Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Association analysis of some morphological traits of durum wheat (*Triticum turgidum* var. Durum Desf) in rainfed and supplementary irrigation conditions using SSR molecular marker

Soheyla Ahmadi[1], Farzad Fayyaz[2]✉, Amir Mohammad Naji[3] & Mostafa Aghaei Sarbarzeh[4]

[1] Ph.D Student, Genetic and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran. E-mail: Soh.ahmadi1987@gmail.com

[2]✉ Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Sanandaj Branch, Islamic Azad University,Sanandaj , Iran. E-mail: Fayyaz.farzad@gmail.com

[3] Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran. E-mail: Amnaji1970@yahoo.com

[4] Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agriculture Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

ABSTRACT

Introduction: Durum wheat is one of the most important crops in the world. Various environmental stresses such as drought stress can affect grain yield. Drought stress is one of the most important and common causes of wheat yield decline in most parts of the world. A large part of Iran's wheat cultivated lands is located in a Mediterranean climate. In these areas, the main part of rainfall is in winter and early spring, and from mid-spring, along with reduced rainfall and ambient humidity, the air temperature also rises sharply. Drought tolerance is a slightly complex trait controlled by many genes, and it is one of the most challenging traits to study and describe. Nevertheless, existing studies on drought have shown that the drought resistance mechanism of plants is morphological, physiological, and molecular, and strategies have been developed to deal with drought stress such as mass screening, modification, marker selection, and the use of exogenous hormones. Therefore, it is necessary to find a way to grow plants with limited water in areas deprived of water.

Materials and methods: The study was conducted to identify molecular markers associated with the studied traits using SSR markers in rain-fed and supplementary irrigation conditions. The seeds of 150 genotypes of durum wheat, including two germplasm of durum wheat of ICARDA and germplasm of durum wheat of Iran, originated from the Seed and Plant Research Improvement Institute of Karaj, were planted in two cropping years 2018-2019 and 2019-2020. The experiment was performed in an augmented design with four controls in 6 blocks in the Farm of the Agricultural and Natural Resources Campus of Razi University of Kermanshah in supplementary irrigation and rainfed sites. The traits of plant height, peduncle length, weight of main stem, spike length, number node, weight spike, number grain per spike, weight grain per spike, thousand kernel weight were selected randomly and measured in 10 plants.

Results: Based on the results, the GWM513 marker in the supplementary irrigation environment and the marker of GWM448-1 in the rain-fed environment showed the highest correlation with the number of seeds per spike (35% and 30%, respectively). GWM153 and GWM408 markers are suggested due to the high explanation coefficient (18-35%) and the most significant relationship with yield traits as the most suitable markers to improve most of the traits related to yield in rain-fed conditions.

Conclusion: In the supplementary irrigation environment, a total of 24 significant markers were identified with the studied traits; among them, the number of seeds per spike had the highest amount of changes explained (30%) by the associated marker. In the rain-fed environment, a total of 21 significant associations of markers with the studied traits were identified among them; the number of seeds per spike had the highest coefficient explained (35%) by the associated marker. In the supplementary irrigation environment, 17 SSR markers significantly related to the studied traits, five markers, and in the rain-fed environment, out of 13 markers related to traits in this environment four markers participated in more than one feature.

Keywords: Quantitative traits, association mapping, microsatellite markers.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 14/12/2021, **Revised:** 10/01/2022, **Accepted:** 18/01/2022, **Published online:** 26/03/2022

Cite this article: Ahmadi, S., Fayyaz, F., Mohammad Naji, A. & Aghaei Sarbarzeh, M. (2022). Association analysis of some morphological traits of durum wheat (*Triticum turgidum* var. Durum Desf) in rainfed and supplementary irrigation conditions using SSR molecular marker. Cereal Biotechnology and Biochemistry. 1 (1). 35-50. DOI: 10.22126/cbb.2022.1951

© The Author(s).

Publisher: Razi University

10.22126/cbb.2022.1951

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

تجزیه ارتباطی برخی صفات مورفولوژیک گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. durum Desf.) در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی با استفاده از نشانگر مولکولی SSR

سهیلا احمدی[۱]، فرزاد فیاض[۲]✉، میرمحمد ناجی[۳] و مصطفی آقایی سربرزه[۴]

[۱] دانشجوی دکتری ژنتیک و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران. رایانامه: soh.ahmadi1987@gmail.com

[۲]✉ استادیار، دانشکده کشاورزی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران. رایانامه: fayyaz.farzad@gmail.com

[۳] استادیارگروه اصلاح نباتات،دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران. رایانامه: amnaji1970@yahoo.com

[۴] استاد، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی،کرج، ایران.

