰۱. تحلیل ارتباط در گستره ژنوم صفات زراعی در گندم نان بهاره تحت شرایط متفاوت آبی. *تحقیقات غلات* ۱۲ (۱): ۱-۱۹.

## مقدمه

گندم نان یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی و اقتصادی در دنیا به شمار می‌رود. طبق آمار فائو در سال ۲۰۲۰ (FAO, 2022) تقریباً ۷۶۶/۰۳ میلیون تن گندم در پنج قاره جهان تولید شده است. مصرف‌کنندگان این محصول در ۹۰ کشور که در حدود ۴۰ درصد از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهند زندگی می‌کنند (Cook *et al.*, 2018). ایران با متوسط ۲۴۰ میلی‌متر بارندگی در زمره مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان قرار دارد. طبق آمارنامه محصولات زراعی در ایران میزان تولید گندم دیم در حدود ۵/۵ میلیون تن است که این مقدار حدود ۷۱/۵ درصد از کل میزان تولید محصولات زراعی دیم را تشکیل می‌دهد. تولید گندم دیم عمدتاً در پنج استان کردستان (۱۵/۸٪)، گلستان (۱۲/۶٪)، آذربایجان شرقی (۹٪)، کرمانشاه (۷٪) و آذربایجان غربی (۶/۸٪) صورت می‌گیرد (Agricultural Statistics, 2018).

واکنش به کم‌آبی صفت پیچیده و کمی است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود و از این رو شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیک و مولکولی تحمل به کم‌آبی دشوار است (Senapati *et al.*, 2019). جهت غلبه بر مشکل وراثت‌پذیری پایین تحمل به کم‌آبی همانند اغلب صفات کمی، پژوهشگران از نشانگرهای مولکولی DNA بهره برده‌اند و یافته‌های مطلوبی در بهبود تحمل به کم‌آبی در غلات به دست آورده‌اند (Sukumaran *et al.*, 2018). بدین منظور از روش‌های مختلفی مانند مکان‌یابی QTL (Quantitative Trait Loci)، تجزیه ارتباط، تجزیه کل ژنوم و تجزیه الگوی بیان ژن با هدف شناسایی ژن‌های مرتبط با صفات یا QTL‌های دخیل در تحمل به خشکی استفاده می‌شود (Hu and Xiong, 2014).

نشانگرهای SNP برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها بسیار مفید هستند، زیرا فراوانی این نوع نشانگرها نسبت به دیگر نشانگرها بسیار زیاد بوده و ارزیابی افراد جمعیت با این نوع نشانگر به زمان کم‌تری نیاز دارد. به‌علاوه به‌دلیل نرخ پایین جهش نسبت به نشانگرهای ریزماهوره، SNP‌ها برای مطالعه و بررسی چگونگی تکامل ژنوم بسیار مفید می‌باشند (Varsheny *et al.*, 2007). یکی از کاربردهای این نشانگرها استفاده از آن‌ها در تعیین ساختار جمعیت است. قدرت آماری تعیین ساختار جمعیت با تعداد نشانگر به کار رفته ارتباط مستقیم دارد (Kalinowski, 2002). امروزه، آرایه‌های تعیین ژنوتیپ

SNP با تراکم بالا، به‌طور گسترده‌ای برای مطالعه الگوهای ژنومی تنوع و استنتاج روابط خویشاوندی و شناسایی روابط نشانگر-صفت در ژرم‌پلاسم استفاده می‌شوند (Wang *et al.*, 2014).

اطلاع از مکان‌های ژنی صفات کمی و نیز پیدا کردن مقدار اثر آن‌ها روی صفات کمی در مبحثی تحت عنوان نقشه‌یابی مکان ژنی صفت کمی (QTL) مطرح می‌شود. دو روش رایج برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات کمی، نقشه‌یابی پیوستگی و نقشه‌یابی ارتباطی هستند (Flint-Garcia *et al.*, 2005). یکی از روش‌های مفید در جهت یافتن QTL‌های مرتبط با تحمل به تنش خشکی، استفاده از مطالعات نقشه‌یابی ارتباطی به‌واسطه بهره‌جستن از تنوع موجود در جمعیت‌های طبیعی و لحاظ کردن تمامی وقایعی که در طول تکامل در ژنوم آن‌گونه رخ داده است، ارتباط بین تنوع فنوتیپی و چندشکلی موجود در ژنوم را شناسایی می‌کند (Zhu *et al.*, 2008)، و همچنین با استفاده از نشانگرهایی با فراوانی و توزیع گسترده‌تر، نسبت به روش QTL mapping از دقت بالاتری برخوردار است (Elshire *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2014).

برای مطالعات نقشه‌یابی ارتباطی، دو روش به نام‌های تحلیل ارتباط در گستره ژنوم و تحلیل ارتباطی ژن‌های کاندید وجود دارد (Darvishzadeh *et al.*, 2017). تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS: Genome Wide Association Study) در گندم به‌دلایل بزرگ‌تر بودن ژنوم، توالی ناقص ژنوم و پلی‌پلوئید بودن چالش برانگیز است. این عوامل تعیین نشانگرها برای کروموزوم‌های همولوگ را بسیار مشابه دشوار می‌کنند (Sukumaran and Yu, 2014). بنابراین یک رویکرد متاژنومی با استفاده از تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای غلات و تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم (GWAS) ممکن است فرصتی برای تسریع در شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی در گندم را فراهم کند (Quraishi *et al.*, 2011).

گسترش روش‌های مبتنی بر مکان‌یابی ارتباطی به‌ویژه روش GWAS در گیاهان موجب افزایش کارایی شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی در گیاهان مختلف شده است (Liu *et al.*, 2003) در گندم نان، ریزآرایه SNP طراحی و در بررسی ساختار جمعیت و بدون تعادل لینکازی که پیش‌نیاز انجام نقشه‌یابی ارتباطی است، مورد

در نیمه دوم اسفندماه قبل از به ساقه رفتن بوته‌های گندم، بلافاصله بعد از بارندگی در منطقه، از کود نیترات آمونیوم به صورت سرک استفاده شد. در این سال، میزان بارندگی در ایستگاه گچساران ۵۹۱/۵ میلی‌متر بود که در مقایسه با میانگین بلندمدت، 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. به عبارت دیگر، ۷۳/۹۱ درصد بارش‌ها در پاییز و ۲۶/۰۸ درصد در زمستان به وقوع پیوست و در بهار بارشی انجام نشد. داده‌های درجه حرارت نیز نشان می‌دهد که متوسط دمای سال زراعی اخیر ۱۸/۵ درجه سلسیوس بود که نسبت به میانگین بلندمدت و سال زراعی گذشته ۰/۷ درجه سلسیوس کاهش داشت. تعداد روزهای یخبندان نیز در سال زراعی اخیر دو روز بود که در مقایسه با میانگین بلندمدت و سال زراعی گذشته یک روز کاهش نشان می‌دهد.

آزمایش در قالب طرح لاتیس ساده ۱۱×۱۱ با ۱۲۱ ژنوتیپ اجرا شد. مواد گیاهی آزمایش (جدول ۱)، شامل ۱۱۱ لاین حاصل از توده‌های محلی گندم نان بهاره با منشأ مختلف از ۲۸ کشور جهان در پنج قاره آسیا، اروپا، آمریکای شمالی و جنوبی و اقیانوسیه بود که به منظور کامل کردن بلوک‌های ناقص از ۱۰ ژنوتیپ گندم نان بهاره از کشورهای ایران و پاکستان نیز استفاده شد. برای سهولت در شناسایی ژنوتیپ‌ها، از اعداد یک تا ۱۲۱ برای نام‌گذاری آنها استفاده شد، اما تجزیه و تحلیل‌های مولکولی روی ۱۱۱ ژنوتیپ اصلی انجام شد. بذر تمامی این ژنوتیپ‌ها از موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی کشور آلمان (IPK-Gatersleben) تهیه شد و در بانک ژن گندم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان نگهداری می‌شود. آزمایش شامل دو تکرار بود که به طور جداگانه در دو شرایط آزمایش دیم (تنش کم‌آبی) و آبیاری تکمیلی (عدم تنش) اجرا شد. در هر تکرار بذرهاى ضد عفونی شده ۱۲۱ ژنوتیپ گندم نان با تیپ رشد بهاره کشت شدند. هر کرت آزمایشی شامل یک خط به طول یک متر بود و بذرها با فاصله پنج سانتی‌متر و در عمق حدود سه الی پنج سانتی‌متری خاک کشت شدند. فاصله بین دو خط (کرت) ۲۵ سانتی‌متر، طول هر بلوک ناقص در این آزمایش ۲/۵ متر و فاصله بین بلوک‌های ناقص که به عنوان راهرو در نظر گرفته شد نیز ۱/۵ متر بود و در هر بلوک

استفاده قرار گرفته‌اند ( Gahlaut *et al.*, 2019; Qaseem *et al.*, 2019; Rabbi *et al.*, 2021; Gahlaut *et al.*, 2021; Ahmed *et al.*, 2022). بررسی روابط بین نشانگرهای مختلف کاربردهای متعددی دارد که می‌توان به شناسایی آلل‌های صفات مطلوب در مجموعه‌های ذخایر توراخی، امکان ارزیابی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص، امکان‌سنجی مکان‌یابی دقیق آلل‌های صفات کمی و تایید ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات کمی اشاره نمود (Sonmezoglu and Terzi., 2018). ارتباط صفات با نشانگرها در شرایط تنش خشکی در گندم نان توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (Liu *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017; Qaseem *et al.*, 2018; Beyer *et al.*, 2019; Ahmed *et al.*, 2021; Rabbi *et al.*, 2021).

