

## تنوع فنوتیپی و تجزیه ارتباط برای صفات مرتبط با تحمل به شوری در گندم

اشکبوس امینی<sup>۱\*</sup>، شیدا قدم خیر<sup>۲</sup>، ایرج برنوسی<sup>۳</sup>

۱. استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۳. دانشیار، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۲۲)

## Phenotypic diversity and association analysis for traits related to salt tolerance in wheat

Ashkboos Amini<sup>1\*</sup>, Sheyda Ghadam Kheir<sup>2</sup>, Iraj Bernousi<sup>3</sup>

1. Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

2. Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding, Urmia University, Urmia, Iran.

3. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Urmia University, Uromieh, Iran.

(Received: Aug. 2, 2020 - Accepted: Dec. 12, 2020)

## Abstract

In order to evaluate variation and reaction of 40 wheat genotypes to salinity tolerance and assess the association of 27 microsatellite markers with salinity tolerance and morpho-physiological traits measured under normal and salt stress conditions, the present study was conducted. The results of analysis of variance in two environments showed significant difference among genotypes for all traits, indicating genetic variation among them. Based on the results of combined analysis of variance, the effect of the environment for all traits and the effect of Genotype × environment on most of the traits was significant and it was determined that the response of the evaluated genotypes to salinity stress was different. In two environment, the highest variation was belonged to grain yield and its component and biological yield. Cluster analysis in salinity stress based on traits with significant genotype × environment, classified the genotypes into 3 groups i.e. tolerant moderate and sensitive. Association analysis using 27 microsatellite markers, SSR markers with 11 traits measured in two normal conditions and salinity stress for all genotypes was conducted through a mixed linear model (MLM). The study of population structure as a precondition for communication analysis showed that there are 2 probable subgroups (K = 2) in the population studied, which was confirmed by the results of the plot formula. The decomposition of the association analysis using 27 SSR markers with 11 traits measured in two conditions based on mixed linear model (MLM) was carried out using the population structure matrix. Based on the results, 29 locations had a significant relationship with the evaluated traits in the normal environment, while in the salinity stress environment, this number increased to 40 locations. The existence of common markers among some of the studied traits such as the significant associate between S16-1 and 3 traits in normal conditions and with 5 traits in the salinity medium can be due to the polytrophic effects of these markers and possibly the connectivity of genomic locations controlling these traits. S6-3 and S12-1 markers were identified as markers that associated with grain yield in salinity condition and S11-4 marker was identified as marker that related with biological yield in both environmental Conditions. Finally, given the results obtained, if the results are confirmed in other genetic fields, these markers can be used in corrective programs.

## چکیده

این مطالعه به منظور بررسی تنوع و واکنش ۴۰ رقم و لاین پیشرفته گندم به تنش شوری و هم چنین بررسی ارتباط ۲۷ نشانگر ریز ماهواره مرتبط با شوری با صفات مورفوفیزیولوژیک اندازه گیری شده در دو محیط نرمال و تنش شوری در سال ۱۳۹۶-۹۷ انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس در دو محیط نشان داد بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات، اختلاف معنی‌داری وجود داشت که نشان دهنده تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بود. همچنین بر پایه نتایج تجزیه واریانس مرکب، اثر محیط برای تمام صفات و اثر متقابل ژنوتیپ × محیط برای اکثر صفات معنی‌داری به‌دست آمد و مشخص شد که واکنش ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی در برابر تنش شوری متفاوت بود. در هر دو محیط عملکرد دانه و اجزای آن و عملکرد بیولوژیک بیشترین میزان تنوع را به خود اختصاص دادند. تجزیه خوشه‌ای در محیط تنش شوری بر اساس صفاتی که اثر متقابل ژنوتیپ در محیط آن‌ها معنی‌دار شده بود ژنوتیپ‌ها را در ۳ گروه متحمل، نیمه متحمل و حساس تقسیم‌بندی نمود. مطالعه ساختار جمعیت به عنوان پیش‌نیازی برای انجام تجزیه ارتباط نشان داد که ۲ زیرگروه احتمالی (K=2) در جمعیت مورد مطالعه وجود دارد که نتایج حاصل از رسم بای‌پلات نیز آن را تأیید کرد. نتایج تجزیه ارتباط از طریق مدل خطی مخلوط (MLM) با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت انجام شد. بر اساس نتایج مشاهده شده، ۲۹ مکان ارتباط معنی‌داری با صفات ارزیابی شده در محیط نرمال داشتند در حالی که در محیط تنش شوری این تعداد به ۴۰ مکان افزایش یافت. وجود نشانگرهای مشترک در میان برخی از صفات بررسی شده مانند ارتباط معنی‌دار نشانگر S16-1 با ۳ صفت در محیط نرمال و با ۵ صفت در محیط شوری می‌تواند ناشی از آثار پلی‌تروپی این نشانگرها و احتمالاً پیوستگی مکان‌های ژنومی کنترل‌کننده این صفات باشد. نشانگر S11-4 به عنوان نشانگر مشترک مرتبط با عملکرد بیولوژیک در هر دو شرایط محیطی (نرمال و تنش) و نشانگرهای S6-3 و S12-1 به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با عملکرد دانه در شرایط شوری شناخته شدند. در نهایت با توجه به نتایج کسب شده، در صورت تأیید نتایج در سایر زمینه‌های ژنتیکی می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی بهره‌برداری نمود.

**Keywords:** Association Analysis, Mixed Linear Model, SSR Markers, Variation.

**واژه‌های کلیدی:** تجزیه ارتباط، تنوع، مدل خطی مخلوط، نشانگرهای SSR

## مقدمه

گندم تأمین‌کننده بیش از ۲۱ درصد کالری و ۲۰ درصد پروتئین غذایی مورد نیاز بالغ بر ۴/۵ میلیارد نفر در کشورهای مختلف جهان است (Braun *et al.*, 2010). گیاهان همواره در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزنده قرار دارند و شوری یک تنش محیطی مهم است که یکی از علل عمده کاهش بهره‌وری محصولات کشاورزی در جهان می‌باشد (Canama *et al.*, 2013). طبق گزارش‌های موجود، ۲۵/۵ میلیون هکتار از اراضی کشور دارای شوری کم تا متوسط، و حدود ۸/۵ میلیون هکتار دارای شوری شدید هستند که در مجموع ۳۴ میلیون هکتار از کل مساحت کشور را شامل می‌شود (Khorsandi & Hasheminezhad, 2019).

از آنجا که اکثر صفات مهم موثر بر عملکرد دارای توارث کمی هستند و بلوک‌های ژنی در بروز آنها نقش دارند، ژنتیک کلاسیک قادر به بررسی نحوه رفتار ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی به صورت ژن‌های مجزا نمی‌باشد. از طرفی ارزیابی اغلب صفات مورفو-فیزیولوژیکی مرتبط با تنش‌های غیر زنده (مانند تنظیمات اسمزی و رشد ریشه) با استفاده از روش‌های به‌نژادی مرسوم مشکل است. از این‌رو تکنولوژی نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای اداره مجموعه‌های ژرم‌پلاسم گیاهی، می‌تواند برای تحمل به تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گیرد (Singh and Diwivedi, 2002). از میان نشانگرهای مولکولی شناخته شده، ریزماهورها (Microsatellites) یا SSRها<sup>۱</sup> به دلیل محتوای اطلاعات چندشکلی بالا و تکرارپذیری بالا، چندآلی بودن و امتیازدهی همباز، فراوانی نسبی و پوشش وسیع ژنومی و توزیع تصادفی در ژنوم، ابزارهای مناسبی برای مطالعات تنوع ژنتیکی، تهیه

نقشه‌های پیوستگی و نیز مکان‌یابی ژنها محسوب میشوند (Meszaros *et al.*, 2007; Rezaei *et al.*, 2018). وراثت‌پذیری پایین، عدم امکان گزینش در نسل‌های اولیه، نیاز به امکانات خاص، غیر یکنواخت بودن میزان شوری در مزارع و هزینه و کار زیادی که برای بررسی عملکرد دانه در شرایط تنش مورد نیاز است، به‌نژادگران را به جستجوی روش‌های دیگر مانند گزینش به کمک نشانگر وادار می‌سازد. لذا شناسایی مکان‌های ژنی (QTL‌های) مرتبط با تحمل به شوری برای برنامه‌های اصلاحی بسیار مفید توصیف شده است (Genc *et al.*, 2010).

شناسایی معیارهای مؤثر و QTL‌های دخیل در تحمل به تنش شوری به‌نژادگر را قادر به توسعه واریته‌های متحمل به شوری با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر می‌سازد که باعث افزایش کارایی اصلاح و قدرت انتخاب می‌شود. امروزه استفاده از پیوستگی بین نشانگرهای مولکولی و ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی، فرایند به‌نژادی را تسریع کرده است، به طوری که به جای ارزیابی صفات، گزینش غیرمستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (Skokrpor, 2008).

ژن‌های زیادی در کنترل صفات مؤثر در تحمل به شوری نقش دارند. این ژن‌ها در طول دوره زندگی گیاهان و در بافت‌های مختلف بیان می‌شوند و به‌وسیله عوامل محیطی مختلفی تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Roy *et al.*, 2011). ارتباط نشانگرهای مولکولی با صفات مهم به منظور تعیین نشانگرهای دخیل در کنترل این صفات در گندم انجام شده و جایگاه‌های متعدد واجد QTL‌های دخیل در کنترل صفات مختلف مرتبط با تحمل تنش شوری شناسایی و گزارش شده است (Genc *et al.*, 2010; Ghaedrahmati *et al.*, 2014; al., 2014; Mahmadinejad *et al.*, 2014; Shahzad *et al.*, 2012). در یک مطالعه، با استفاده از ۳۷ نشانگر ریزماهوره مرتبط با تحمل به شوری، تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ امیدبخش گندم نان بررسی

جمعیت در این توده ها وجود دارد ( Emon *et al.*, 2015). در نتیجه مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ جو و انجام تجزیه ارتباط برای صفات مرتبط با تحمل یخ‌زدگی با استفاده از ۴۴ جفت نشانگر ریزماهواره، منجر به شناسایی ارتباط معنی‌دار ۶۲ آلل با ۱۲ صفت گردید و ژنوتیپ‌ها براساس این نشانگرها به سه گروه منتسب شدند که با شجره آنها مطابقت داشت (Ganjekhanloo *et al.*, 2012). هدف این مطالعه بررسی تنوع فنوتیپی و واکنش به شوری ارقام ولاینهای پیشرفته گندم و تجزیه ارتباط نشانگرهای ریز ماهواره پیوسته به ژنهای تحمل به شوری در گندم بود.