چکیده

مقدمه: گندم دوروم یکی از مهمترین غلات زراعی جهان است. تنش‌های مختلف محیطی مانند تنش خشکی می‌تواند بر عملکرد آن تأثیر بگذارد. تنش خشکی از مهمترین و شایعترین علل افت عملکرد گندم در اغلب نقاط جهان است. بخش وسیعی از اراضی زیر کشت گندم ایران در مناطق دارای آب و هوای مدیترانه‌ای واقع شده است. در این مناطق بخش اصلی بارندگی در فصل زمستان و اوایل بهار است و از اواسط بهار همزمان با کاهش بارندگی و رطوبت محیط، دمای هوا نیز به شدت افزایش مییابد. تحمل به خشکی یک ویژگی کمی پیچیده است که توسط بسیاری از ژن ها کنترل می‌شود و یکی از صفات دشوار برای مطالعه و توصیف آن است. با این وجود، مطالعات موجود در مورد خشکی نشان داده است که مکانیسم مقاومت به خشکی گیاهان از نظر مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی است و برای مقابله با تنش خشکی نظیر غربالگری انبوه ، اصلاح، انتخاب مارکر، کاربرد هورمونهای برونزا استراتژی هایی ابداع شده است. بنابراین یافتن راهی برای رشد گیاهان با آب محدود در آن مناطقی که محروم از آب هستند ضروری است.

مواد و روش‌ها: این تحقیق با هدف شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات مورد بررسی با استفاده از نشانگر SSR در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی انجام شد. تعداد ۱۵۰ ژنوتیپ گندم دوروم شامل دو منبع ژرم پلاسم گندم دوروم ایکاردا و ژرم پلاسم گندم دوروم ایرانی در دو سال زراعی ۹۷- ۱۳۹۶ و ۹۸-۱۳۹۷ به صورت طرح حجیم شده (Augmented) با چهار شاهد در ۶ بلوک در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در دو سایت آبی و دیم کشت شد. صفات ارتفاع بوته، طول پدانکل، ضخامت ساقه اصلی، طول سنبله، تعداد گره ساقه اصلی، وزن سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله و وزن هزار دانه ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و اندازه گیری شد.

یافته‌ها: براساس نتایج بدست آمده نشانگر gwm513 در محیط آبیاری تکمیلی و نشانگر gwm448-1 در محیط دیم بیشترین همبستگی را با صفت تعداد دانه در سنبله داشتند (به ترتیب ۳۵ درصد و ۳۰ درصد). نشانگرهای gwm153 و gwm408 بدلیل ضریب تبیین بالا (۱۸-۳۵ درصد) و بیشترین رابطه معنی‌دار با صفات مربوط به عملکرد به عنوان مناسب‌ترین نشانگرها برای بهبود اغلب صفات مربوط به عملکرد در محیط دیم پیشنهاد می‌شوند. می‌توان از این نشانگرها که بیشترین رابطه با صفات برای آن معنی‌دار شدند، در جهت بهبود تعداد بیشتری از صفات بهره گرفت و به عنوان نشانگرهای مناسب جهت شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده تحمل به تنش خشکی و انتخاب به کمک نشانگر معرفی نمود.

نتیجه‌گیری: در محیط آبیاری تکمیلی در مجموع ۲۴ ارتباط معنی دار نشانگر با صفات مورد مطالعه شناسایی شد که در این میان صفت تعداد دانه در سنبله دارای بیشترین میزان تغییرات تبیین شده (۳۰ درصد) توسط نشانگر مرتبط بود. در محیط دیم در مجموع ۲۱ ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفات مورد مطالعه شناسایی شد که در این میان صفت تعداد دانه در سنبله دارای بیشترین میزان ضریب تبیین شده (۳۵ درصد) توسط نشانگر مرتبط بود. در محیط آبیاری تکمیلی از ۱۷ نشانگر SSR که به طور معنی‌داری با صفات مورد مطالعه مرتبط هستند، پنج نشانگر و در محیط دیم از ۱۳ نشانگر مرتبط با صفات در این محیط ۴ نشانگر در بیش از یک ویژگی مشارکت داشتند.