از آنجایی که شناسایی و مکان‌یابی ژن‌های مؤثر در واکنش به کم‌آبی، علاوه بر شناخت مکانیسم‌های مولکولی و فیزیولوژیک، می‌تواند درک بهتری از ساختار و کنترل ژنتیکی تنش و نحوه اصلاح آن در اختیار به‌نژادگر قرار دهد، این مطالعه طراحی و اجرا شد که هدف از آن (۱) تحلیل QTL‌های مرتبط با واکنش به کم‌آبی و (۲) شناسایی نشانگرهای مرتبط با برخی صفات مهم و مؤثر در گندم نان بود.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان طراحی و کشت و ارزیابی ژنوتیپ‌ها در مزرعه پژوهشی پردیس تحقیقات و آموزش کشاورزی در شهرستان گچساران از توابع استان کهگیلویه و بویراحمد در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ انجام شد. 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 دارای آب‌وهوای مدیترانه‌ای با تابستان گرم و زمستان نسبتاً مرطوب و ملایم است. خاک مزرعه آزمایشی از نوع خاک‌های قهوه‌ای با بافت لومی رسی سیلتی می‌باشد. برای اجرای آزمایش قبل از رسیدن فصل کاشت با استفاده از گاواهن 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 گاواهن و دیسک با خاک مخلوط شد. برای تکمیل کردن ازت مورد نیاز گیاه،

بیزین و نرم‌افزار Structure V 2.3.4 (Pritchard et al., 2003 and Falush et al., 2000) استفاده شد. این آنالیز روی ۱۱۱ ژنوتیپ گندم نان بهاره با ۱۰۰۰۰۰ بار Burn-in (استقلال آلی) و ۱۰۰۰۰۰ تکرار MCMC (Marker Chain Momte 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 به دست آمده بود، میانگین شاخص تثبیت (Fst) و ماتریس سهم عضویت (Q) با همین نرم‌افزار محاسبه شد. سپس با استفاده از داده‌های فنوتیپی، داده‌های ژنوتیپی و اطلاعات ساختار جمعیت، SNP‌های مرتبط با تحمل به تنش کم‌آبی شناسایی شدند.

تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم با استفاده از نرم‌افزار آماری TASSEL و روش مدل خطی عمومی (GLM) همراه با ماتریس Q و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با توجه به بیش از ۸۰ درصد (PCA) با ۵۲ مؤلفه استفاده شد. برای تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم فقط از آل‌های با فراوانی بیش از پنج درصد استفاده شد. در ادامه به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی از تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم با روش مدل خطی عمومی (Q+PCA) با میانگین داده‌ها در نرم‌افزار TASSEL 5.0 استفاده شد. برای تحلیل ارتباطی فقط نشانگرهای با فراوانی بیش از ده درصد مورد استفاده قرار گرفت و مقادیر آماره P-value کم‌تر از ۰/۰۰۱ با ۱۰۰۰ جایگشت برآورد شد.

### نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس بر مبنای طرح لاتیس ساده ملاحظه می‌شود که مزیت نسبی این طرح نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای اکثر صفات در هر دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی برای صفات مورد بررسی کم (کمتر از صد) بود، از این رو برآورد واریانس‌ها و امید ریاضی میانگین مربعات بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی صورت گرفت (جدول ۲). نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس طبق جدول ۲ نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات در هر دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت که این موضوع بیانگر وجود تنوع ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه و احتمال وجود

ناقص ۱۱ ژنوتیپ گندم نان کشت شد. بین تکرارهای اول و دوم پنج خط به صورت نکاشت (۱/۲۵ متر) گذاشته شد. مبارزه با علف‌های هرز با روش وجین دستی در چندین مرحله صورت گرفت. منبع تأمین رطوبت برای هر دو شرایط محیطی آزمایش دیم (شرایط تنش) و آبیاری تکمیلی (شرایط آبی)، نزولات آسمانی و آبیاری بارانی تا قبل از مرحله فنولوژیکی آغاز گلدهی یا گرده‌افشانی (مقیاس ۶۱ زادوکس) بود (Zadocs et al., 1974). قطع آبیاری در محیط تنش (شرایط دیم) در مرحله شروع گلدهی اعمال شد که تا مرحله برداشت تداوم داشت، اما در محیط بدون تنش (شرایط آبی)، آبیاری در دو نوبت زمانی که بوته‌های گندم به اوایل مرحله زایشی، مراحل گلدهی و شروع پر شدن دانه و مرحله خمیری دانه (مقیاس ۶۱ الی ۸۳ زادوکس) رسیدند، انجام شد. صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل طول و عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، طول غلاف برگ پرچم (سانتی‌متر)، سطح برگ به روش راسون و همکاران (Rawson et al., 1988)، سانتی‌متر مربع، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، طول پدانکل (سانتی‌متر)، نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و عملکرد سنبله (گرم) بود.

به‌منظور ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، هر ژنوتیپ با استفاده از مجموعه‌ای از SNP‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ با استفاده از نشانگرهای SNP (15 K SNP array) در شرکت TraitGenetic کشور آلمان صورت گرفت. داده‌های SNP به دست 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 روی کروموزوم‌ها (در مجموع ۱۴۷ نشانگر) انتخاب شد و بر مبنای آنها، ساختار جمعیت (ماتریس Q) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE 2.3 و تعداد زیرجمعیت‌ها (K) که ساختار جمعیت را بهتر نشان می‌دهند، توسط نرم‌افزار Structure Harvester تعیین شد. معیار انتخاب این نشانگرها توزیع یکنواخت در سراسر کروموزوم و نداشتن داده گم‌شده و داده هتروزیگوت بود. داده‌های ۱۴۷ نشانگر به صورت 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

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 جهت انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در شرایط  
 کم‌آبی و درک بهینه سازوکارهای مرتبط با تحمل به تنش  
 کم‌آبی در گندم مؤثر است. مشاهده تنوع ژنتیکی همچنین  
 بیانگر تناسب جامعه مورد مطالعه برای تحلیل ارتباطی در  
 گستره ژنوم بود.

جدول ۱- کد و منشأ ژنوتیپ‌های استفاده شده در این آزمایش

Table 1. Codes and origin of the studied genotypes in this experiment

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

<sup>†</sup> USA, United States of America; CHN, China; NPL, Nepal; IND, India; AFG, Afghanistan; PRT, Portugal; GER, Germany; NZL, New Zealand; GBR, Great Britain; URY, Uruguay; CAN, Canada; FRA, France; ITA, Italia; IRN, Iran; Mex, Mexico; AUT, Australia; Pak, Pakistan; USSR, Union of Soviet Socialist Republics; CHL, Chile; SWE, Sweden; EST, Estonia; ARG, Argentina; ESP, Espania; BGR, Bulgaria; BRA, Brazil; JPN, Japan; CYP, Cyprus; GRC, Greece; UNM, unnonymous.



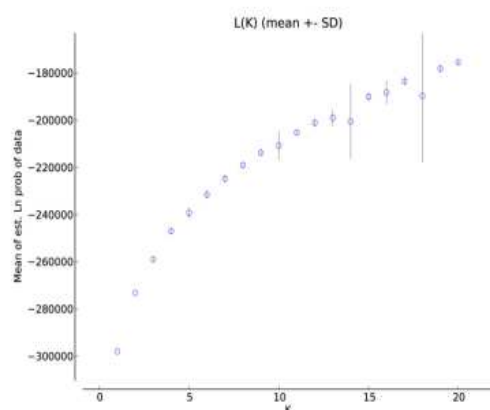
جدول ۲- میانگین مربعات صفات زراعی در تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های گندم نان بهاره تحت شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی

Table 2. Mean squares of the agronomic traits in analysis of variance of the spring bread wheat genotypes under non-stress and water-deficit stress conditions