## مواد و روش‌ها

### ارزیابی فنوتیپی (مزرعه‌ای)

در این مطالعه به منظور بررسی تنوع فنوتیپی و واکنش ژنوتیپ‌های گندم نان نسبت به تنش شوری، تعداد ۴۰ ژنوتیپ گندم (شامل لاین‌های پیشرفته، ارقام شاهد تجاری و بومی متحمل و حساس) (جدول ۱) در ایستگاه تحقیقاتی یزد (اردکان) در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو آزمایش جداگانه تحت شرایط تنش شوری و بدون تنش در کرت‌هایی به مساحت سه مترمربع مورد بررسی قرار گرفتند. آبیاری در شرایط تنش با آب ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر و شرایط بدون تنش یا معمولی با آب ۳/۱ دسی‌زیمنس بر متر انجام گرفت. در زمان برداشت با حذف نیم متر حاشیه (۲۵ سانتیمتر از ابتدا وانتهای کرت)، مساحت برداشت  $2 \times 1/2 = 2/4$  متر مربع بود. بر اساس آزمون خاک، کود اوره، سولفات پتاسیم و فسفات دی‌آمونوم قبل از کاشت به ترتیب به میزان ۵۰، ۱۱۰ و ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار مصرف شد و مابقی کود اوره در دو نوبت، هر نوبت ۱۰۰ کیلوگرم، به صورت سرک در مراحل شروع ساقه رفتن و مرحله بوتینگ به مصرف رسید و میزان بذر هر رقم بر اساس ۴۵۰ دانه در متر

گردید و مشاهده شد که نشانگرهای ریزماهواره نشانگرهای سریع و مطمئنی برای بررسی تنوع مولکولی در گندم می‌باشند (Sardouie-Nasab *et al.*, 2013). یکی از برنامه‌های کاربردی در ارزیابی مطالعه صفات کمی در دهه اخیر، مکان یابی ژنهای کنترل کننده این صفات است. به طور کلی روشهای به کار رفته در شناسایی و مکان یابی جایگاه صفات کمی به دو گروه اصلی نقشه یابی پیوستگی<sup>۱</sup> و نقشه یابی عدم تعادل لینکژی<sup>۲</sup> یا نقشه یابی ارتباطی<sup>۳</sup> تقسیم می‌شوند (Aghaali *et al.*, 2016). در تجزیه ارتباط رابطه بین ژنوتیپ و فنوتیپ گیاه مستقیماً برای شناسایی نواحی کروموزومی مرتبط در کنترل صفت با استفاده از نامتعادل بودن پیوستگی موجود در جمعیت‌های طبیعی و مجموعه‌های ژرم‌پلاسم مطالعه می‌شود (Buckler and Thornsberry, 2002).

روش تجزیه ارتباطی برای شناسایی روابط نشانگر- صفت در ذرت (Ghaffari Azar *et al.*, 2019)، گندم (Moghaieb *et al.*, 2011)، برنج (Kumar *et al.*, 2015) و جو (Kraakman *et al.*, 2006) استفاده شده است. در مطالعه Drikvand و همکاران (۲۰۱۸) نیز ۳۴ نشانگر SSR با برخی صفات گندم مرتبط بودند. در یک مطالعه دیگر Singh و همکاران (۲۰۱۸) نشانگرهای SSR مبتنی بر ژن را در گندم توسعه داده و ضمن یافتن ارتباط ۱۶۱ نشانگر SSR با ژن‌های کاندید تحمل به تنش شوری، این نشانگرها را منابع ارزشمند ژنتیکی برای ارزیابی تحمل به تنش شوری دانستند. بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط برای تحمل به شوری توده های بومی برنج در بنگلادش با نشانگرهای SSR مشخص نمود که دو زیر

1. Linkage Mapping
2. Linkage Disequilibrium Mapping
3. Association Mapping

Genc *et al.*, 2010; Sardouie-Nasab *et al.*, 2013) صورت گرفت اطلاعات مرتبط با این نشانگرها در جدول ۲ ارائه شده است. تکثیر نشانگرهای مورد بررسی با استفاده از پرایمرهای تخصصی هر یک از ژن‌ها از طریق پی.سی.آر صورت گرفت واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر برای هر واکنش با استفاده از PCR Buffer (10X)، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، یک واحد از آنزیم Taq polymerase، ۰/۲ dNTPs، ۰/۲ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۲ میلی‌مولار و ۵۰ نانوگرم از DNA هر نمونه برای هر واکنش انجام شد. در این پژوهش از دستگاه ترموسایکلر BIO-RAD استفاده شد. محصولات حاصل PCR پس از مخلوط شدن با ماده رنگی (بافر بارگذاری)، به صورت جداگانه درون چاهک‌های ژل بارگذاری شده و بسته به ماهیت باندهای تولید شده و تفاوت طول باندها بر روی ژل پلی آکرلامید ۶٪ تفکیک و رنگ‌آمیزی ژل‌ها توسط اتیدیوم بروماید با غلظت ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر صورت گرفت و سپس عکس‌برداری از ژل‌ها با استفاده از دستگاه ژل داکيومنت (Uvitec BTS-20-MS) انجام شد و نمره‌دهی آل‌ها با مقایسه با ارقام کنترل و مارکر وزنی به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) انجام گردید. به منظور برآورد تعداد زیرساخت‌های موجود (K) و تجزیه مؤثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق ژنوتیپ‌ها به زیر جمعیت‌های مناسب و تشخیص ژنوتیپ‌های مختلط، ارزیابی ساختار جمعیت با استفاده از روش Bayesian در نرم‌افزار Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) انجام گرفت. در این روش، هر یک از ژنوتیپ‌ها با یک احتمال و طوری به زیر جمعیت‌های فرضی منتسب می‌گردند که در هر زیرجمعیت میزان عدم تعادل پیوستگی، حداقل و تعادل مرحله گامتی حداکثر باشد.

مربع منظور گردید. صفات ارتفاع گیاه، طول پدانکل، طول میانگره ماقبل آخر (پنالتیمیت)، طول سنبله، طول، عرض و سطح برگ پرچم، تعداد روز تا سنبله‌دهی و رسیدن، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک (زیست توده)، شاخص برداشت و عملکرد دانه در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهی اندازه‌گیری شدند. بعد از برداشت و توزین عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک، تجزیه واریانس برای تمامی صفات برای هر دو شرایط آزمایش انجام و برای بررسی تنوع آماره‌های توصیفی و ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی محاسبه گردید. محاسبه ضرایب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی با استفاده از امید ریاضی انجام گرفت برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS 22 استفاده گردید.

#### بررسی مولکولی (تجزیه ارتباط)

برای ارزیابی ژنوتیپی (آزمایش مولکولی)، بذر ژنوتیپ‌های مورد نظر (جدول ۱) در گلدان‌های پلاستیکی در شرایط گلخانه کشت و در مرحله ۲-۳ برگی از هر یک از ژنوتیپ‌ها و از بین برگ‌های جوان و عاری از بیماری، نمونه‌های برگی جدا کرده، استخراج DNA به روش CTAB (Saghai-*et al.*, 1984) انجام گرفت. DNA استخراج شده از نظر خصوصیات کمی و کیفی شامل غلظت و خلوص آن، توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر و الکتروفورز ژل آگارز بررسی گردید. در این آزمایش تعداد ۲۷ نشانگر ریزماهوره که مرتبط با نواحی گزارش شده QTL‌های مرتبط با تحمل به شوری در گندم بودند استفاده شد. انتخاب نشانگرهای مورد استفاده، بر اساس نشانگرهایی پیوسته با QTL‌های بزرگ اثر کنترل‌کننده صفات مرتبط با تنش شوری در گندم که در مطالعات مختلف و زمینه‌های ژنتیکی زیاد به تأیید رسیده بودند (Shahzad *et al.*, 2012);

جدول ۱. ارقام و لاین‌های مورد استفاده

شماره	شجره/ نام ژنوتیپ	شماره	شجره/ نام ژنوتیپ
1	Alvd//Aldan/Ias 58/3/Kvr	21	Sakha 8/Darab#2//1-66-22
2	338cb/landrace	22	1-66-22/pishtaz
3	Berkut	23	Desprez80/Rsh//Arg
4	Mahooti (Local variety)	24	1-66-22
5	Soissons/Kvr	25	soison/ pishtaz (RWYT-87-140)
6	Sorkhtokhm (Local variety)	26	sakha93
7	1-63-31/3/12300/tob//cno/sx	27	W3918A/Jup//Gru90-201736/3/Moghan1/Falat
8	Arg	28	Mrn/Catbird
9	Stm/3/Kal//V534/Jit/716	29	sakha94
10	Vee"s"/Nac//1-66-22	30	Gv/D630//Ald"s"/3/Azd/4/Rsh/5/Kauz/Stm
11	Roshan (Local variety)	31	Maroon
12	Moghan3	32	Ofough
13	Falat	33	1-66-22/SNH.9
14	Gods	34	Atrak/3/Chen/Aeg.sq(Taus)//BCN CMBW98,
15	Shiraz	35	Kauz*2/Opata//Kauz/3/Sakha 8/4/Tam 200
16	Mina/Molan//Atrak-KjF	36	Alvd//Aldan/Ias 58/3/Karchia
17	Darab#2	37	Barzghar
18	Gaspard	38	339cb/landrace
19	KRL-1-4	39	Sistan
20	T.AestxTi(La(Frkal.xGb))/3/Kauz*2/Opata//Kauz	40	Arta

ماتریس روابط خویشاوندی و ماتریس Q: ماتریس ضرایب ساختار جمعیت) جهت جلوگیری از ارتباط کاذب بین نشانگر- صفت با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 2.1 انجام گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (نتایج جداگانه تجزیه واریانس بعلت حجم زیاد مطالب ارایه نشده است) در هر دو شرایط محیطی (تنش و نرمال)، حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی بود، این امر بیانگر وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین مواد گیاهی مورد بررسی احتمال وجود سازوکارهای متفاوت در واکنش به تنش شوری وجود دارد. طبق نتایج تجزیه مرکب اثر محیط، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ×محیط در سطح احتمال یک درصد برای صفت عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۳). معنی‌داری اثر متقابل نشان از پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌ها در دو محیط می‌باشد. میانگین عملکرد دانه برای کلیه ژنوتیپ‌های گندم در محیط نرمال برابر با ۵/۰۵۹ تن در هکتار و در محیط تنش شوری برابر با ۳/۹۳۴ تن در هکتار بود (جدول ۴). این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت داشت (Arzani and Salehi, 2011).