واژه‌های کلیدی: صفات کمی، نقشه‌یابی ارتباطی، نشانگر ریزماهواره

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۳ **اصلاح:** ۱۴۰۰/۱۰/۲۰ **پذیرش:** ۱۴۰۰/۱۰/۲۸، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۱/۰۱/۰۶

استناد: احمدی، س.، فیاض، ف.، ناجی، م. م. و آقایی سربرزه، م. (۱۴۰۱). تجزیه ارتباطی برخی صفات مورفولوژیک گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. durum Desf) در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی با استفاده از نشانگر مولکولی SSR. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۱ (۱). ۵۰-۳۴.

DOI: 10.22126/cbb.2022.1951

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

غلات مهم‌ترین تأمین کننده غذای بشر به شمار می‌روند. در بین غلات، گندم دروم (*Triticum turgidum* var. durum Desf) دومین گونه مهم جنس گندم در دنیا بوده و حدود هشت درصد تولید جهانی گندم را تشکیل می‌دهد (FAO, 2016). گندم دوروم در ۱۷ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی جهان کشت می‌شود و با تولید ۳۸/۱ میلیون تن در سال دهمین محصول مهم زراعی جهان است (Xynias *et al.*, 2020). این غله مهم از دیرباز در مناطق دیم گرمسیری و نیمه‌گرمسیری ایران به طور سنتی کشت می‌شده است و کشور ایران در حال حاضر با ۴۰۰-۳۰۰ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید حدود ۰/۶ میلیون تن در سال از تولیدکنندگان این محصول با ارزش است (Mohammadi *et al.*, 2016). تحمل بالا به شرایط نامساعد محیطی مانند خشکی، گرما و بیماری‌های مختلف سبب شده است گندم دوروم در گستره آب و هوایی وسیعی از مناطق گرم و خشک تا محیط‌های خنک و مرطوب رشد کند (Royo *et al.*, 2014). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل مهم محدود کننده عملکرد گیاهان زراعی است. تنش خشکی با کاهش درصد جوانه‌زنی بذر، سطح برگ و ارتفاع بوته، کاهش محتوای کلروفیل، فتوسنتز و تنفس باعث محدود کردن رشد گیاه و در نهایت کاهش عملکرد محصول می‌شود (Abobatta, 2019; Hussain *et al.*, 2019). درک پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در جهت تولید و اصلاح ارقام متحمل به تنش کاملا ضروری است. از آنجا که شرایط تنش‌زای محیطی سبب اختلال در فعالیت‌های گیاهی می‌شوند؛ لذا بررسی پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی به عنوان ابزاری برای مطالعه و شناخت مکانیسم‌های تحمل در گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد.استفاده از نشانگرهای مولکولی برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و نقشه‌یابی QTL های مؤثر در تحمل تنش خشکی می‌تواند در به‌نژادی تحمل تنش خشکی بکار گرفته شود (Cattivelli *et al.*, 2008; Mir *et al.*, 2012). به یکی از کاربردهای مهم نشانگرهای مولکولی، بهبود و افزایش کارایی روش‌های مرسوم به‌نژادی از طریق انتخاب غیرمستقیم توسط نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات است. به‌نژادگران به کمک نشانگرهای مولکولی می‌توانند از طریق شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به تنش و امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، ارقام متحمل به این تنش‌ها را ایجاد کنند (MirMohammadi Maibody and Golkar, 2012). نشانگرهای مولکولی در مورد صفات تک ژنی و هم در مورد مکان‌های کنترل کننده‌ی صفات کمی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اغلب صفات مهم زراعی مانند عملکرد یا تحمل به تنش خشکی توسط ژن‌های متعددی کنترل می‌شوند (Stich and Melchinger, 2010).