Trait	Source of variation						Coefficient of variation (%)	
	Replication		Genotype		Error			
	Normal	Stress	Normal	Stress	Normal	Stress		
Flag leaf length	15.11*	0.0003 <sup>ns</sup>	40.12**	16.07**	0.94	2.69	8.10	6.43
Flag leaf width	0.007 <sup>ns</sup>	0.006 <sup>ns</sup>	0.13**	0.11**	0.009	0.01	8.39	8.56
Flag leaf sheath length	34.86 <sup>ns</sup>	0.24 <sup>ns</sup>	30.12**	17.41**	0.60	18.65	20.34	3.68
Area flag leaf	10.45 <sup>ns</sup>	0.50 <sup>ns</sup>	105.81**	41.68**	1.88	6.05	13.49	10.95
Peduncle length	0.006 <sup>ns</sup>	1.43 <sup>ns</sup>	63.80**	68.34**	4.14	1.39	3.81	7.73
Plant height	20.64*	45.89**	201.15**	158.04**	5.80	3.16	2.41	3.67
Peduncle length to plant height ratio	0.0002 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.005**	0.008**	0.0003	0.001	4.22	8.43
Spike yield	0.02 <sup>ns</sup>	0.43**	0.35**	0.27**	0.02	0.02	9.01	12.69

<sup>ns</sup>, \* and \*\*: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

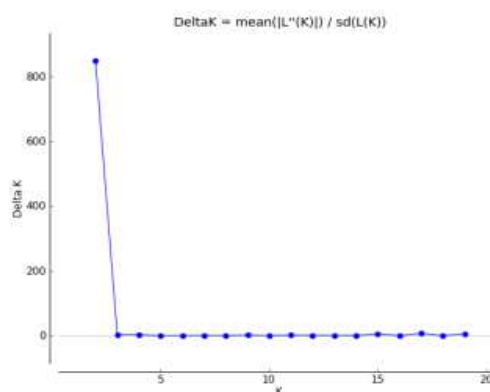
گندم بهاره (شکل ۳) نیز تأییدی بر مقدار K بهینه می‌باشد که محور افقی مربوط به ژنوتیپ‌ها و محور عمودی سهم تعلق هر فرد به هر گروه را نشان می‌دهد. همچنین در این بار پلات، وقتی درصد عضویت یک ژنوتیپ به یک گروه بیشتر یا مساوی ۰/۷ باشد، ژنوتیپ به آن گروه نسبت داده می‌شود، ولی اگر درصد عضویت کم‌تر از این مقدار باشد، به‌عنوان ژنوتیپ ترکیبی (مخلوط) در نظر گرفته می‌شود (Spataro *et al.*, 2011). در اینجا هر گروه با رنگی متمایز مشخص شده است که دو رنگ مجزا از هم برای هر فرد نشان‌دهنده تعلق آن فرد به یکی از دو گروه یا هر دو گروه می‌باشد.



شکل ۲- لگاریتم مقادیر حداکثر درست‌نمایی برای تجزیه ساختار جمعیت به‌وسیله نرم‌افزار Structure Harvester بر اساس ۱۴۷ نشانگر SNP. تعداد بهینه زیرجمعیت K=2 است.

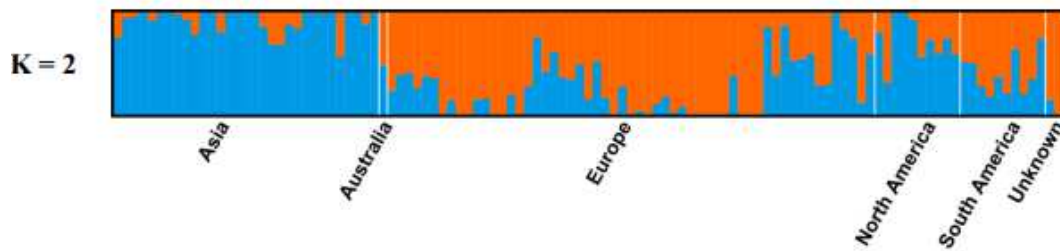
Figure 2. Log-likelihood values for population structure analysis by Structure Harvester software based on 147 SNP markers. The number of sub-populations is 2.

به‌منظور تعیین تعداد زیرجمعیت‌ها با ساختار ژنتیکی متفاوت در لاین حاصل از توده‌های محلی گندم نان بهاره، تجزیه ساختار جمعیت بر مبنای داده‌های ۱۴۷ نشانگر SNP با استفاده از نرم‌افزار Structure انجام و مقادیر delta K برای هر مقدار K (تعداد زیرجمعیت) برآورد شد. از آنجایی‌که بیش‌ترین مقادیر delta K برای K=2 (دو زیرجمعیت) مشاهده شد، بنابراین ۱۱۱ ژنوتیپ در دو زیرگروه تقسیم شدند (شکل‌های ۱ و ۲). در نهایت با قرار دادن K=2 در نرم‌افزار Structure ماتریس Q (به‌علت حجم زیاد داده‌ها ذکر نشده است) به‌دست آمد. بارپلات ارائه شده توسط نرم‌افزار Structure برای ۱۱۱ ژنوتیپ



شکل ۱- مقادیر Delta K در تجزیه ساختار جمعیت به‌وسیله نرم‌افزار Structure Harvester بر اساس ۱۴۷ نشانگر SNP. تعداد بهینه زیرجمعیت K=2 است.

Figure 1. Delta K values in population structure analysis by Structure Harvester software based on 147 SNP markers. The number of sub-population is 2.



شکل ۳- تجزیه ساختار جمعیت بر مبنای توزیع قاره‌ای ژنوتیپ‌های گندم بهاره با استفاده از ۱۴۷ نشانگر SNP. هر رنگ نشان‌دهنده یک زیرجمعیت (K=۲) است. خطوط عمودی سفید نیز جدایی بین قاره‌ها را نشان می‌دهد.

Figure 3. Population structure analysis based on continental distribution of spring wheat genotypes using 147 SNP markers. Each color represents a subpopulation (K = 2). The white vertical lines indicate the separation between continents.

در شرایط تنش کم‌آبی  $1.49E-04-8.62E-04$  و نیز دامنه  $R^2$  برای این صفت ۹.۶۰-۱۹.۸۵ درصد بود (جدول ۲ و ۳). برای ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش، تعداد ۴۲ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت مشاهده شد. دامنه  $R^2$  برای ارتفاع بوته ۹.۶۱-۱۴.۷۵ درصد و دامنه سطح معنی‌داری (لگاریتم (P)) آن  $4.42E-05-1.85E-02$  بوده است. تعداد ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت برای ارتفاع بوته در شرایط تنش کم‌آبی ۴۴ عدد بود. دامنه سطح معنی‌داری و  $R^2$  در این شرایط به ترتیب  $6.35E-07-9.90E-04$  و  $9.60-20.60$  درصد بود. برای صفت طول غلاف برگ پرچم در شرایط تنش کم‌آبی تعداد ۱۸۸ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت مشاهده شد. دامنه  $R^2$  برای این ویژگی  $9.59-19.09$  درصد بود. در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی تعداد ۱۵۰ و ۹۲ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت برای طول پدانکل دیده شد. میزان دامنه  $R^2$  برای این ویژگی در شرایط تنش  $9.73-17.31$  وجود ۱۵۳ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار برای نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش مشاهده شد. عملکرد سنبله در شرایط عدم تنش تعداد ۲۳ عدد ارتباط نشانگر-صفت برای ویژگی عملکرد سنبله در این پژوهش مشاهده شد و دامنه سطح معنی‌داری برای آن  $1.56E-05-9.65E-04$  بود. دامنه  $R^2$  برای عملکرد سنبله در شرایط عدم تنش  $10.06-17.10$  بود که بالاترین حدود دامنه را برای  $R^2$  را در شرایط عدم تنش در این پژوهش به خود اختصاص داد. تعداد ۱۴ ارتباط نشانگر-صفت در شرایط تنش کم‌آبی برای ویژگی عملکرد سنبله با دامنه سطح معنی‌داری  $2.78E-06-9.33E-04$  و دامنه  $R^2$  ( $10.33-19.29$ ) در این پژوهش مشاهده شد.

در مجموع نتایج حاصل از تحلیل ارتباطی برای صفات مورد مطالعه با تعداد ۱۰۲۹۷ نشانگر SNP با استفاده از روش GLM (PCA به‌عنوان عامل کمکی + ماتریس ساختار جمعیت یا Q حاصل از تجزیه ساختار جمعیت با دو زیرگروه شناسایی شده) نشان داد که بر اساس آستانه معنی‌داری  $-\log_{10}(p\text{-value}) \geq 3$  و  $P\text{-value} = 0.001$  تعداد ۵۱۱ و ۴۶۹ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت (QTL) به ترتیب برای شرایط عدم تنش (جدول ۳) و تنش کم‌آبی (جدول ۴) شناسایی شد. در شرایط عدم تنش، بیش‌ترین و کم‌ترین ارتباط معنی‌دار نشانگر - صفت، تعداد ۱۵۳ و ۲۴ QTL مربوط به صفات نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و عرض برگ پرچم و طول غلاف برگ پرچم بود. همچنین بیش‌ترین و کم‌ترین ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت برای شرایط تنش کم‌آبی به ترتیب با ۱۸۸ و ۱۲ QTL برای صفات طول غلاف برگ پرچم و عرض برگ پرچم مشاهده شد. طول برگ پرچم در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به ترتیب دارای ۵۲ و ۲۱ QTL بود که در شرایط عدم تنش بیش‌ترین و کم‌ترین QTL‌ها روی ژنوم B و D و در شرایط تنش کم‌آبی بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد QTL‌ها روی ژنوم‌های A و D قرار داشتند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). در تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم ۱۲ QTL در شرایط تنش کم‌آبی برای صفت عرض برگ پرچم روی کروموزوم‌های 1B، 2A، 2B، 3A، 6A و 7B یافت شدند. در شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به ترتیب تعداد ۴۳ و ۱۴ QTL برای صفت سطح برگ پرچم در این آزمایش مشاهده شد که در شرایط تنش کم‌آبی برای سطح برگ پرچم بیش‌ترین QTL به تعداد نه عدد روی ژنوم A مشاهده شد. دامنه سطح معنی‌داری برای سطح برگ پرچم در شرایط عدم تنش  $1.52E-06-9.92E-04$  و

### شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه تحت شرایط عدم تنش

نتایج تجزیه ارتباطی بر اساس مدل GLM (Q+PCA) نشان داد که در مجموع ۵۱۱ نشانگر ارتباط معنی‌داری ( $p \geq 0.0001$ ) با صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش داشتند (جدول ۳). در این مطالعه ۵۲ نشانگر با طول برگ پرچم، ۲۴ نشانگر با عرض برگ پرچم، ۴۳ نشانگر با سطح برگ پرچم (روی کروموزوم‌های 1A، 1B، 2A، 2B، 3A، 3B، 3D، 4A، 4B، 5A، 5B، 6A، 6B، 7A، 7B)، ۲۴ نشانگر با طول غلاف برگ پرچم، ۴۲ نشانگر با ارتفاع بوته (روی کروموزوم‌های 1A، 1D، 2A، 2B، 3A، 4A، 4D، 4A، 4B، 4C، 4D، 5A، 5B، 5D، 6A، 6B، 6D، 7A، 7B، 7D)، ۱۵۳ نشانگر با نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و ۲۳ نشانگر با عملکرد سنبله (روی کروموزوم‌های 1B، 1D، 2A، 2B، 3A، 3D، 4A، 4B، 5A، 5B، 6A، 6B، 7A) مرتبط بودند. بین سایر نشانگرها و صفات مورد مطالعه در شرایط عدم تنش، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (داده‌ها نشان داده نشده است). برخی از پژوهشگران در آزمایشی گزارش دادند که در شرایط محیطی کمبود آب ۵۰ عدد نشانگر SNP با سطح برگ پرچم روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 2B، 2D، 3A، 3B، 4A، 4B، 5A، 6D و 7A مرتبط بودند. تنوع فنوتیپی کلی که توسط این نشانگرهای مرتبط از ۱۰/۴۰٪ تا ۲۳/۴۰٪ متغیر بود (Ahmed et al., 2021).

### شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه تحت شرایط تنش کم‌آبی

بر اساس نتایج تحلیل ارتباطی بر اساس مدل GLM (Q+PCA) نشان داد که در مجموع ۴۶۹ نشانگر ارتباط

معنی‌داری ( $p \geq 0.001$ ) با صفات مورد مطالعه در شرایط تنش کم‌آبی داشتند (جدول ۴). در این مطالعه ۲۱ مکان ژنی با طول برگ پرچم (روی کروموزوم‌های 1B، 2A، 2B، 3A، 3D، 4A، 4B، 5A، 5B، 6A، 6B، 7A)، ۱۲ نشانگر با عرض برگ پرچم (روی کروموزوم‌های 1B، 2A، 2B، 3A، 3B، 6A و 7B)، ۱۴ نشانگر با سطح برگ پرچم (روی کروموزوم‌های 1A، 1B، 2A، 2B، 2D، 3A، 3B، 3D، 4A، 4B، 5A، 5B، 6A، 6B، 7A و 7B)، ۴۴ نشانگر با ارتفاع بوته (روی کروموزوم‌های 1A، 1B، 2A، 2B، 3A، 3B، 3D، 4A، 4B، 4C، 4D، 5A، 5B، 6A، 6B، 6D، 7A و 7B)، ۹۲ نشانگر با طول پدانکل (روی کروموزوم‌های 1A، 1B، 2A، 2B، 2D، 3A، 3B، 3D، 4A، 4B، 4C، 4D، 5A، 5B، 6A، 6B، 6D، 7A و 7B)، ۸۴ نشانگر با نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و ۱۴ نشانگر با عملکرد سنبله (روی کروموزوم‌های 2B، 3A، 3B، 4B، 5D، 6B و 7A) مرتبط بودند (داده‌ها نشان داده نشده است). در این مطالعه تعداد ارتباط نشانگر با صفت معنی‌دار برای صفات طول غلاف برگ پرچم و ارتفاع بوته در شرایط تنش کم‌آبی بیش‌تر از شرایط عدم تنش بود. نیومن و همکاران (Neumann et al., 2011) با مطالعه روی مجموعه ۹۶ گندم، شش QTL مشترک برای طول پدانکل و ارتفاع بوته در سطح ژنوم پیدا کردند. محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2016) با مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، تعداد ۵۹ QTL تحت شرایط دیم و آبیاری تکمیلی برای صفات عملکرد دانه، طول و عرض برگ پرچم و برگ دوم در گندم نان شناسایی کردند. علاوه بر این، هشت و نه QTL به‌ترتیب برای عرض و طول برگ پرچم تحت شرایط دیم شناسایی کردند.

جدول ۳- تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم برای صفات زراعی در ژنوتیپ‌های گندم بهاره با استفاده روش GLM برای شرایط عدم تنش

Table 2. Genome-wide association study for the agronomic traits in the spring wheat genotypes using GLM method under Normal condition

Trait	No. of significant marker-trait	Range of p-value	Range of R <sup>2</sup> (%)
Flag leaf length	52	1.03E-06-9.98E-04	9.67-20.42
Flag leaf width	24	7.60E-06-9.38E-04	9.73-17.44
Flag leaf sheath length	24	1.17E-04-9.02E-04	9.98-13.08
Flag leaf area	43	1.52E-06-9.92E-04	9.60-19.85
Plant height	42	4.42E-05-1.85E-02	9.61-14.75
Peduncle length	150	7.45E-06-9.78E-04	9.57-17.54
Peduncle length to plant height ratio	153	5.08E-07-9.99E-04	9.58-21.27
Spike yield	23	1.56E-05-9.65E-04	10.06-17.10

جدول ۴- تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم برای صفات زراعی در ژنوتیپ‌های گندم بهاره با استفاده روش GLM در شرایط تنش کم‌آبی

Table 3. Genome-wide association study for the agronomic traits in the spring wheat genotypes using GLM method under water-deficit condition.

Trait	No. of significant marker-trait	Range of p-value	Range of R <sup>2</sup> (%)
Flag leaf length	21	1.72E-04-9.36E-04	9.86-12.41
Flag leaf width	12	9.51E-05-8.92E-04	9.85-13.10
Flag leaf sheath length	188	1.91E-06-9.94E-04	9.59-19.09
Flag leaf area	14	1.49E-04-8.62E-04	9.81-12.74
Plant height	44	6.35E-07-9.90E-04	9.60-20.60
Peduncle length	92	7.52E-06-9.62E-04	9.73-17.31
Peduncle length to plant height ratio	84	2.42E-06-9.80E-04	9.73-18.84
Spike yield	14	2.78E-06-9.33E-04	10.33-19.29

### مکان‌یابی صفات مورد مطالعه

برای صفت طول غلاف برگ پرچم تحت شرایط تنش کم‌آبی، تعداد ۱۸۸ نشانگر دارای ارتباط معنی‌دار بودند که از بین آنها پنج نشانگر RAC875\_c46194\_201، wsnp\_Ku\_c2700، wsnp\_Ex\_c14087\_21997101، wsnp\_Ex\_c5121383، RAC875\_c25375\_236 و wsnp\_Ex\_c30264\_39202224 دارای ارتباط بسیار معنی‌دار بودند که به ترتیب در جایگاه‌های ۵۹/۷۸، ۸۵/۰۷، ۸۵/۰۷، ۶۲/۳۱ و ۸۵/۰۷ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های 3B، 6A، 6A، 3B و 6A قرار داشتند. از آنجایی که در شرایط تنش کم‌آبی، نشانگرهای wsnp\_Ex\_c14087\_21997101، wsnp\_Ku\_c2700\_5121383 و wsnp\_Ex\_c30264\_39202224 در جایگاه‌های نزدیک به هم روی کروموزوم 6A شناسایی شدند، معنی‌دار شدن هم‌زمان چندین نشانگر مجاور هم برای یک صفت حاکی از تأیید نتایج یک‌دیگر می‌باشد و نشان می‌دهد که ژن‌های کنترل‌کننده صفت طول غلاف برگ پرچم در این ناحیه کروموزومی قرار دارند.