در این مطالعه بین ۱ تا ۱۰ جمعیت فرضی اولیه در نظر گرفته شد و جهت افزایش دقت برای هر کدام از زیر جمعیت‌ها ۵ تکرار منظور گردید. برای این منظور از مدل ترکیبی Admixture و استقلال فراوانی آلی با ۱۰۰۰۰۰ تکرار آزمایش (bum-in) و ۱۰۰۰۰۰ تکرار MCMC استفاده گردید تا منحنی حداکثر درست‌نمایی حاصل شود. نرم‌افزار Structure برای هر مقدار K (تعداد واقعی زیر جمعیت) ماتریس Q را بدست می‌دهد که در این ماتریس برآورد ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ در هر یک از زیرجمعیت‌ها آورده شده است. تعداد واقعی زیرجمعیت‌ها براساس روش Evanno و همکاران (۲۰۰۵) تعیین شد. این روش بر پایه آماره  $\Delta K$  است که شیب تابع احتمالی را در نقطه‌ای می‌شکند که تعداد K فرضی در آن نقطه دارای حداکثر احتمال باشد. ماتریس روابط خویشاوندی (ماتریس K) بر اساس داده‌های ریزماهواره و با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 2.1 محاسبه شد. ضرایب ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی به صورت مدل  $Q+K$  در رویکرد MLM به عنوان کواریت مورد استفاده قرار گرفتند. شناسایی نشانگرهای مرتبط و دارای ارتباط معنی‌دار با صفات مورد ارزیابی، بر اساس مدل خطی مخلوط (MLM) وابسته به مدل  $Q+K$  (ماتریس K:

جدول ۲. آغازگر، توالی، مکان‌های کروموزومی، موتیف شناسایی و دمای اتصال نشانگرهای SSR

شماره کد نشانگر	توالی (5'→3')	توالی (3'→5')	مکان کروموزومی	دمای اتصال
S1	CAGCCGAAGAAGGATTCTG	GAGGCAGGAAGTGGGGAG	2A/2B	61
S2	GAAGTTCCCAAAATGCCTCTGTC	GCGGATCGAAGACCTAAGAAAAG	2AL	55
S3	TTTGTGGGGGTTAGGATTAG	CCTTAACACTTGTGGTAGTGA	2A	61
S6	GTTTTGCATCAACTCTGCCA	AGACTCACTTTGTGGCATCTGA	2A	60
S8	TTGCTACCATGCATGACCAT	TTCACCTCGATTGAGGTCCT	2A/2B	61
S9	GGATTGGAGTTAAGAGAGAACC	GCAGAGTGATCAATGCCAGA	2A	61
S11	AATAGAGCCCTGGGACTGGG	GAAGGACGACATCCACTG	2A	61
S12	AATTTTCTTCTCACTTATT	AAACGAACAACCACTCAATC	2A	51
S15	CAAATGGATCGAGAAAAGGGA	CTGCCATTTTCTGGATCTACC	2A,2D	55
S16	GATCAAACACACACCCCTCC	AATGCAAAGTGAAAAACCCG	2A	61
S18	ATCGCATGATGCACGTAGAG	ACATGCATGCCTACCTAATGG	2A	51
S19	ACATCCACGTTTATGTTGTTGC	TTGGTTGCTCAACGTTTACTTC	2A,2D	60
S22	CGACAATGGGGTCTTAGCAT	TGCACACTTAAATTACATCCGC	3B	61
S23	GGAGCATCGCAGGACAGA	GGACGAGGACGCTGAAT	3B	61
S24	TACCACGGGAAAGGAAACATCT	CACGTTGAAACACGGTGACTAT	3B	61
S25A	TGGCAAGTAACATGAACGGA	ATGTCATTCATGTTGCCCT	3A/3B	61
S25B	TGGCAAGTAACATGAACGGA	ATGTCATTCATGTTGCCCT	3A/3B	61
S26	AGGACGCCTGAATCCGAG	GGGAGCGTAGGAGGACTAACA	3B	61
S28	CGCATAACCGTTGGGAAGACATCTG	GGTGCAACTAGAACGTACTTCCAGTC	3B	51
S30	GATCTGCTTACTCTCTCC	CGACGCAGAACTTAAACAAG	4D	61
S36	TAACGCTGCCAACCTCGTG	ATGGGCAGTGGTATTGAGGT	4D	60
S38	TTGCACGCACCTAAACTCTG	CAAGTGTGAGCGTCGG	3D	60
S39	CATCCAACAGCACCAAGAGA	GCTACTACTATTTCATTGCGACCA	5D	60
S40	ACTTGCCTGCTATACTTACGAA	GTGTGTCGGTGTGTGGAAAG	5D	60
S42	GTGCGGAAAGAGACGAGGTT	TATGTCCACGTTGGCAGAGG	7A/5D/5B/7D/1D	61
S43	CATCCCTACGCCACTTGC	AATGGTATCTATTCCGACCCG	5A	61
S44	GCTTGAGACCGGCACAGT	CGAGACCTTGAGGGTCTAGA	5A/2B	61

جدول ۳. تجزیه واریانس مرکب صفات مختلف در دو محیط (نرمال و تنش)

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه (تن در هکتار)	عملکرد بیوفورژیک (تن در هکتار)	شاخص برداشت	وزن هزار دانه (گرم)	تاریخ خوشه رفتن	تعداد روز نارسیدن	ارتفاع بوته (cm)	طول سنبله (mm)	تعداد دانه در سنبله	طول پدانکل (cm)	طول پانته‌میت (cm)
محیط	1	75.9**	213.3**	917*	1702**	1201.5**	3615**	10362**	4616**	2404.4**	1547.3**	556.3**
خطای a	4	1.16	2.13	72.1	67.58	8.6	6.79	82.8	54.86	26.6	22.3	5.45
ژنوتیپ	39	3.66**	24.4**	67.08**	61.5**	162.9**	100.1**	291**	266.2	134.7**	44.12**	12.95**
ژنوتیپ در محیط	39	0.68**	2.41**	19.9**	10.27ns	6.58*	10.23**	33.7*	20.8ns	33.2*	3.78 ns	2.71ns
خطای b	156	0.176	0.81	9.86	7.75	4.35	5.01	19.5	54.61	19.9	7.38	2.33
ضریب تغییرات (%)		9.32	7.25	8.64	7.07	1.49	1.21	5.47	9.42	12.89	9.13	9.30
F <sub>MAX</sub>		1.69	1.13	1.49	1.17	1.8	1.52	1.8	1.35	1.62	1.06	1.26

ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۴. مقایسه میانگین عملکرد دانه (تن در هکتار) در ژنوتیپ‌های گندم در شرایط تنش و بدون تنش شوری

شماره ژنوتیپ	عملکرد در شرایط تنش	عملکرد در شرایط نرمال	شماره ژنوتیپ	عملکرد در شرایط تنش	عملکرد در شرایط نرمال
1	4.256 a-e	7.289 a	21	4.844 abc	6.433 a-d
2	3.722 a-f	4.556 i-p	22	4.644 a-d	5.833 b-h
3	3.889 a-e	4.544 i-p	23	4.556 a-e	5.211 f-l
4	3.978 a-e	5.000 g-o	24	4.233 a-e	5.578 c-j
5	3.044 def	3.300 qr	25	2.200 f	3.889 n-r
6	4.322 a-e	4.533 i-p	26	3.967 a-e	5.467 d-k
7	4.244 a-e	5.133f-m	27	2.867 ef	4.300 k-r
8	4.756 abc	5.078 g-n	28	4.367 a-e	5.878 b-h
9	3.444 b-f	4.378 j-q	29	4.044 a-e	5.967 b-g
10	4.456 a-e	5.444 d-k	30	5.211 a	5.622 c-i
11	3.656 a-f	3.767 pqr	31	3.744 a-f	5.556 c-j
12	2.922 ef	4.611 i-p	32	4.500 a-e	6.278 a-f
13	3.567 a-f	3.844 o-r	33	4.233 a-e	4.822 g-p
14	3.278 c-f	4.722 h-p	34	4.200 a-e	6.633abc
15	3.867 a-e	4.267 k-r	35	5.000 ab	5.989 b-g
16	2.911 ef	4.300 k-r	36	4.578 a-e	6.411 a-e
17	3.678 a-f	3.967m-r	37	4.556 a-e	5.256 e-l
18	2.956 def	3.211 r	38	3.200 c-f	4.078 l-r
19	3.233 c-f	4.267 k-r	39	4.517 a-e	5.417 d-k
20	4.756 abc	6.744 ab	40	2.967 def	4.789 g-p
Mean	3.934	5.059			

میانگین‌ها با حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون SNK ندارند.

مشاهده شده برای این صفت توسط عوامل ژنتیکی ایجاد شده‌اند. در توافق با این مطالعه، واریانس ژنتیکی بالایی برای عملکرد دانه ارقام گندم در محیط نرمال نسبت به محیط تنش شوری گزارش شده است (Akbarpour *et al.*, 2015). عملکرد بیولوژیک بعد از عملکرد دانه دارای بیشترین ضریب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی می‌باشد به طوری که این ضرایب در شرایط نرمال به ترتیب برابر با ۲۹/۱۳ و ۲۹/۸۵ درصد و در شرایط تنش برابر با ۲۹/۰۶ و ۳۰/۱۷ درصد بود، اختلاف ناچیز بین دو ضریب همچون عملکرد دانه نشان از تأثیر بالای عوامل ژنتیکی در کنترل صفت می‌باشد. ضریب تغییرات ژنوتیپی و ضریب تغییرات فنوتیپی برای تعداد دانه در سنبله در شرایط به ترتیب برابر با ۲۳/۸ و ۲۷/۲ درصد و در شرایط شور برابر با ۲۷/۲ و ۲۹/۹ درصد محاسبه گردید (جدول ۵). اختلاف بین ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی به ویژه در شرایط نرمال نشان می‌دهد که بخشی از تنوع مشاهده شده برای تعداد دانه در سنبله برخلاف عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک ناشی از عوامل محیطی می‌باشد. در هر دو شرایط، صفات تعداد روز تا رسیدن و سنبله دهی از ضریب تنوع کمتری برخوردار بودند (جدول ۵). این نتایج با نتایج مطالعات قبلی (Amini *et al.*, 2015; Aghaee Sarbarzeh and Amini, 2011) مطابقت داشت این امر بیانگر این نکته است که در طول زمان، گزینش برای این صفات بیشتر بوده و تنوع ژنتیکی را برای این صفات کاهش داده است.