نقشه‌یابی پیوستگی[1] و نقشه‌یابی ارتباطی[2] روش‌هایی هستند که برای مکان‌یابی جایگاه‌های کنترل کننده‌ی صفات کمی بکار می‌روند. نقشه‌یابی ارتباطی روشی بر مبنای عدم تعادل لینکاژی (Linkage disequilibrium mapping) است که با بهره‌گیری از تنوع موجود در جمعیت‌های طبیعی، آلل‌های نشانگری که ارتباط آماری معنی‌داری با صفات کمی دارند را شناسایی می‌کند (Ataei *et al.*, 2017). این روش می‌تواند به شناسایی لوکوس‌های مرتبط با صفات زراعی و تحمل به تنش خشکی کمک کندو از نشانگرهای با ارتباط معنی‌دار در برنامه‌های به‌نژادی گندم دوروم کند.بهره گرفت تا کنون مطالعات مختلفی در رابطه با تجزیه ارتباطی نشانگرهای مرتبط با صفات کمی در گندم دوروم صورت گرفته است. بلانکو و همکاران (Blanco *et al.*, 2006) در بررسی نسل F2، F3 و F4 ژنوتیپ‌های گندم دوروم ارتباط معنی‌داری برای صفت محتوای دانه با سه نشانگر ریزماهواره (Xcfa2164 و Xgwm577) که بترتیب روی کروموزوم‌های AS 2 و BL 7 قرار دارند شناسایی کردند. مک‌کافری و همکاران (Maccaferri *et al.*, 2011) از نقشه‌یابی ارتباطی برای تشریح مبنای ژنتیکی صفات سازگار با خشکی و عملکرد دانه مجموعه‌ای از ۱۸۹ ژنوتیپ گندم دوروم که در ۱۵ محیط بسیار متفاوت از نظر دسترسی به آب مورد ارزیابی قرار گرفتند، استفاده کردند. آن‌ها گزارش کردند تعداد نشانگرهای مرتبط با عملکرد دانه در شرایط کم رطوبت به طور قابل توجهی کاهش یافت و دلیل احتمالی را ایجاد فنوتیپ‌های مشابه از طریق صفات مورفوفیزیولوژیکی مختلف و شبکه‌های ژنی زیاد توسط ژنوتیپ‌های مختلف بیان کردند. گل‌آبادی و همکاران (Golabadi *et al.*, 2012) در تجزیه ارتباطی ژنوتیپ‌های گندم دوروم با استفاده از نشانگر ریزماهواره (SSR)، دو نشانگر Xgwm148-2B و Xwmc405-7A بیشترین ارتباط را با صفت روز تا تشکیل سنبله در هر دو شرایط تنش و بدون تنش نشان داد.

این تحقیق با هدف شناسایی نشانگرهای مولکولی آگاهی‌بخش پیوسته با برخی صفات زراعی گندم دوروم با استفاده از نشانگر SSR در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تحمل به خشکی ۱۵۰ ژنوتیپ گندم دوروم شامل دو منبع ژرم پلاسم گندم دوروم ایکاردا و ژرم پلاسم گندم دوروم ایرانی که از مرکز تحقیقات نهال و بذر کرج تهیه شد با ۴ شاهد در ۶ بلوک، در سال زراعی ۹۷- ۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در دو شرایط دیم و آبیاری تکمیلی کشت شد. نمودار دما و بارندگی محل آزمایش در شکل ۱ ارائه شده است. هر ژنوتیپ در دو خط دو متری با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر و تراکم ۴۰۰ بوته در متر مربع کشت

[1] Linkage mapping
[2] Association mapping

شد. پس از رسیدگی فیزیولوژیک دو خط (یک متر مربع) مربوط به هر ژنوتیپ برداشت و عملکرد دانه و شاخص برداشت اندازه‌گیری شدند.