برای صفت ارتفاع بوته در شرایط عدم تنش، نشانگر wsnp\_Ex\_c12341\_19693090 دارای بالاترین سطح معنی‌دار (4.42E-05) بود و ۱۴/۷۵ درصد از تغییرات ارتفاع بوته را توجیه کرد. در شرایط تنش کم‌آبی، تعداد ۴۴ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت شناسایی شد که نشانگرهای RAC875\_rep\_c74170\_236، wsnp\_Ku\_c23012\_32893918، wsnp\_Ex\_c19556\_c23012\_32893918، BS00022698\_51، Kukri\_c49170\_28530231 و BS00022698\_51 به ترتیب در جایگاه‌های ۱۳/۹۰، ۸۸/۸۴، ۷۳/۹۵، ۷۷/۷۸ و ۸۸/۰۲ روی کروموزوم‌های 1A، 2A، 1A، 5A و 1A دارای بالاترین سطح معنی‌دار بودند. نشانگر BS00022698\_51 (77.78 cM) همراه با دو نشانگر

صفت طول برگ پرچم در شرایط عدم تنش با ۵۲ نشانگر ارتباط معنی‌دار نشان داد که پنج نشانگر که ارتباط بسیار معنی‌داری با این ویژگی نشان دادند، در جدول ۵ گزارش شده است. این پنج نشانگر شامل IAAV5776، RFL\_Contig5277\_1141، BS00094057\_51، wsnp\_Ex\_c831\_ BobWhite\_c17385\_55 و wsnp\_Ex\_c1625061 بودند که به ترتیب در جایگاه‌های ۱۵۹/۸۷، ۲۰/۷۴، ۶۹/۵۲، ۹۹/۰۴، ۱۱/۲۳ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های 1B، 3A، 2D، 6A و 5B قرار داشتند. صفت طول برگ پرچم در شرایط تنش کم‌آبی در مجموع با ۲۱ نشانگر ارتباط معنی‌داری نشان داد که پنج نشانگر با ارتباط بسیار معنی‌دار شامل Excalibur\_c34964\_326، BS00022377\_51، GENE\_0136\_82، IAAV6288 و RAC875\_c51455\_182 بودند که به ترتیب در جایگاه‌های ۱۱۳/۳۰، ۱۲۹/۴۷، ۶۸/۷۵، ۱۱۳/۳۰ و ۶۷/۴۹ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های 2A، 1B، 2B، 2A و 5D مکان‌یابی شدند (جدول ۶). برای سطح برگ پرچم در شرایط تنش کم‌آبی، نشانگرهای wsnp\_BF201235A\_ RAC875\_ Excalibur\_c34964\_326، Ta\_2\_4 wsnp\_RFL\_Contig3790\_4082085، c24895\_311 و GENE\_1792\_560 دارای ارتباط بسیار معنی‌دار بودند که به ترتیب روی کروموزوم‌های 2A، 2A، 1B، 2A و 2A در جایگاه‌های ۲۵/۹۷، ۷۹/۷۷، ۱۱۳/۳۰، ۲۵/۰۲ و ۱۱۳/۳۰ سانتی‌مورگان قرار داشتند. احمد و همکاران (Ahmed *et al.*, 2021) در شرایط کمبود آب، یک مکان ژنی پلیوتروپیک (BobWhite\_c44691\_648) برای سطح برگ پرچم در کروموزوم 4B در جایگاه ژنی ۱۷۲/۶۳ سانتی‌مورگان شناسایی کردند.

برای صفت عملکرد سنبله تحت شرایط عدم تنش، نشانگرهای BobWhite\_c2022\_Jagger\_c1423\_102\_245، BobWhite\_RAC875\_c11652\_544، Tdurum\_contig30569\_579 و c26259\_248 دارای بالاترین سطح معنی‌دار بودند که فقط متعلق به ژنوم A (به ترتیب در جایگاههای ۱۴۰/۸۷، ۵۳/۱۸، ۵۳/۱۸، ۱۰۱/۹۷ و ۱۰۱/۹۷ سانتی مورگانی روی کروموزوم‌های شماره ۲ و ۶) بودند. معنی‌دار شدن هم‌زمان چندین نشانگر مجاور هم برای صفت عملکرد سنبله در شرایط عدم تنش آبی حاکی از تأیید نتایج می‌باشد و مشخص می‌کند که ژن‌های کنترل‌کننده صفت عملکرد سنبله در این ناحیه کروموزومی قرار دارند. برای صفت عملکرد سنبله در شرایط تنش کم‌آبی، تعداد ۱۴ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت شناسایی شد که پنج نشانگر RAC875\_c57261\_265، wsnp\_Ku\_c11690\_19042937، CAP7\_c4827\_53، Jagger\_c1423\_102 و wsnp\_Ex\_c31256\_40071875 به ترتیب در جایگاه‌های ۷۱/۹۷، ۷۱/۹۷، ۱۴۰/۸۷، ۱۵۷/۲۱ و ۷۱/۹۷ سانتی‌مورگان روی کروموزوم‌های شماره ۶ و ۲ از ژنوم‌های A و B بالاترین سطح معنی‌دار را داشتند. این نشانگرها در شرایط تنش کم‌آبی به ترتیب ۱۹/۲۹، ۱۴/۴۰، ۱۴/۳۶، ۱۴/۰۲ و ۱۲/۳۲ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. احمد و همکاران (Ahmed et al., 2021) با نقشه‌یابی ارتباطی در سطح ژنوم گزارش دادند که نشانگر RAC875\_s117925\_244 در کروموزوم 5A در جایگاه ۱۵/۵۳ سانتی‌مورگانی بیش‌ترین تنوع فنوتیپی (۲۱/۲۱٪) را در شرایط نرمال تبیین کرد، اما در شرایط تنش خشکی، ۱۲ نشانگر SNP با توجیه تنوع فنوتیپی از ۱۸/۸۳ تا ۲۳/۰۹ درصد دارای ارتباط معنی‌دار با صفت بودند. نتایج این آزمایش نشان داد که تنها دو نشانگر SNP (Kukri\_rep\_c73612\_444 و BS00094057\_51) با بیش از یک صفت در شرایط عدم تنش ارتباط معنی‌دار داشتند، در حالی‌که در شرایط تنش کم‌آبی، چهار نشانگر (wsnp\_RFL\_Contig37\_Excilibur\_c34964\_326، wsnp\_BF201235A-Ta\_2\_4\_90\_4082085 و BS00094057\_51) دارای ارتباط معنی‌دار با بیش از یک صفت بودند. برخی از نشانگرها (BS00094057\_51 و BobWhite\_c26259\_248) نیز در هر دو شرایط تنش کم‌آبی و عدم تنش شناسایی شدند.

wsnp\_Ku\_c23012\_32893918 (88.84 cM) و Kukri\_c49170\_655 (88.02 cM) با اینکه روی کروموزوم 1A قرار داشتند، ولی نسبت به دو نشانگر دیگر در مکانی دورتر مکان‌یابی شد که بیانگر دو مکان ژنی متفاوت می‌باشند. برخی از پژوهشگران گزارش دادند که هفت نشانگر SNP که روی کروموزوم‌های 2A، 4A، 6A، 7A و 6B ارتباط بسیار معنی‌داری با ارتفاع بوته در شرایط نرمال نشان دادند (Ahmed et al., 2021). در شرایط تنش کم‌آبی، بیش‌ترین تغییرات ارتفاع بوته (۶۰/۲۰ درصد) توسط نشانگر RAC875\_rep\_c74170\_236 توجیه شد. برای صفت طول پدانکل تحت شرایط عدم تنش، نشانگرهای Excilibur\_rep\_c102994\_1003، Kukri\_wsnp\_Ex\_rep\_c67786\_66472676 و c62142\_683 به ترتیب روی کروموزوم‌های 6B، 3A و 2A دارای بالاترین سطح معنی‌دار به میزان 7.45E-06، 8.37E-06 و 9.28E-06 بودند و به ترتیب ۱۷/۰۳٪، ۱۶/۱۸۶٪ و ۱۷/۲۹٪ از تغییرات طول پدانکل را توجیه کردند. برای این صفت در شرایط تنش کم‌آبی، ۹۲ ارتباط معنی‌دار مارکر-صفت شناسایی شد که پنج نشانگر Excilibur\_Kukri\_c1308\_2782، JACX7895\_wsnp\_Ex\_25630\_537 و BS00076772\_51 و c8303\_14001708 به ترتیب روی کروموزوم‌های 6A، 3A، 7A، 3A و 2D دارای بالاترین ارتباط معنی‌دار بودند و ۱۷/۳۱٪، ۱۶/۷۵٪، ۱۵/۳۶٪، ۱۵/۱۶٪ و ۱۵/۲۳٪ از تغییرات فنوتیپی طول پدانکل را توجیه کردند. دو نشانگر Kukri\_c1308\_2782 و BS00076772\_51 اگرچه روی کروموزوم 3A مکان‌یابی شدند، اما با توجه به موقعیت بسیار متفاوت آنها (110.55 cM و 148.03 cM) دو مکان ژنی متفاوت محسوب می‌شوند. صفت نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته تحت شرایط تنش کم‌آبی، ۸۸ ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت شناسایی شد. بالاترین سطح معنی‌دار (2.42E-06) مربوط به نشانگر RAC875\_c29598\_336 بود که در جایگاه ۱۲۹/۶۶ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 1D واقع شد. نشانگرهای Excilibur\_c25630\_537 و BS00076772\_51 که به ترتیب روی کروموزوم‌های 7A، 1B و 4A قرار داشتند، ۱۷/۸۹، ۱۷/۰۴ و ۱۶/۴۹ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را تبیین کردند.