تجزیه خوشه‌ای در محیط تنش شوری بر اساس صفاتی که اثر متقابل ژنوتیپ در محیط آن‌ها معنی‌دار بود، انجام شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس ۷ صفت در محیط تنش شوری در ۳ گروه جایابی شدند (شکل ۱). گروه اول که شامل اکثر ژنوتیپ‌ها (ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۵، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸ و ۳۹) بود به عنوان گروه

مقایسه میانگین عملکرد دانه در شرایط تنش نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۳۰، ۳۵، ۲۱ و ۲۰ به ترتیب با عملکرد ۵/۲۱۱، ۵/۰۰۰، ۴/۸۴۴ و ۴/۷۵۶ تن در هکتار عملکرد بیشتری نسبت به شاهد‌های متحمل (برزگر، افق، ارگ و سیستان) داشتند و این لاینها در شرایط نرمال نیز از عملکرد بالایی برخوردار بودند (جدول ۴). ژنوتیپ‌های ۲۵، ۱۶، مغان ۳، گاسپارد و آرتا در هر دو شرایط تنش شوری و نرمال با اختلاف معنی‌دار، عملکرد کمتری نسبت به ارقام شاهد تولید نمودند. البته این اختلاف عملکرد در شرایط تنش چشمگیرتر بود. میانگین عملکرد ارقام شاهد متحمل به شوری ارگ، برزگر، افق و سیستان به ترتیب ۴/۷۵۶، ۴/۵۵۶، ۴/۵۱۷ و ۴/۵۰۰ تن در هکتار بود (جدول ۴). تنش شوری سبب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش توان فتوسنتزی گیاه می‌شود و بدنبال آن میزان ماده خشک تولیدی و در نهایت عملکرد دانه گیاه کاهش می‌یابد (Mahmoodi *et al.*, 2014). ارقام متحمل به شوری ارقامی هستند که نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها تنش را بهتر تحمل نموده و در شرایط یکسان افت عملکرد کمتری نشان دهند (Munns and James, 2003). اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد دانه تحت تنش شوری در مطالعات قبلی (Akbarpour *et al.*, 2015; Ayed- Slama *et al.*, 2018; Saberi *et al.*, 2017) گزارش شده است).

محاسبه ضرایب تنوع و آماره‌های توصیفی نشان داد که در شرایط تنش شوری بیشترین میزان تنوع ژنتیکی و فنوتیپی مربوط به عملکرد دانه بود (جدول ۵). ضریب تغییرات ژنتیکی (CVg) برای عملکرد دانه در شرایط نرمال ۳۳ درصد و در شرایط تنش ۳۰ درصد بود در حالیکه ضریب تغییرات فنوتیپی (CVp) در شرایط نرمال ۳۴ درصد و در شرایط تنش ۳۳ درصد محاسبه گردید (جدول ۵). با توجه به تفاوت اندک بین این دو ضریب به خصوص در شرایط نرمال، می‌توان نتیجه گرفت که بخش قابل توجهی از تنوع

اختلاف وجود داشته است، در نتیجه ژنوتیپ‌های قرار گرفته در درون گروه‌ها نسبت به ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه‌های متفاوت از نظر این صفات شباهت بیشتری با هم داشته و گروه‌بندی صحیح بوده است.

در مطالعه Alipour و همکاران (۲۰۱۷) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی صفات زراعی در توده‌های بومی و زراعی گندم‌های ایرانی از تجزیه خوشه‌ای و جهت تأیید گروه‌بندی از تجزیه واریانس چندمتغیره و یک طرفه در کنار تجزیه تابع تشخیص استفاده گردید و کل ژنوتیپ‌ها در فاصله ۷/۴ در چهار گروه قرار گرفتند و نتایج حاصل از تجزیه کلاستر و ضریب تغییرات ژنتیکی مطابقت خوبی داشتند.

#### تجزیه ساختار ژنتیکی

در مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت که برای توضیح روابط افراد در درون و بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود، چشم‌اندازی از روابط تکاملی افراد در یک جمعیت را ارائه می‌دهد. در صورتی که اثر ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در تجزیه ارتباط در نظر گرفته نشوند، نتایج مثبت کاذب به وجود خواهد آمد (Bresghehlo and Sorrells, 2006).

ژنوتیپ‌های متحمل تعیین گردید. ارقام شاهد متحمل به شوری (افق، برزگر، سیستان، ارگ و بم) و ارقام بومی متحمل مانند روشن، سرخ تخم و ماهوتی نیز در این گروه قرار گرفتند. گروه دوم ۱۱ ژنوتیپ (ژنوتیپ‌های شماره ۵، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۷، ۱۹، ۲۴، ۲۶، ۲۷ و ۴۰) را به خود اختصاص داد که شامل ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس تا نیمه‌متحمل بودند. تنها ۲ ژنوتیپ (ژنوتیپ‌های شماره ۱۸ و ۲۵) به گروه سوم تعلق داشتند که ژنوتیپ‌های حساس به تنش شوری شناخته شدند که در محیط تنش شوری عملکرد خود را نتوانسته‌اند حفظ نمایند (جدول ۴ و شکل ۱).

نتایج این تجزیه نشان داد که هر چهار آماره ویلکس لامیدا، اثر پیلائی، ریشه‌روی و اثر لاولی هتلینگ در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار شدند (نتایج جدول ۶). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت بین بردارهای میانگین‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشته است. از طرف دیگر تجزیه واریانس ساده برای تک‌تک صفات نیز نشان داد بین گروه‌ها از نظر هفت صفت اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (نتایج تجزیه واریانس بخاطر حجم زیاد ارائه نشده است). بنابراین، می‌توان گفت بین گروه‌های مورد مطالعه

جدول ۵. برآورد ضرایب تغییرات فنوتیپی (CVp) و ژنتیکی (CVg) برای صفات اندازه‌گیری شده در دو شرایط نرمال و تنش شوری

صفت	شرایط تنش شوری Salinity Stress condition					شرایط نرمال Normal condition				
	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Mean	ضریب تغییرات فنوتیپی (CVp)	ژنتیکی (CVg)	کمینه Min	بیشینه Max	میانگین Mean	ضریب تغییرات فنوتیپی (CVp)	ژنتیکی (CVg)
عملکرد دانه (تن درهکتار)	2.2	5.211	3.394	32.55	30.29	3.211	7.289	5.059	33.93	33.17
عملکرد بیولوژیک (تن در هکتار)	7.778	15.111	11.474	30.17	29.06	10.42	18.656	13.36	29.85	29.13
شاخص برداشت	27.6	45.83	34.38	20.72	18.16	69.33	43.85	38.29	18.35	16.82
وزن هزاردانه (گرم)	27.23	42.4	36.68	19.94	18.31	37.09	46.62	42	12.72	11.02
تاریخ خوشه رفتن	128.33	157.33	137.7	7.18	7.07	137.33	151	142.17	4.53	4.21
تعداد روز تارسیدن	170.67	190	180.56	4.36	4.14	183	193	188.32	3.94	3.8
ارتفاع بوته (cm)	53.33	92	74.14	19.45	18.81	73.33	100.5	87.28	13.69	12.41
طول سنبله (mm)	53.33	87.33	74.1	18.39	14.96	69	94.17	82.86	15.93	13.64
تعداد دانه در سنبله	21.07	39.7	31.46	29.89	27.2	30.27	48.13	37.79	27.23	23.86
طول پدانکل (cm)	19.03	32.83	27.19	20.99	18.38	26.41	36.4	32.27	15.55	13.15
طول پنالتمیت (cm)	11.3	18.2	14.91	20.91	18.55	14.65	20.24	17.95	16.76	14.15

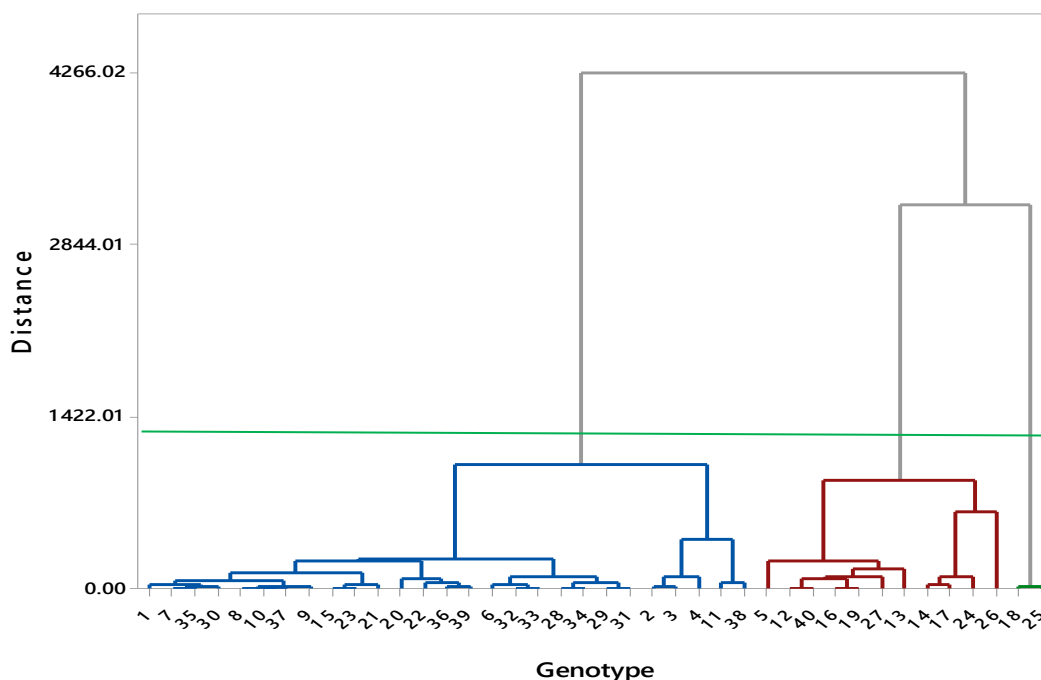
f: محاسبه ضرایب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی با استفاده از امید ریاضی انجام گرفته است.



جدول ۶. تجزیه واریانس چندمتغیره برپایه طرح کاملاً تصادفی نامتعادل در محیط تنش شوری

	df	Wilks	Roy	Pillai	Hotelling-Lawley
گروه	2	0.016***	8.403***	1.745***	14.137***
باقی مانده	37				

\*\*\*: معنی داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد.