به منظور جلوگیری از وقوع تنش رطوبتی انتهای فصل و انجام آزمایش شرایط آبی، مزرعه پس از مرحله گلدهی، سه بار (هر دو هفته یکبار به مدت دو ساعت) آبیاری شد. برای برآورد صفات ارتفاع بوته (cm)، ارتفاع پدانکل (cm)، تعداد دانه در سنبله، تعداد گره ساقه اصلی، ضخامت ساقه اصلی (mm)، طول سنبله (cm)، وزن دانه در سنبله (g) و وزن سنبله (g) پس از رسیدگی بوته‌ها، ۱۰ بوته از هر کرت به صورت تصادفی انتخاب و میانگین صفات اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن هزاردانه (g) نیز دو نمونه ۵۰۰ عددی از بذر هر ژنوتیپ در هر تکرار شمارش و توزین شد. به منظور ارزیابی‌های مولکولی، برگ‌های هر ژنوتیپ در مرحله دو برگی جمع‌آوری و بلافاصله در ازت مایع منجمد و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. استخراج DNA به روش CTAB انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده بترتیب با ژل آگارز ۰/۸ درصد و دستگاه نانودراپ بررسی شد. تعداد ۶۱ جفت آغازگر SSR به منظور بررسی پیوستگی با صفات انتخاب شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر DNA ژنومی (با غلظت ۳۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۷/۵ میکرولیتر مسترمیکس شرکت سیناژن، دو میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پسرو و پیشرو (با غلظت ۱۰۰ پیکومول بر میکرولیتر) و ۳/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. نام و توالی آغازگرهای مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۵ چرخه دمایی شامل مرحله واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگر در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌های تکثیر شده روی ژل آگارز ۳ درصد به مدت دو ساعت تفکیک شدند. برای تعیین اندازه قطعات از DNA Ladder با اندازه ۵۰ جفت باز استفاده شد. پس از الکتروفورز رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید انجام و تصویر ژل زیر نور UV در دستگاه ژل‌داک شرکت Bio Rad اسکن شد. به منظور تعیین ساختار جمعیت از نرم‌افزار STRUCTURE ver 2.3 با ۱۰۰۰۰۰ هزار بار اجرا در زمان (Burn in time) و ۱۰۰۰۰۰ هزار جایگشت (Permutation) استفاده شد. تعداد زیر جمعیت از ۱ تا ۱۰ و ۵ دور تکرار در هز زیر گروه (Iteration) انتخاب شد. پس از انتخاب جمعیت نمونه ماتریس ساختار جمعیت (ماتریس Q)، ماتریس داده‌های مولکولی و ماتریس داده‌های فنوتیپی (صفات مورد بررسی) به نرم Tassel ver 2.1 منتقل شدند. انجام نقشه‌یابی، محاسبه تأثیر هر آلل، محاسبه و ترسیم عدم تعادل لینکاژی

بین نشانگرها و تجزیه و تحلیل ارتباط بین صفت و نشانگر با استفاده از مدل رگرسیون خطی مرکب[3] (MLM) با استفاده از این نرم افزار انجام شد.

نتایج و بحث

تعداد زیرجمعیت‌های مناسب با استفاده از روش حداکثر درستنمایی *Ln*P(D) و روش دلتا K (ΔK) مشخص شد. در روش حداکثر درستنمایی وقتی K انتخاب شده صحیح باشد نرخ افزایش نمودار *Ln*P(D) و واریانس آن در حداکثر میزان است (Rosenberg *et al.*, 2001). در روش دلتا K، حداکثر میزان ΔK نمایانگر تعداد زیرجمعیت K بهینه است (Evanno *et al.*, 2005). بر اساس هر دو روش تعداد جمعیت بهینه (K) عدد نه بدست آمد (جدول ۲ و شکل ۲). بر اساس شکل ۲ که احتمال عضویت هر فرد در هرگروه را گزارش می‌کند، سهم زیر جمعیت اول ۰/۰۷۲، زیر جمعیت دوم ۰/۰۸۵، زیر جمعیت سوم ۰/۱۲۶، زیر جمعیت چهارم ۰/۱۵۸، زیر جمعیت پنجم ۰/۱۴۱، زیر جمعیت ششم ۰/۰۷، زیر جمعیت هفتم ۰/۰۹۹، زیر جمعیت هشتم ۰/۱۵۳ و زیر جمعیت نهم ۰/۰۹۵ ازکل بود. شاخص تثبیت Fst که نشان دهنده تمایز بین زیر جمعیت‌ها و جمعیت پایه یا به عبارت دیگر تثبیت آلل‌های متفاوت در جمعیت‌های مختلف است، بین ۹ زیر جمعیت به ترتیب ۰/۴۹، ۰/۳۶ ، ۰/۳۱، ۰/۲۶، ۰/۲۵، ۰/۳۳، ۰/۳۸، ۰/۳۰ و ۰/۳۷ بود که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بالای این زیر جمعیت‌ها و جمعیت پایه است.