جدول ۵- نتایج تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم بر اساس روش GLM تحت شرایط عدم تنش

Table 5. The results of genome-wide association study based on GLM under non-stress conditions

Trait / SNP	Chr	P-value	R <sup>2</sup> (%)	Position (cM)	SNP alleles	Desirable allele	SNP effect
<u>Flag leaf length</u>							
IAAV5776	1B	1.03E-06	20.41	159.87	A/G	A	4.34
BS00094057_51	3A	8.79E-06	17.38	20.74	A/C	A	4.70
RFL_Contig5277_1141	2D	8.97E-06	16.62	96.52	T/C	T	3.78
BobWhite_c17385_55	6A	5.44E-05	14.60	99.04	C/T	C	3.84
wsnp_Ex_c831_1625061	5B	6.53E-05	13.78	11.23	C/A	C	3.55
<u>Flag leaf width</u>							
wsnp_Ex_c1319_2522992	6B	7.60E-06	17.44	64.57	C/T	C	0.22
Kukri_rep_c73612_444	7B	1.92E-05	15.49	71.66	G/A	A	-2.63
Excalibur_rep_c77166_95	6B	1.94E-05	15.61	58.20	G/A	G	0.22
wsnp_Ex_c1319_2522682	6B	3.52E-05	14.97	64.57	A/G	G	-2.06
BS00040743_51	1B	5.91E-05	14.05	92.39	C/T	T	-3.92
<u>Flag leaf sheath length</u>							
Kukri_rep_c73612_444	7B	1.17E-04	12.78	71.66	G/A	A	-3.34
RAC875_rep_c71350_1712	2A	1.40E-04	13.08	101.97	G/A	G	3.37
Ra_c18658_1048	6B	2.12E-04	12.19	85.22	G/A	A	-3.66
RAC875_c1962_1517	7B	2.41E-04	11.89	71.66	C/T	T	-3.01
BS00091891_51	7A	4.42E-04	11.35	107.01	A/G	A	2.67
<u>Flag leaf area</u>							
wsnp_Ex_c1319_2522992	6B	1.52E-06	19.85	64.57	C/T	C	6.41
wsnp_Ra_c16476_25132652	4A	1.32E-05	16.32	97.60	G/T	T	-7.99
Kukri_rep_c73612_444	7B	2.30E-05	15.23	71.66	G/A	A	-7.26
BS00094057_51	3A	3.09E-05	15.44	20.74	A/C	A	6.86
BobWhite_c10956_71	5B	3.44E-05	15.27	182.15	A/G	A	6.11
<u>Plant height</u>							
wsnp_Ex_c12341_19693090	3A	4.42E-05	14.75	123.05	G/A	G	-8.45
Kukri_c8211_159	1D	4.99E-05	14.07	28.13	C/T	T	9.92
RFL_Contig4626_873	6D	5.23E-05	14.12	82.14	A/G	G	11.87
RAC875_c4609_1756	2A	7.28E-05	14.10	147.99	T/C	T	-8.31
Kukri_c49170_655	1A	7.35E-05	13.84	88.02	G/A	G	-7.10
<u>Peduncle length</u>							
Excalibur_rep_c102994_1003	6B	7.45E-06	17.03	36.69	T/C	T	-4.62
wsnp_Ex_rep_c67786_66472676	3A	8.37E-06	16.86	109.95	G/A	G	-5.94
Kukri_c62142_683	2A	9.28E-06	17.29	116.19	T/G	T	-4.78
Excalibur_rep_c108030_260	4D	1.01E-05	16.87	83.84	C/T	C	-4.51
Kukri_c1308_2782	3A	1.18E-05	17.54	110.55	C/T	C	-6.49
<u>Peduncle length to plant height ratio</u>							
Kukri_c7539_1065	6B	5.08E-07	21.27	64.82	C/A	A	0.05
BS00090277_51	6B	1.40E-06	19.80	66.40	C/T	T	0.05
BS00032490_51	2B	9.03E-06	17.18	179.37	T/C	T	-8.50
wsnp_Ex_c33813_42239400	6B	1.34E-05	16.44	64.08	G/A	A	0.04
RAC875_rep_c107515_508	6B	1.48E-05	16.44	66.40	A/G	G	0.04
<u>Spike yield</u>							
Jagger_c1423_102	6A	1.56E-05	17.10	140.87	G/A	A	-0.56
BobWhite_c2022_245	2A	5.36E-05	14.85	53.18	A/G	G	-0.39
RAC875_c11652_544	2A	6.81E-05	14.60	53.18	C/T	T	-0.38
BobWhite_c26259_248	2A	7.48E-05	14.32	101.97	C/T	C	0.41
Tdurum_contig30569_579	2A	9.80E-05	13.64	101.97	A/G	A	0.40

جدول ۶- نتایج تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم بر اساس روش GLM تحت شرایط تنش کم آبی

Table 6. The results of genome-wide association study based on GLM under water-deficit stress conditions

Trait/SNP	Chr	P-value	R <sup>2</sup> (%)	Position (cM)	Alleles	Desirable allele	SNP effect
<u>Flag leaf length</u>							
Excalibur_c34964_326	2A	1.72E-04	12.41	113.30	G/A	A	-2.06
IAAV6288	2B	1.98E-04	12.19	129.47	T/G	T	2.11
GENE_0136_82	1B	3.59E-04	11.47	68.75	T/G	T	1.88
RAC875_c51455_182	5D	4.60E-04	10.98	67.49	A/G	A	2.76
BS00022377_51	2A	4.79E-04	10.92	113.30	T/C	C	-1.89
<u>Flag leaf width</u>							
w SNP_RFL_Contig3790_4082085	2A	9.51E-05	13.10	25.97	G/A	A	-2.29
w SNP_BF201235A_Ta_2_4	2A	1.49E-04	12.75	25.02	G/A	A	-2.01
BS00094057_51	3A	1.54E-04	12.92	20.74	A/C	A	0.23
IACX8294	7B	1.57E-04	12.44	118.67	C/T	C	0.20
RAC875_rep_c88665_52	2A	3.44E-04	11.14	47.22	T/C	C	-1.88
<u>Flag leaf sheath length</u>							
RAC875_c46194_201	3B	1.91E-06	19.02	59.78	A/C	A	4.24
w SNP_Ex_c14087_21997101	6A	4.21E-06	17.87	85.07	G/A	G	2.57
w SNP_Ku_c2700_5121383	6A	7.68E-06	16.99	85.07	C/A	C	2.54
RAC875_c25375_236	3B	8.43E-06	17.14	62.31	C/A	C	3.10
w SNP_Ex_c30264_39202224	6A	9.92E-06	16.75	85.07	T/G	T	2.49
<u>Flag leaf area</u>							
w SNP_BF201235A_Ta_2_4	2A	1.49E-04	12.74	25.02	G/A	A	-3.78
Excalibur_c34964_326	2A	1.93E-04	12.23	113.30	G/A	A	-3.50
RAC875_c24895_311	1B	2.98E-04	11.36	79.77	C/A	A	-4.93
w SNP_RFL_Contig3790_4082085	2A	3.04E-04	11.33	25.97	G/A	G	-3.41
GENE_1792_560	2A	3.74E-04	11.41	113.30	T/C	C	-3.34
<u>Plant height</u>							
RAC875_rep_c74170_236	5A	6.35E-07	20.60	13.90	C/T	T	13.58
w SNP_Ku_c23012_32893918	1A	4.42E-05	14.50	88.84	A/G	G	7.84
w SNP_Ex_c19556_28530231	2A	4.76E-05	14.26	73.95	C/T	T	14.30
BS00022698_51	1A	5.63E-05	13.89	77.78	C/T	T	10.71
Kukri_c49170_655	1A	6.37E-05	14.06	88.02	G/A	A	-6.83
<u>Peduncle length</u>							
IACX7895	6A	7.52E-06	17.31	43.10	C/T	T	-4.94
Kukri_c1308_2782	3A	1.94E-05	16.75	110.55	C/T	T	-6.59
Excalibur_c25630_537	7A	2.50E-05	15.36	165.96	T/C	C	-9.95
BS00076772_51	3A	2.85E-05	15.16	148.03	A/C	C	4.71
w SNP_Ex_c8303_14001708	2D	2.98E-05	15.23	55.80	C/T	T	-5.44
<u>Peduncle length to plant height ratio</u>							
RAC875_c29598_336	1D	2.42E-06	18.84	129.66	G/A	G	-9.71
Excalibur_c25630_537	7A	4.59E-06	17.89	165.96	T/C	T	-1.20
BS00063512_51	1B	8.17E-06	17.04	160.90	T/C	T	-1.09
w SNP_Ex_c7528_12868250	4A	1.18E-05	16.49	51.15	G/A	G	-6.65
Kukri_c855_908	7A	2.03E-05	15.54	212.59	G/T	G	-1.04
<u>Spike yield</u>							
RAC875_c57261_265	6B	2.78E-06	19.29	71.97	G/A	A	-0.237
w SNP_Ku_c11690_19042937	6B	6.04E-05	14.40	71.97	T/C	C	-0.184
Jagger_c1423_102	6A	8.60E-05	14.36	140.87	A/G	A	-0.128
CAP7_c4827_53	2B	9.01E-05	14.02	157.21	T/C	C	-0.138
w SNP_Ex_c31256_40071875	6B	2.42E-04	12.32	71.97	G/A	A	-0.145