شکل ۱. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای در محیط تنش شوری برای ۴۰ ژنوتیپ گندم با استفاده از روش Ward

(شکل ۲). در واقع تجزیه ساختار نشان داد که تعداد خوشه‌هایی که پارامتر  $\Delta K$  را به حداکثر خود می‌رساند برابر ۲ می‌باشد.

دو زیرجمعیت احتمالی ( $K=2$ ) در تخمین ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس Q) در نظر گرفته شد. زیرجمعیت‌های تشکیل شده از لحاظ ژنتیکی متمایز از یکدیگر بوده و چنانچه ژنوتیپ‌ها به صورت اختلاط یافته باشند، پس از انجام این تجزیه قابل تشخیص خواهند بود (Dadras *et al.*, 2014). بر اساس نتایج ارائه شده در بای پلات (شکل ۳) و نتایج مندرج در جدول ۸، از کل ۴۰ ژنوتیپ مورد مطالعه، ۲۱ ژنوتیپ شامل ژنوتیپ‌های شماره ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۳، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۹، ۳۸ و ۴۰ منتسب به گروه

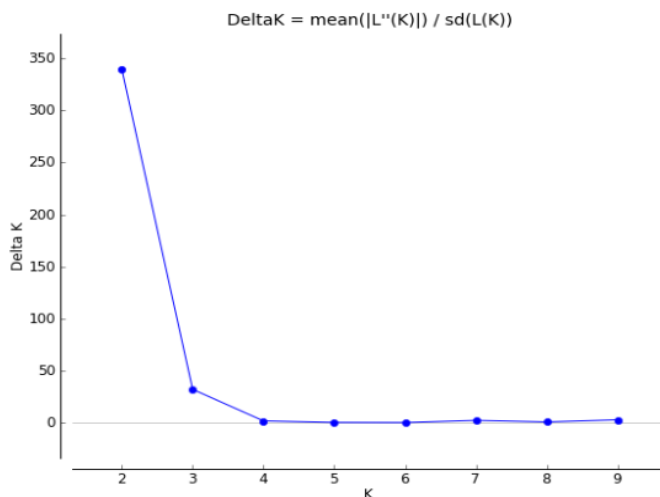
بنابراین آگاهی از ساختار جمعیت به عنوان یک پیش‌نیاز در نقشه‌یابی ارتباطی می‌تواند به منظور اجتناب از شناسایی ارتباطات مثبت دروغین بین نشانگرها و صفات استفاده شود (Pritchard and Donnelly, 2001). به همین منظور در این تحقیق ساختار ژنتیک جمعیت و چگونگی آن و تعیین تعداد مناسب زیرجمعیت‌ها به منظور استفاده از آن به عنوان کووریت در انجام تجزیه ارتباطی بر اساس روش بی‌زین در نرم‌افزار Structure انجام شد. بر اساس نتایج حاصل از نرم‌افزار،  $K$  و  $\Delta K$  (که به ترتیب زیرگروه‌ها و میزان تغییرات آن‌ها با توجه به شبیه‌سازی‌های انجام شده در نرم‌افزار می‌باشد) استخراج و نمودار دو بعدی آن رسم شد (جدول ۷). نمودار دوطرفه مقدار بهینه  $K$  نشان داد که بهترین  $K$  در این پژوهش، همان نقطه اوج منحنی، ۲ می‌باشد

داشتند نتوانستند به هیچ یک از گروه‌ها منتسب گردند. مطالعه تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط برای تحمل به شوری در برنج با نشانگرهای SSR مشخص گردید که دو زیر جمعیت وجود دارد (Emon *et al.*, 2015).

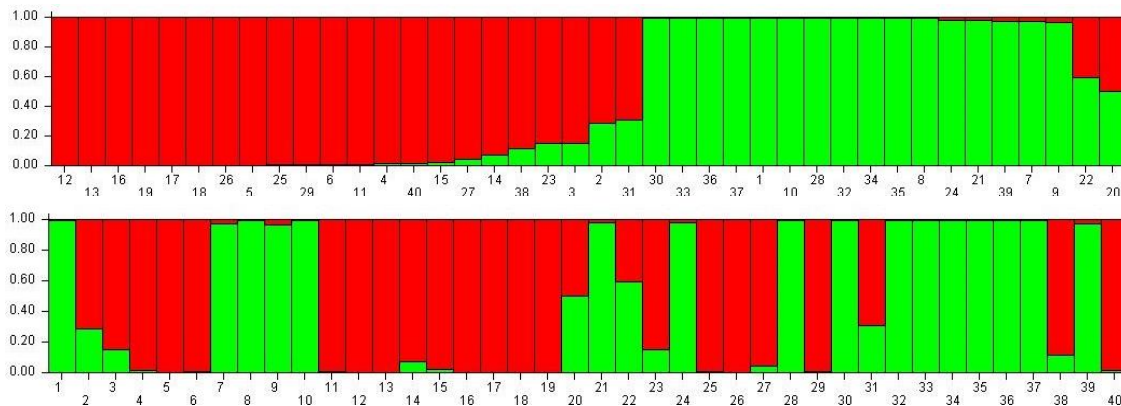
۱ شدند و تعداد ۱۶ ژنوتیپ شامل ژنوتیپ‌های ۱، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۲۱، ۲۴، ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷ و ۳۹ به عضویت گروه ۲ در آمدند و ۳ ژنوتیپ ۲۰، ۲۲ و ۳۱ هم جزو ژنوتیپ‌های مخلوط بودند، بدین معنی که چون درصد عضویت کمتر از ۰/۷۰

جدول ۷. آماره‌های محاسبه شده برای مقادیر بهینه K با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE

K	Mean LnP(K)	Stdev LnP(K)	Ln'(K)	L'(K)	K <sup>d</sup> Δ
1	-3249.28	0.277489	—	—	—
2	-2343.44	2.008233	905.84	681.96	339.5821
3	-2119.56	3.045981	223.88	98.08	32.19981
4	-1993.76	8.596104	125.8	16.2	1.884575
5	-1884.16	18.20956	109.6	7.64	0.41956
6	-1782.2	20.15453	101.96	6.12	0.303654
7	-1674.12	21.81461	108.08	51.98	2.382807
8	-1618.02	81.2887	56.1	73.46	0.903693
9	-1488.46	15.12194	129.56	44.08	2.91497
10	-1402.98	21.2182	85.48	—	—



شکل ۲. نمودار دوطرفه برای تعیین مقدار بهینه K



شکل ۳. بای پلات ساختار جمعیت مبتنی بر مدل Bayesian برای ۴۰ رقم گندم بر اساس ۲۷ نشانگر SSR (K=2).

هر رنگ یک زیرجمعیت یا کلاستر را نشان می‌دهد.

اعداد روی محور افقی و عمودی به ترتیب شماره افراد و ضریب تعلق هر فرد به هر کلاستر را نشان می‌دهد.

جدول ۸. درصد عضویت ژنوتیپ‌ها و میانگین شاخص تثبیت بر اساس تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل Bayesian

ژنوتیپ	درصد عضویت		ژنوتیپ	درصد عضویت	
	در گروه ۱	در گروه ۲		در گروه ۱	در گروه ۲
1	0.002	0.998	21	0.021	0.979
2	0.713	0.287	22	0.407	0.593
3	0.843	0.157	23	0.849	0.151
4	0.982	0.018	24	0.018	0.982
5	0.993	0.007	25	0.992	0.008
6	0.99	0.01	26	0.995	0.005
7	0.027	0.973	27	0.951	0.049
8	0.007	0.993	28	0.002	0.998
9	0.03	0.97	20	0.991	0.009
10	0.002	0.998	30	0.001	0.999
11	0.989	0.011	31	0.69	0.31
12	0.998	0.002	32	0.002	0.998
13	0.998	0.002	33	0.001	0.999
14	0.923	0.077	34	0.002	0.998
15	0.972	0.028	35	0.006	0.994
16	0.998	0.002	36	0.001	0.999
17	0.997	0.003	37	0.001	0.999
18	0.995	0.005	38	0.883	0.117
19	0.998	0.002	39	0.023	0.977
20	0.499	0.501	40	0.98	0.02
Fixation index ( $F_{ST}$ )				0.0101	0.8616

## تجزیه ارتباط

صفات پیچیده و مهم زراعی تحت تأثیر QTL‌های متعدد، محیط و تعامل بین QTL و محیط است. تجزیه لینکاژ و مکان‌یابی ارتباطی دو روش معمول و پرکاربرد برای بررسی صفات پیچیده می‌باشند. روش تجزیه لینکاژ در گیاهان، QTL‌های مورد بررسی را در فاصله ۱۰ تا ۲۰ سانتی‌مورگان مکان‌یابی می‌کند، زیرا افراد مورد مطالعه کم بوده و تعداد موارد نوترکیبی در جمعیت مکان‌یابی محدود می‌باشد. درحالی‌که صدها مطالعه تجزیه لینکاژ در گونه‌های مختلف گیاهی طی دو دهه اخیر صورت گرفته است، تنها تعداد محدودی از QTL‌های شناخته‌شده، همسانه‌سازی شده یا در سطح ژن بررسی شده‌اند (Holland, 2007).

در حالی‌که در مکان‌یابی ارتباطی، QTL‌های دخیل در صفات پیچیده در یک جمعیت متنوع در فاصله ژنتیکی محدودتری مکان‌یابی می‌شوند. این روش به دو صورت مکان‌یابی ارتباطی کل ژنوم و مکان‌یابی ارتباطی ژن کاندید صورت می‌گیرد. مکان‌یابی ارتباطی کل ژنوم یک روش جامع برای بررسی سیستماتیک ژنوم جهت شناسایی عوامل ژنتیکی دخیل در صفات می‌باشد. در این روش تعداد زیادی نشانگر برای ارتباط

با صفات پیچیده مختلف تست شده و اطلاعات قبلی در مورد ژن‌های کاندید نیاز نیست. چالش اصلی در مکان‌یابی ارتباطی تفکیک روابط حقیقی بین نشانگرها و صفات از روابط کاذب ناشی از ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی است که البته در این بین تأثیر روابط خویشاوندی در ارائه نتایج مثبت کاذب بیشتر از ساختار جمعیت وجود دارد (Li et al., 2011). با توجه به مزایای این روش در این مطالعه برای شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورد بررسی در گندم از تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) استفاده شد. همانطور که پیش‌تر اشاره گردید در این مدل علاوه بر ساختار جمعیت، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت نیز در تجزیه ارتباط به عنوان کووریت در نظر گرفته می‌شود و بنابراین ارتباطات و پیوستگی‌های دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد. لازم به توضیح است که خروجی مدل GLM (بدون ماتریس Q)، به دلیل حجم زیاد نتایج ارائه نشده است. از طرف دیگر نتایج آن نسبت به MLM از قابلیت اعتماد کمتری برخوردار بوده و امروزه بیشتر از رویه MLM برای درک ارتباط معنی‌دار بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود.