پدانکل، ارتفاع بوته و عملکرد سنبله، کروموزوم 3A شامل صفات سطح برگ پرچم، ارتفاع بوته، طول پدانکل و عملکرد سنبله، کروموزوم 1B شامل صفات طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم و عملکرد سنبله، کروموزوم 5B شامل صفات طول برگ پرچم و سطح برگ پرچم، کروموزوم 6B شامل صفات عرض و سطح برگ پرچم، طول غلاف برگ پرچم، طول پدانکل و نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و کروموزوم 7B شامل صفات طول غلاف برگ پرچم و سطح برگ پرچم مشاهده شد. تحت شرایط تنش کم‌آبی نیز مکان‌های چند صفتی روی کروموزوم 2A شامل صفات طول و عرض برگ پرچم، سطح برگ پرچم و ارتفاع بوته، کروموزوم 3A شامل صفات عرض برگ پرچم، طول پدانکل و عملکرد سنبله، کروموزوم 6A شامل صفات طول غلاف برگ پرچم، طول پدانکل و عملکرد سنبله، کروموزوم 7A شامل طول پدانکل و نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و عملکرد سنبله و کروموزوم 1B شامل سطح برگ پرچم و نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته بودند. احمد و همکاران (Ahmed *et al.*, 2021) در شرایط عدم تنش، کروموزوم 2A و شرایط تنش کم‌آبی، کروموزوم 3A را برای مکان‌های چند صفتی از جمله ارتفاع بوته معرفی کردند. آنها ژن‌های مجاور TraesCS1B02G440200 و TraesCS1B02G480200 روی کروموزوم 1B گندم را به‌عنوان ژن‌های کاندید برای صفت سطح برگ پرچم گندم به‌ترتیب برای شرایط نرمال و تنش کم‌آبی معرفی کردند (Ahmed *et al.*, 2020).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات در هر دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد 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 استفاده کرد. ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت شناسایی شده در این آزمایش برای گزینش به‌کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی گندم برای معرفی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش کم‌آبی در مناطق خشک و نیمه‌خشک مفید خواهد بود. ارتباط نشانگر با صفت برای شناسایی مناطق ژنومی که با صفات فنوتیپی با اهمیت اصلاحی مرتبط هستند، کلیدی

شناسایی نشانگرهای مشترک برای چند صفت اهمیت زیادی در اصلاح گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازند (Tuberosa *et al.*, 2002; Hittalmani *et al.*, 2003). همچنین، بر اساس نتایج این آزمایش (جدول‌های ۴ و ۵) وجود ارتباط بین چند نشانگر با یک صفت (برای مثال ارتباط معنی‌دار نشانگرهای *wsnp\_Ex\_rep\_Excabur\_rep\_c102994\_1003* و *Kukri\_c62142\_683* با طول پدانکل) حاکی از ماهیت توارث کمی و چندژنی صفات مورد ارزیابی می‌باشد. از طرفی کم بودن مقدار ضریب تبیین ( $R^2$ ) برای اکثر نشانگرهای مرتبط نیز مؤید همین مطلب است و نشان‌دهنده توجیه بخش کمی از تغییرات این صفات از طریق مکان‌های ژنی شناسایی شده و بنابراین نقش اثر محیط (علاوه بر آثار ژنتیکی) روی تغییرات این صفات است. وجود نشانگرهای مشترک در میان برخی صفات بررسی‌شده می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات باشد (Zare-Kohan *et al.*, 2018). موادزینگی و همکاران (Mwadzingeni *et al.*, 2017) ۹۳ ژنوتیپ گندم را با ۱۶۳۸۳ نشانگر، تعیین ژنوتیپ و سپس برای تحمل به تنش کم‌آبی ارزیابی کردند. تجزیه ارتباطی با هر دو روش مدل خطی عمومی بر اساس ساختار جمعیت و روابط انجام شد و در نهایت ۳۳۴ نشانگر DArT که ارتباط زیادی با صفات داشتند، شناسایی شدند. همچنین، آین و همکاران (Ain *et al.*, 2015)، موادزینگی و همکاران (Mwadzingeni *et al.*, 2017)، قاسیم و همکاران (Qaseem *et al.*, 2018)، صفدر و همکاران (Safdar *et al.*, 2020) و احمد و همکاران (Ahmed *et al.*, 2020, 2021)، از تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم در شرایط تنش کم‌آبی در گندم استفاده کردند. احمد و همکاران (Ahmed *et al.*, 2021) در مطالعه‌ای گزارش دادند که ارتباط نشانگر-صفت برای ارتفاع بوته تحت تنش خشکی روی هفت گروه هومولوگ گندم، هشت ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت در ژنوم A، شش ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت در ژنوم B و سه ارتباط معنی‌دار در ژنوم D مشاهده شد.

### ارتباط‌های مکان‌های ژنی چند صفتی در سطح ژنوم

تحت شرایط عدم تنش، مکان‌های چند صفتی روی کروموزوم 2A برای صفات طول غلاف برگ پرچم، طول



### سپاسگزاری

از مسئولان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد به خاطر مساعدت در فراهم شدن امکانات مورد نیاز اجرای پژوهش تشکر می‌کنم. همچنین از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی از کشور آلمان (IPK-Gatersleben) و بانک ژن "جهان‌نما" دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر در اختیار قرار دادن منابع گیاهی این پژوهش قدردانی می‌گردد. این پژوهش با حمایت‌های مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد که در اینجا قدردانی می‌شود.

### تضاد منافع

نویسنده (گان) تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

### رعایت اخلاق در نشر

نویسنده (گان) اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

### اجازه انتشار مقاله

نویسنده (گان) با چاپ این مقاله به صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند

است. نتایج تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم بر اساس مدل GLM (Q+PCA) در مجموع نشان داد که در دو شرایط عدم تنش و تنش کم‌آبی به‌ترتیب ۵۱۱ و ۴۶۹ نشانگر ارتباط معنی‌داری با صفات مورد مطالعه داشتند. بر اساس مطالعات حاصل از تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم در محیط تنش کم‌آبی برای صفت طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، سطح برگ، پرچم، ارتفاع بوته، طول پدانکل و عملکرد سنبله به‌ترتیب ۲۱، ۱۲، ۱۴، ۴۴، ۹۲ و ۱۴ ارتباط نشانگر-صفت (QTL) شناسایی شد. در شرایط تنش کم‌آبی نشانگر Excalibur\_c34964\_326 در جایگاه ۱۱۳/۳۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 2A مرتبط با صفت طول برگ پرچم، نشانگر wsnp\_RFL\_Contig3790\_4082085 در جایگاه ۲۵/۹۷ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 2A مرتبط با عرض برگ پرچم، wsnp\_BF201235A\_Ta\_2\_4 در جایگاه ۲۵/۰۲ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 2A مرتبط با سطح برگ پرچم، RAC875\_rep\_c74170\_236 در جایگاه ۱۳/۹۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 3A مرتبط با صفت ارتفاع بوته، IACX7895 در جایگاه ۴۳/۱۰ سانتی‌مورگان روی کروموزوم 6A مرتبط با طول پدانکل و نشانگر RAC875\_c57261\_265 در موقعیت ۹۷/۷۱ سانتی‌مورگان مرتبط با صفت عملکرد سنبله، بالاترین سطح معنی‌دار و ضریب تبیین نشانگری را با مکان‌های ژنی متحمل به تنش کم‌آبی در این مطالعه نشان دادند. در شرایط تنش کم‌آبی مکان‌های چند صفتی روی کروموزوم 2A (طول و عرض برگ پرچم، سطح برگ پرچم، ارتفاع بوته و عملکرد سنبله)، کروموزوم 3A (عرض برگ پرچم، طول پدانکل و عملکرد سنبله)، کروموزوم 6A (طول غلاف برگ پرچم، طول پدانکل و عملکرد سنبله)، کروموزوم 7A (طول پدانکل، نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته و عملکرد سنبله) و کروموزوم 1B (سطح برگ پرچم و نسبت طول پدانکل به ارتفاع بوته) مشاهده شد.