ارتباط چندین نشانگر با صفات، از جمله عملکرد حاکی از توارث کمی و چندژنی این صفات می‌باشد. از طرفی دیگر، کم بودن 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 بوده و بنابراین تأثیر بیشتر اثر محیط (نسبت به آثار ژنتیکی) روی تغییرات این صفات می‌باشد. لازم به اشاره است که بالاترین ضریب تبیین به نشانگر S16-1 با توجیه ۲۳/۷ درصد از تغییرات طول پدانکل اختصاص داشت. در تجزیه ارتباط برای صفات دانه گندم در سه محیط با نشانگر SSR نتیجه گرفتند که دامنه تغییرات ضریب تبیین از ۰/۶۸ تا ۱۵/۱۲ درصد متغیر می‌باشد (Zhao et al., 2015).

برای ۱۱ صفت اندازه‌گیری شده در شرایط تنش شوری ۴۰ نشانگر ارتباط معنی‌داری را نشان دادند. از این تعداد ۳ ارتباط در سطح احتمال ۱ درصد و بقیه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱۰).

در مجموع بر اساس نتایج، ۲۹ نشانگر ارتباط معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با صفات مورد ارزیابی در محیط نرمال نشان دادند (جدول ۹). مکان‌های مرتبط و معنی‌دار بر اساس این مدل شامل ارتباط ۵ نشانگر با عملکرد دانه، ۱ نشانگر با عملکرد بیولوژیک، ۲ نشانگر با شاخص برداشت، ۱ نشانگر با وزن هزار دانه، ۳ نشانگر با تاریخ خوشه رفتن، ۴ نشانگر با تاریخ رسیدن، ۱ نشانگر با ارتفاع بوته، ۵ نشانگر با طول سنبله، ۱ نشانگر با تعداد دانه در سنبله، ۳ نشانگر با طول پدانکل و ۳ نشانگر با طول پنالتمیت بود (جدول ۹). نشانگر S16-1 با ۳ صفت ارتفاع بوته، طول سنبله و طول پدانکل و نشانگر S18-4 با ۲ صفت عملکرد دانه و شاخص برداشت مرتبط بود که نشان‌دهنده اثر پلیوتروپی این نشانگرها و احتمالاً پیوستگی مکان‌های ژنومی کنترل‌کننده این صفات باشد (Jun et al., 2008). شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازند (Tuberosa et al., 2002).

جدول ۹. نشانگرهای SSR پیوسته با صفات مورد مطالعه در ۴۰ ژنوتیپ گندم تحت شرایط نرمال

صفت Trait	نشانگر Marker	MLM model		صفت Trait	نشانگر Marker	MLM model	
		P-value	R <sup>2</sup>			P-value	R <sup>2</sup>
عملکرد دانه Green yield	S18-4	0.041	0.115	ارتفاع بوته Plant height	S16-1	0.016	0.162
	S26-1	0.036	0.122		S3-2	0.031	0.129
	S30-1	0.016	0.164		S6-2	0.028	0.133
	S38-3	0.029	0.132		S9-2	0.033	0.125
	S43-1	0.015	0.166		طول سنبله Spike length	S16-1	0.028
عملکرد بیولوژیک Biologic yield	S11-4	0.046	0.108	S16-2	0.044	0.111	
شاخص برداشت Harvest index	S18-4	0.011	0.181	تعداد دانه در سنبله Grains/spike	S18-2	0.032	0.127
	S38-4	0.014	0.170		S9-3	0.036	0.122
وزن هزار دانه 1000 kernel weight	S25B-3	0.032	0.126	طول پدانکل Peduncle length	S12-1	0.024	0.142
	S6-3	0.043	0.112	S16-1	0.004	0.237	
	S39-1	0.049	0.106	S22-2	0.012	0.179	
تاریخ خوشه رفتن Day to heading	S44-2	0.015	0.166	طول پنالتمیت Penultimate length	S39-4	0.049	0.106
	S11-1	0.046	0.109	S40-1	0.049	0.106	
	S19-1	0.039	0.117				
تاریخ رسیدن Day to maturity	S26-5	0.035	0.123				
	S44-2	0.037	0.120				

جدول ۱۰. نشانگرهای SSR پیوسته با صفات مورد مطالعه در ۴۰ ژنوتیپ گندم تحت شرایط تنش شوری

صفت Trait	نشانگر Marker	MLM model		صفت Trait	نشانگر Marker	MLM model	
		P-value	R <sup>2</sup>			P-value	R <sup>2</sup>
عملکرد دانه Grain yield	S6-3	0.036	0.121	ارتفاع بوته Plant height	S16-1	0.006	0.216
	S12-1	0.045	0.109		S19-1	0.044	0.111
	S11-4	0.026	0.137		S30-2	0.042	0.113
عملکرد بیولوژیک Biologic yield	S12-1	0.020	0.149	طول سنبله Spike length	S3-2	0.014	0.169
	S16-1	0.017	0.159		S9-2	0.045	0.110
	S16-2	0.047	0.107	S11-2	0.019	0.154	
شاخص برداشت Harvest index	S23-1	0.048	0.107		S3-2	0.021	0.149
	S38-4	0.009	0.196		S8-4	0.025	0.138
	S11-4	0.049	0.106	تعداددانه در سنبله Grains/spike	S18-2	0.041	0.114
	S12-1	0.046	0.108		S22-3	0.043	0.112
وزن هزار دانه 1000 kernel weight	S16-1	0.022	0.147		S42-1	0.032	0.126
	S16-2	0.028	0.133		S6-3	0.027	0.135
	S22-2	0.020	0.151	طول پدانکل Peduncle length	S16-1	0.044	0.111
	S38-2	0.040	0.115		S19-1	0.021	0.147
	S8-2	0.034	0.124		S19-1	0.042	0.114
تاریخ خوشه رفتن Day to heading	S16-1	0.032	0.127		S22-1	0.005	0.223
	S16-2	0.030	0.130	طول پنالتمیت Pinaltimit length	S22-2	0.031	0.129
	S44-2	0.013	0.175		S39-4	0.013	0.174
	S11-4	0.034	0.124		S40-1	0.013	0.174
تاریخ رسیدن Day to maturity	S44-1	0.029	0.132				
	S44-2	0.019	0.153				

در مطالعه تجزیه ارتباط برای ۱۴ صفت مورفولوژیکی گندم نان به وسیله نشانگرهای SSR، AFLP و SAMPL به روش رگرسیون گام به گام، ۵۱ نشانگر شناسایی شدند که با حداقل یکی از صفات ارتباط داشتند و پیشنهاد شد که این نشانگرها قابلیت کاربرد در برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگر را دارند (Roy et al., 2006). در پژوهش حاضر، دو نشانگر S6-3 و S12-1 با عملکرد دانه در تنش شوری ارتباط داشتند در حالی که در محیط نرمال این ارتباط وجود نداشت، بنابراین به عنوان نشانگرهای مرتبط با عملکرد دانه برای شرایط تنش شوری شناخته شدند. به جز نشانگر S11-4 که در هر دو محیط با عملکرد بیولوژیک مرتبط بود، سه نشانگر S12-1، S16-1 و S16-2 با این صفت در تنش شوری رابطه داشتند و نشانگرهای مرتبط با عملکرد بیولوژیک در شوری بودند. همه ۶ نشانگری که با وزن هزار دانه ارتباط داشتند، به عنوان نشانگرهای مرتبط با این صفت در شوری شناسایی شدند. برای

ارتباط تعداد بالای نشانگرها در محیط شور به این دلیل است که این نشانگرهای SSR با توجه به مطالعات پیشین در رابطه با تحمل به تنش شوری استفاده شده‌اند. تعداد ۲ نشانگر با عملکرد دانه، ۴ نشانگر با عملکرد بیولوژیک، ۲ نشانگر با شاخص برداشت، ۶ نشانگر با وزن هزار دانه، ۴ نشانگر با تاریخ خوشه رفتن، ۳ نشانگر با تاریخ رسیدن، ۳ نشانگر با ارتفاع بوته، ۳ نشانگر با طول سنبله، ۵ نشانگر با تعداد دانه در سنبله، ۳ نشانگر با طول پدانکل و ۵ نشانگر نیز با طول پنالتمیت در ارتباط بودند.

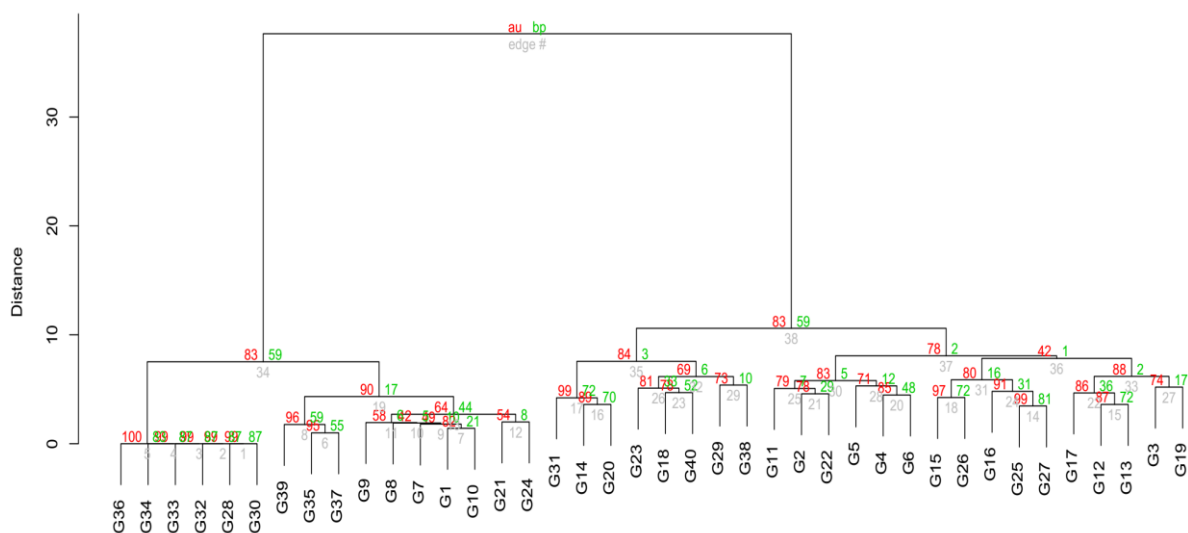
دامنه تغییرات برای ضریب تبیین نشانگرها از ۱۰/۶ الی ۲۲/۳ درصد بود. در محیط تنش نیز همچون محیط نرمال برخی نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط داشتند؛ به عنوان نمونه نشانگر S16-1 با صفات عملکرد بیولوژیک، وزن هزار دانه، تاریخ خوشه رفتن، ارتفاع بوته و طول پدانکل مرتبط بود. این بدان معناست که نشانگرهای مذکور در کنترل بسیاری از صفات تحت تنش شوری نقش دارند.