### References

- Agricultural Statistics. 2018.** Annual Report. Agricultural statistics. Ministry of Agriculture-Jahad. <https://www.maj.ir/Index.aspx>. [In Persian]
- Ahmed, H.G.M.D., Iqbal, M.N., Iqbal, M.A., Zeng, Y., Ullah, A., Iqbal, M., Raza, H., Yar, M.M., Sarwar, N., Imran, M. and Hussain, S. 2021.** Genome-wide association mapping for stomata and yield indices in bread wheat under water limited conditions. *Agronomy* 11: 1646.
- Ahmed, H.Gh.M., Sajjad, M., Zeng, Y., Iqbal, M., Habibullah-Khan, S., Ullah, A. and Nadeem Akhtar, M. 2020.** Genome-wide association mapping through 90K SNP array for quality and yield attributes in bread wheat against water deficit conditions. *Agriculture* 10 (9): 2-23.

- Ain, Q.U., Rasheed, A., Anwar, A., Mahmood, T., Imtiaz, M., He, Z., Xia, X., Mahmood, T. and Quraishi, U.M. 2015.** Genome-wide association for grain yield under rainfed conditions in historical wheat cultivars from Pakistan. **Frontiers in Plant Science** 6: 1-15.
- Cook, B.I., Mankin, J.S. and Anchukaitis, K.J. 2018.** Climate change and drought: From past to future. **Current Climate Change Reports** 4: 164-179.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K. and Buckler, E.S. 2011.** A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **PLoS ONE** 6 (5): 1-9.
- FAO. 2022.** Crop prospects and food situation. Quarterly global report. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. Available at: <http://www.fao.org/3/i8764en/i8764EN.pdf>.
- Flint-Garcia, S.A., Thuillet, A.C., Yu, J., Pressoir, G., Romero, S.M. and Mitchell, S.E. 2005.** Maize association population: A high resolution platform for quantitative trait locus dissection. **Plant Journal** 46 (6): 1054-1064.
- Gahlaut, V., Jaiswal, V., Balyan, H.S., Kumar, J.A. and Gupta, P.K. 2021.** Multi-locus GWAS for grain weight related traits under rain-fed conditions in common wheat (*Triticum aestivum* L.). **Frontiers in Plant Science** 12: 1-13.
- Gahlaut, V., Jaiswal, V., Singh, S., Balyan, H.S. and Gupta, P. 2019.** Multi-locus genome wide association mapping for yield and its contributing traits in hexaploid wheat under different water regimes. **Scientific Reports** 9: 1-15.
- Hittalmani, S., Huang, N., Courtois, B., Venuprasad, R., Shashidhar, H.E., Zhuang, J.Y., Zheng, K.L., Liu, G.F., Wang, G.C., Sidhu, J.S., Srivantaneeyakul, S., Singh, V.P., Bagali, P.G., Prasanna, H.C., McLaren, G. and Khush, G.S. 2021.** Identification of QTL for growth and grain yield -related traits in rice across nine locations of Asia. **Theoretical and Applied Genetics** 107: 679-690.
- Hu, H. and Xiong, L. 2014.** Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. **Annual Review of Plant Biology** 65: 715-741.
- Kalinowski, S.T. 2002.** How many alleles per locus should be used to estimate genetic distances? **Heredity** 88: 62-65.
- Khalili, M. and Mohammadi, A. 2016.** Mapping QTLs associated with wheat seed germination under normal and drought stress conditions. **Crop Biotechnology** 9: 1-14. (In Persian with English Abstract).
- Liu, K., Goodman, M., Muse, S., Smith, J.S., Buckler E.D. and Doebley, J. 2003.** Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. **Genetics** 165: 2117-2128.
- Liu, Y., Lin, Y., Gao, Sh., Li, Zh., Ma, J., Deng, M., Chen, G., Wei, Y. and Zheng, Y. 2017.** A genome-wide association study of 23 agronomic traits in Chinese wheat landraces. **The Plant Journal** 19: 861-873.
- Liu, Y., Wang, L., Mao., Sh., Liu, K., Lu, Y., Wang, J., Wei., Y. and Zheng, Y. 2015.** Genome-wide association study of 29 morphological traits in *Aegilops tauschii*. **Scientific Reports** 5: 15562.
- Mohammadi, Y., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M. and Rostaei, M. 2016.** Identification of molecular markers linked to the genes controlling width and length flag and second leaves and grain yield in bread wheat under rainfed and supplementary irrigation conditions. **Cereal Research** 6 (3): 271-282. (In Persian with English Abstract).
- Neumann, K., Kobiljski, B., Denčić, S., Varshney, R. and Börner, A. 2011.** Genome-wide association mapping: A case study in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Molecular Breeding** 27: 37-58.
- Qaseem, M.F., Qureshi, R., Muqaddasi, Q.H., Shaheen, H., Kousar, R. and Roder, M.S. 2018.** Genome-wide association mapping in bread wheat subjected to independent and combined high temperature and drought stress. **PLoS ONE** 13 (6): 1-22.
- Quraishi, U.M., Murat, F., Abrouk, M., Pont, C., Confolent, C., Oury, F.X., Ward, J., Boros, D., Gebruers, K., Delcour, J.A., Courtin, Ch.M., Bedo, Z., Saulnier, L., Guillon, F., Balzergue, S., Shewry, P.R., Feuillet, C., Charmet, G. and Salse, J. 2011.** Combined meta-genomics analyses unravel candidate genes for the grain dietary fiber content in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Functional and Integrative Genomics** 11: 71-83.

- Rabbi, S.M.H., Kumar, A., Naraghi, S.M., Simsek, S., Sapkota, S., Sonlaki, Sh., Alamri, M.S., Elias, E.M., Kianian, Sh., Missaoui, A. and Mergoum, M. 2021.** Genome-wide association mapping for yield and related traits under drought stressed and non-stressed environments in wheat. **Frontiers in Genetics** 12: 1-13.
- Rawson, H.M., Richards, R.A. and Munns, R. 1988.** An examination of selection criteria for salt tolerance in wheat, barley and triticale genotypes. **Australian Journal of Agricultural Research** 39: 759-772.
- Safdar, L., Bin, A., Ndleeb, T., Latif, S., Umer, M.J., Tang, M., Li, X., Liu, Sh. and Quraishi, U.M. 2020.** Genome-wide association study and QTL meta-analysis identified novel genomic loci controlling potassium use efficiency and agronomic traits in bread wheat. **Frontiers in Plant Science** 11: 1-14.
- Senapati, N., Stratonovitch, P., Paul, M.J. and Semenov, M.A. 2019.** Drought tolerance during reproductive development is important for increasing wheat yield potential under climate change in Europe. **Journal of Experimental Botany** 70: 2549-2560.
- Sonmezoglu, O. and Terzi, B. 2018.** Characterization of some bread wheat genotypes using molecular markers for drought tolerance. **Journal of Plant Physiology and Molecular Biology** 24 (1): 159-166.
- Spataro, G., Tiranti, B., Arcaleni, P., Bellucci, E., Attene, G., Papa, R., Spagnoletti, Z.P. and Negri, V. 2011.** Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. **Theoretical Application of Genetic** 122: 1281-1291.
- Sukumaran, S. and Yu, J. 2014.** Association mapping of genetic resources: Achievements and future perspectives. In: Tubersoa, R., Garner, A. and Frison, E. (Eds). *Genomics of plant genetic resources*. pp: 207-235.
- Sukumaran, S., Reynolds, M.P. and Sansaloni, C. 2018.** Genome-wide association analysis 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: 1-16.
- Terry, G.B., Baeziger, P.S. and Morris, R. 1992.** Chromosomal location of wheat quantitative trait loci affecting agronomic performance of seven traits using reciprocal chromosome substitutions. **Crop Science** 32: 621-627.
- Tuberosa, R., Salvi, S., Sanguineti, M.C., Landi, P., Maccaferri, M. and Conti, S. 2002.** Mapping QTLs regulating morpho-physiological traits and yield in drought stressed maize: Case studies, shortcomings and perspectives. **Annals of Botany** 89 (7): 941-963.
- Varshney, R.K., Chabane, K., Hendre, P.S., Aggarwal, R.K. and Graner, A. 2007.** Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. **Plant Science** 173: 638-649.
- Wang, S., Wong, D., Forrest, K., Allen, A., Chao, S. and Huang, B.E. 2014.** Characterization of poly ploid wheat genomic diversity using a high density 90000 single nucleotide polymorphism array. **Plant Biotechnology Journal** 12: 787-796.
- Zadocs, J.C., Changh, T.T. and Konzak, C.F. 1974.** A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research** 14: 415-421.
- Zare-Kohan, M., Babaeian Jelodar, N., Aghnoum, R., Tabatabaee, S.A. and Kazemi Tabar, S.K. 2018.** Association mapping of some phenological traits in barley under salt stress. **Journal of Crop Breeding** 10 (26): 12-21. (In Persian with English Abstract).
- Zhu, C., Gore, M., Buckler, E.S. and Yu, J. 2008.** Status and prospects of association mapping in plants. **The Plant Genome** 1 (1): 5-20.