متحمل به شوری بودند. ارقام شاهد و تجاری متحمل به شوری (افق، برزگر، سیستان، ارگ و بم) نیز در این گروه قرار گرفتند، مابقی ژنوتیپ‌ها در گروه دوم قرار گرفتند که شامل ژنوتیپ‌های نیمه حساس/ نیمه متحمل بود. ژنوتیپ‌های شماره ۱۸ و ۲۵ که در گروه‌بندی نتایج مزرعه‌ای، در گروه مجزا به عنوان ژنوتیپ‌های حساس تعیین شده بودند ولی بر اساس نتایج ژنوتیپی، این دو ژنوتیپ از گروه نیمه‌متحمل تفکیک نگردیدند در مجموع نتایج گروه‌بندی براساس نشانگرهای مولکولی با نتایج گروه‌بندی مزرعه‌ای به‌ویژه در شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های متحمل به شوری، مطابقت زیادی داشت (شکل‌های ۱ و ۴).

بر اساس گزارش Turki و همکاران (۲۰۱۵)، تحمل به شوری شدیداً به مرحله رشدی وابسته بوده و چندین نشانگر SSR با صفاتی چون محتوای کلروفیل، تعداد پنجه، تعداد برگ، طول برگ، وزن تر ریشه و ساقه، طول ریشه، طول ساقه، وزن خشک ریشه و ساقه ارتباط معنی‌داری داشتند. در تحقیقی دیگر ۹ نشانگر SSR با صفات تحمل به شوری و خشکی در برنج‌های هوازی و ایرانی مرتبط بودند (Raiesi and Sabouri, 2015).

تاریخ خوشه رفتن نشانگرهای S16-1، S16-2 و S16-2، برای تاریخ رسیدن نشانگرهای S11-4 و S44-1، برای ارتفاع بوته نشانگرهای S19-1 و S30-2، برای طول سنبله نشانگر S11-2، برای تعداد دانه در سنبله نشانگرهای S3-2، S8-4، S22-1 و S42-1، برای طول پدانکل نشانگرهای S6-2 و S19-1 و در نهایت برای طول پنالتیمیت نشانگرهای S22-1 و S22-1 به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با صفات در شرایط تنش شوری در این پژوهش شناخته شدند. مطالعات متفاوتی برای تجزیه ارتباط در گیاهان زراعی با استفاده از نشانگرهای مختلف با اندازه‌گیری صفات متفاوت انجام شده است،

به منظور بررسی ارتباط نشانگرهای مورد مطالعه با ژنوتیپ‌های متحمل شناسایی‌شده بر اساس ارزیابی فنوتیپی، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش Ward با استفاده از نشانگرهای مولکولی (پیوسته و معنی‌دار در تجزیه ارتباط) انجام و نتایج حاکی از مطابقت نسبی گروه‌بندی براساس نشانگرهای مولکولی با نتایج گروه‌بندی مزرعه‌ای به‌ویژه در شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بود (شکل‌های ۱ و ۴). همان طوری که مشاهده می‌شود ژنوتیپ‌ها در دو گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول شامل نوטיפ‌های



شکل ۴. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش Ward با استفاده از داده‌های مولکولی

ژنوتیپها بر اساس داده‌های مولکولی نیز حاکی از وجود تنوع خوب در آنها بود مؤید نتایج بررسی فنوتیپی بود، به طوری که نتایج گروه‌بندی ژنوتیپها براساس نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات شناسایی‌شده، در شناسایی و تفکیک ژنوتیپهای متحمل به شوری با نتایج مزرعه‌ای همخوانی نسبی داشت.

نتایج روش مکان‌یابی ارتباطی با مدل MLM، حاکی از کارایی مؤثر این مدل در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات ارزیابی‌شده در دو محیط نرمال و تنش شوری در ژنوتیپهای گندم مورد مطالعه بود. در این مدل علاوه بر ساختار جمعیت، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت نیز به‌عنوان کووریت مدنظر بوده در نتیجه ارتباطات و پیوستگی‌های دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد. از طرف دیگر نتایج آن نسبت به GLM از قابلیت اعتماد بیشتری برخوردار بوده و امروزه این مدل برای درک ارتباط معنی‌دار بین نشانگر و صفت کاربرد بیشتری دارد. با توجه به محدودیت‌های روش نقشه‌یابی پیوستگی از قبیل در دسترس نبودن جمعیت‌های در حال تفرق و زمان طولانی لازم جهت ایجاد آنها، روش تجزیه ارتباطی با از بین بردن این محدودیت‌ها اطلاعات نشانگری مناسبی را در اختیار محققان قرار می‌دهد که نتایج مطالعه حاضر نیز مؤید این امر بود بطوریکه، بر اساس نتایج حاصله، ۲۹ مکان ارتباط معنی‌داری با صفات ارزیابی‌شده در محیط نرمال داشتند در حالی که در محیط تنش شوری این تعداد به ۴۰ مکان افزایش یافت. ارتباط تعداد بالای نشانگرها در محیط شور به این دلیل است که این نشانگرهای SSR با توجه به مطالعات پیشین در رابطه با تحمل به تنش استفاده شده و نشانگرهای مرتبط با نواحی گزارش شده QTLهای مرتبط با تحمل به شوری در گندم بودند (Shahzad *et al.*, 2012; Genc *et al.*, 2010 ; Sardouie-Nasab *et al.*, 2013).

در گندم، ماکرهای SSR معنی‌داری در ارتباط با خصوصیات بذر شناسایی شده است (Breseghello and Sorrels, 2006). در مطالعه Drikvand و همکاران (۲۰۱۸) نیز ۳۴ نشانگر SSR با برخی صفات گندم مرتبط بودند. در جو، نشانگرهای متعددی با تعدادی از صفات زراعی از جمله عملکرد، تحمل به تنش خشکی و شوری دارای ارتباط بوده‌اند (Kraakman *et al.*, 2006). در یک مطالعه دیگر Singh و همکاران (۲۰۱۸) نشانگرهای SSR مبتنی بر ژن را در گندم توسعه داده و ضمن یافتن ارتباط ۱۶۱ نشانگر SSR با ژن‌های کاندید تحمل به تنش شوری، این نشانگرها را منابع ارزشمند ژنتیکی برای ارزیابی تحمل به تنش شوری دانستند.

نتایج کلی تحقیق حاضر نشان می‌دهد بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری وجود داشت این امر بیانگر وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین مواد گیاهی مورد بررسی و احتمال وجود سازوکارهای متفاوت بین آنها در واکنش به تنش شوری است. در هر دو محیط عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک بیشترین میزان ضرایب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی را به خود اختصاص داده و با توجه به تفاوت اندک بین این دو ضریب در هر دو شرایط محیطی، می‌توان نتیجه گرفت که بخش قابل توجهی از تنوع مشاهده‌شده برای این صفات توسط عوامل ژنتیکی ایجاد شده‌اند.

بر اساس نتایج مزرعه‌ای ژنوتیپ‌ها به گروه‌های متحمل، نیمه متحمل/نیمه حساس و حساس طبقه بندی شده و نتایج بررسی واکنش ارقام حاکی از برتری ژنوتیپ‌های شماره ۲۰، ۲۱، ۳۵، ۳۶ و ۳۰ بود که در هر دو محیط تولید بالایی نیز داشتند و به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به شوری شناسایی گردیدند در مقابل ارقام شماره ۵، ۱۸ و ۲۵ ژنوتیپ‌هایی بودند که در هر دو محیط نتوانسته‌اند عملکرد بالایی داشته باشند و به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس معرفی شدند. بررسی و تجزیه ساختار ژنتیکی

(بیوماس) شناخته شد. همچنین نشانگرهای S38-4 و S18-2 به ترتیب با صفات شاخص برداشت و تعداد دانه در سنبله در هر دو شرایط محیطی (تنش و نرمال) ارتباط معنی‌دار داشتند و به‌عنوان نشانگرهای مؤثر و مشترک برای این صفات در هر دو شرایط محیطی (تنش و نرمال) شناسایی شدند. برای عملکرد دانه نشانگر مشترک در دو شرایط محیطی مشاهده نگردید چراکه دو نشانگر S6-3 و S12-1 با عملکرد دانه فقط در تنش شوری ارتباط داشتند و در محیط نرمال این ارتباط وجود نداشت، بنابراین به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با عملکرد دانه در شرایط تنش شوری شناخته شدند. در کل با توجه به محدودیت‌های روش نقشه‌یابی پیوستگی از قبیل در دسترس نبودن جمعیت‌های در حال تفرق و زمان طولانی لازم جهت ایجاد آن‌ها، روش تجزیه ارتباط با از بین بردن این محدودیت‌ها اطلاعات نشانگری مناسبی را در اختیار محققان قرار می‌دهد، نتایج مطالعه حاضر نیز با شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات ارزیابی‌شده در محیط نرمال و تنش شوری در ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی مؤید این امر بود. با توجه به ارتباط بیشتر نشانگرهای مورد بررسی با صفات در محیط تنش شوری، میتوان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی گندم برای تحمل به تنش شوری استفاده نمود. برای افزایش کاربرد نشانگرها و اطمینان ارتباط آن‌ها با صفات پیشنهاد می‌شود نشانگرهای شناسایی شده در جمعیت‌های بزرگ و با سطح بالاتری از تنوع و نیز در محیط‌های مختلف (تکرار در سال‌ها و مکان‌های مختلف) مورد بررسی قرار گیرند.

در هر دو محیط نرمال و تنش، برخی نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط داشتند این بدان معناست که نشانگرهای مذکور در کنترل بسیاری از صفات نقش دارند. به‌عنوان نمونه نشانگر S16-1 در شرایط نرمال با صفات ارتفاع بوته، طول سنبله و طول پدانکل و در شرایط تنش شوری با صفات عملکرد بیولوژیک، وزن هزار دانه، تاریخ خوشه رفتن، ارتفاع بوته و طول پدانکل مرتبط بود. همچنین نشانگر S12-1 در شرایط تنش شوری با صفات عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و وزن هزاردانه مرتبط بود و بیانگر نقش این نشانگر در کنترل عملکرد و اجزای آن در شرایط تنش بود. وجود نشانگرهای مشترک در میان برخی از صفات بررسی شده (مانند ارتباط معنی‌دار نشانگر S16-1 با ۳ صفت در محیط نرمال و با ۵ صفت در محیط شوری) می‌تواند ناشی از آثار پلیوتروپی این نشانگرها و احتمالاً پیوستگی مکان‌های ژنومی کنترل‌کننده این صفات باشد (Jun *et al.*, 2008). شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازند (Tuberosa *et al.*, 2002). نکته دیگر در نتایج مطالعه حاضر، وجود نشانگرهای مشترک مرتبط با برخی صفات در هر دو شرایط محیطی بود، که دال بر پایداری ارتباط با صفات می‌باشد در این میان به نشانگر S16-1 در بالا اشاره شد که در هر دو شرایط محیطی با صفات ارتفاع بوته و طول پدانکل مرتبط بود. نشانگر S11-4 نیز در هر دو محیط با عملکرد بیولوژیک مرتبط بود و به‌عنوان نشانگر مشترک در هر دو شرایط محیطی مرتبط با عملکرد بیولوژیک

## REFERENCES

- Aghaali Z, Darvishzadeh R, Goodarzi F (2016) Association analysis of morphological traits in castor (*Ricinus communis* L.) by using ISSR markers. Iranian J. Rangel. Plant Breed. Genet. Res. 24: 79-91.
- Aghaee Sarbarzeh M, Amini A, (2011) Genetic variability for agronomic traits in bread wheat genotype collection of Iran. Seed Plant Improv. J. 27-1(4): 581-599.
- Akbarpour OA, Dehghani H, Rousta MJ,



- Amini A, (2015). Evaluation of some Properties of Iranian wheat genotypes in normal and salt-stressed conditions using Restricted Maximum Likelihood (REML). Iran. J. Crop Res. 46(1): 57-69.
- Ali Pour H, Bihamta MR, Mohammadi V, Peyghambari SA (2017) Evaluation of Genetic Variability of Agronomic Traits in Iranian Wheat Landraces and Cultivars. jcb. 9 (22): 168-177.
- Amini A, Amirnia A, Ghazvini H (2015) Evaluation of Salinity Tolerance in Bread Wheat Genotypes under Field Conditions, Seed Plant Improv. J. 31 (1): 95-115.
- Ayed-Slama O, Bouhaouel I, Chamekh Z, Trifa Y, Sahli A, Aissa NB, Slim-Amara H, (2018) Genetic variation of salt-stressed durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum* Desf.) genotypes under field conditions and gynogenetic capacity. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 16(1), 161-167.
- Braun HJ, Atlin G, Payne T (2010) Multi-location testing as a tool to identify plant response to global climate change. Climate Change and Crop Production 25: 115-138.
- Breseghele F, Sorrells ME (2006) Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Genetics, 172(2), 1165-1177
- Buckler ES, Thornsberry JM (2002) Plant molecular diversity and applications to genomics. Curr. Opin. Plant Biol. 5: 107-111.
- Canama T, Li X, Holowachukb J, Yu M, Xia J, Mandal R, Krishnamurthy R, Bouatra S, Sinelnikov I, Yu B, Grenkow L, Wishart DS, Steppuhn H, Falk KC, Dumonceaux TJ, Gruber MY (2013) Differential metabolite profiles and salinity tolerance between two genetically related brown-seeded and yellow-seeded Brassica carinata lines. Plant Science, 198: 17-26
- Dadras AR, Sabouri H, Nejad GM, Sabouri A, Shoai-Deylami M (2014). Association analysis, genetic diversity and structure analysis of tobacco based on AFLP markers. Molecular biology reports, 41(5), 3317-3329.
- Drikvand R, Najafian G, Bihamta MR, Ebrahimi A (2018). Mapping some seed quality traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by association mapping using SSR markers. Journal of Applied Biotechnology Reports, 5(3), 92-99.
- Emon RM, Islam MM, Halder J, Fan Y (2015) Genetic diversity and association mapping for salinity tolerance in Bangladeshi rice landraces. The Crop Journal 3: 440-444.
- Khorsandi Fand Hasheminezhad Y (2019) Agriculture in saline conditions. National Salinity Center, Ministry of Agriculture-Jahad, Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO).
- Ghaedrahmati M, Mardi M, Naghavi MR, Majidi Heravan E, Nakhoda B, Azadi A, Kazemi M (2014). Mapping QTLs associated with salt tolerance related traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). JAST, 16(6), 1413-1428.
- Ganj Khanlo A, Mohammadi SA, Moghaddam M, Ghasemi-golezani k, Shakiba MR, Yosefi A (2012) Genetic Diversity in Barley as Revealed by Microsatellite Markers and Association Analysis of These Markers by Traits Related to Freezing Tolerance. J. Plant. Seed Breed. 1: 101-114.
- Ghaffari Azar A, Darvishzadeh R, Aghaali Z, Kahrizi D, Darvishi B (2019) Assessment of genetic diversity and grouping of maize lines (*Zea mays* L.) using ISSR markers. Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology) 32(2): 194-204.
- Genc Y, Oldach K, Verbly AP, Lott G, Hassan M, Tester M, Wallwork H, and McDonald GK (2010) Sodium

- exclusion QTL associated with improved seedling growth in bread wheat under salinity stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(5): 877-94.
- Gholizadeh A, Dehghani H, Amini A, Akbarpour O (2018) Identification of salinity tolerant genotypes and study on relationships between yield and its components in bread wheat. *Cereal Research* 8: 321-332
- Holland JB (2007). Genetic architecture of complex traits in plants. *Current opinion in plant biology*, 10(2), 156-161
- Kraakman ATW, Martínez F, Mussiraliev B, Van Eeuwijk FA, Niks RE (2006) Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Mol. Breed.* 171: 41-58.
- Kumar V, Singh A, Mithra ASV, Krishnamurthy SL, Swarup K, Jain PJ, Tiwari KK, Kumar P, Rao AR, Sharma SK, Khurana JP, Singh NK, Mohapatra T (2015) Genome-wide association mapping of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa*). *DNA Res.* 22: 133-145
- Li X, Wei Y, Moore KJ, Michaud R, Viands DR, Hansen JL, & Brummer EC (2011) Association mapping of biomass yield and stem composition in a tetraploid alfalfa breeding population. *The Plant Genome*, 4(1), 24-35.
- Jun TH, Van K, Kim MY, Lee SH, Walker DR (2008) Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. *Euphytica*, 162(2), 179-19
- Mahmoodi E, Mohammadi S, Saba J, Hamze H, Rezaei M (2014) Evaluation of relationship among traits in wheat genotypes under terminal water stress conditions. *Cereal Res.* 4:1-11
- Meszaros K, Ildiko K, Csaba K, Judit B, Laszlo L, and Zoltan B (2007) Efficiency of different marker systems for genotype fingerprinting and for genetic diversity studies in barley (*Hordeum vulgare* L.). *South African Journal of Botany*, 73: 43-48.
- Moghaieb RE, Abdel-Hadi AA, Talaat NB (2011) Molecular markers associated with salt tolerance in Egyptian wheat's. *African Journal of Biotechnology* 10(79): 18092-18103.
- Mahdinejad N, Omidi M, Jalalkamali MR, Naghavi MR, Fakheri B A (2014). QTL analysis of some phenological and morphological traits in Babax and Seri M82 recombinant inbred line population of wheat during salinity stress.
- Raiesi T, Sabouri A (2015) validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Crop Biotech.* 10: 57-72.
- Rezaei M, Sabouri H, Gholizadeh A, Mohammadi-Gonbad R (2018) Allelic variation, Association Analysis and haplotype diversity for microsatellite markers related to acidic soil tolerance genes in barley. *Crop Biothec.* 22: 27-3925
- Roy SJ, Tucker EJ and Tester M (2011) Genetic analysis of abiotic stress tolerance in crops. *Current Opinion in Plant biology*, 14: 232-239.
- Saberi M H, Arazmjoo E, Amini A, (2017) Assessment of Diversity and Identifying of Effective Traits on Grain Yield of bread wheat Promised Lines under Salt Stress Conditions. *jcb.* 8 (20): 40-31
- Saghai-Marouf MA, Soliman K, Jorgensen RA, and Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81: 8014-8018.
- Salehi M, Arzani A (2011). Effect of salinity stress on morpho-physiological

- traits of triticale lines. Iranian Journal of Crop Sciences, 13(4), 697-711.
- Sardouie-Nasab S, Mohammadi-Nejad Gh, Nakhoda, B (2013) Assessing genetic diversity of promising wheat (*Triticum aestivum* L.) lines using microsatellite markers linked with salinity tolerance. Journal of Plant Molecular Breeding 1(2): 28-39.
- Shahzad A, Ahmad M, Iqbal M, Ahmed I, and Ali GM (2012) Evaluation of wheat landrace genotypes for salinity tolerance at vegetative stage by using morphological and molecular markers. Genetic Molecular Research, 11 (1): 679-692.
- Shokrpour M, Mohammadi SA, Moghaddam M, Ziai SA, Javanshir A (2008) Analysis of morphologic association, phytochemical and AFLP markers in milk thistle (*Silybum marianum* L.). Iranian J. med. aromat. Plants. 24: 278-292.
- Singh AK, Chaurasia S, Kumar S, Singh R, Kumari J, Yadav MC, Jacob SR (2018). Identification, analysis and development of salt responsive
- Singh SP, and Diwivedi VK (2002) Character association and path analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.). Agricultural Science Digest, 22: 225-547.
- Tuberosa R, Gill BS, Quarrie SA (2002). Cereal genomics: ushering in a brave new world. Plant Molecular Biology, 48(5-6), 445-449.
- Turki N, Shehzad T, Harrabi M, Okuno K (2015). Detection of QTLs associated with salinity tolerance in durum wheat based on association analysis. Euphytica, 201(1), 29-41.
- Zhao JL, Wang HW, Zhang XC, Du XY, Li AF, Kong LR (2015). Association analysis of grain traits with SSR markers between *Aegilops tauschii* and hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Integr. Agric, 14, 1936-1948.