برای بررسی ارتباط بین صفات و نشانگرها ماتریس عضویت افراد در زیر جوامع (Q)، ماتریس خویشاوندی افراد (K) که نشان‌دهنده شباهت بین ژنوتیپ‌ها در هر زیرجمعیت است، به همراه ماتریس داده‌های فنوتیپی و اطلاعات نشانگرها در یک مدل رگرسیونی چندگانه که همبستگی نشانگرها وصفات مورد مطالعه را محاسبه می‌کند، با روش MLM برای دو محیط آبیاری تکمیلی و دیم بررسی شد. مقادیر کمینه، بیشینه و میانگین صفات جمعیت مورد بررسی و چهار شاهد در جدول ۳ و ۴ نشان داده شده است. مبنای انتخاب نشانگر همبسته وجود میزان P value=۰/۰۵ قرار داده شد. توزیع نشانگرها به وسیله میزان ضریب تبیین (R^2) نشانگر در مدل رگرسیونی نیز بررسی شد. میزان R^2 وابسته به نوع صفت متغیر بود. دامنه تغییرات R^2 نشانگرها و با در نظر گرفتن سطح معنی داری پنج درصد (P value< ۰/۰۵) در محیط آبیاری تکمیلی حدود ۰/۳۰۲ - ۰/۰۷۸ (میانگین= ۰/۱۴۹) و در محیط دیم ۰/۳۵-۰/۰۷۱ (میانگین= ۰/۱۶۷) بود. R^2 مدل نشان دهنده توجیه خوب مدل رگرسیونی در این مطالعه است. در محیط آبیاری تکمیلی در مجموع ۲۴ ارتباط معنی دار نشانگر با صفات مورد مطالعه شناسایی شد که در این میان صفت تعداد دانه در سنبله دارای بیشترین میزان تغییرات تبیین شده (۳۰ درصد) توسط نشانگر مرتبط بود. نتایج برای محیط آبیاری تکمیلی نشان داد ژنوتیپ‌ها

[3] Mixed Linear Model (MLM)

از نظر نشانگرهای wmc382-2A-1، wmc382-2A-2، gwm617-5A، barc 49، gwm 595 و gwm372 با صفت ارتفاع بوته ارتباط معنی‌داری دارند (جدول ۵). بین ارتفاع پدانکل با نشانگرهای wmc382-2A-2، barc 49، gwm149 و gwm372 نیز ارتباط معنی‌داری وجود داشت. به همین ترتیب چهار نشانگر wmc382-2B، gwm427-1، gwm513 و gwm547 با ضخامت ساقه اصلی، دو نشانگر wmc74-1A و gwm 107 با طول سنبله و چهار نشانگر gwm617-5A، wmc74-1A، gwm427-2 و gwm319 با وزن هزار دانه ارتباط معنی‌داری نشان دادند. نشانگر gwm448-1 با تعداد دانه در سنبله و نشانگر gwm68 با تعداد گره در ساقه اصلی ارتباط معنی‌داری داشتند. همچنین نشانگر gwm372 با صفات وزن سنبله و وزن دانه در سنبله ارتباط معنی‌داری داشت.

در محیط دیم در مجموع ۲۱ ارتباط معنی‌دار نشانگر با صفات مورد مطالعه شناسایی شد (جدول ۶) که در این میان صفت تعداد دانه در سنبله دارای بیشترین میزان ضریب تبیین شده (۳۵ درصد) توسط نشانگر مرتبط بود.

از آنجا که صفات زراعی با هم ارتباط دارند، تجزیه و تحلیل ارتباط صفات نیز برای شناسایی نشانگرهای هم‌مکان انجام شد. در محیط آبیاری تکمیلی از ۱۷ نشانگر SSR که به طور معنی‌داری با صفات مورد مطالعه مرتبط هستند، پنج نشانگر و در محیط دیم از ۱۳ نشانگر مرتبط با صفات در این محیط ۴ نشانگر در بیش از یک ویژگی مشارکت داشتند. در مطالعه بوسبا و همکاران (Bousba *et al.*, 2013) که بر روی ۴۰ ژنوتیپ گندم دوروم انجام گردیده بود از ۱۴ نشانگر SSR مرتبط با صفات موفولوژیک و عملکرد ۵۰ درصد با بیش از یک صفت ارتباط معنی‌دار داشتند. در محیط آبیاری تکمیلی، نشانگر gwm372 با صفات ارتفاع بوته، ارتفاع پدانکل، وزن دانه در سنبله و وزن سنبله ارتباط معنی‌دار مشترکی را دارد. نشانگر wmc382-2A-2 و barc 49 با صفات ارتفاع بوته و ارتفاع پدانکل، نشانگر gwm617-5A با صفات ارتفاع بوته و وزن هزار دانه و نشانگر wmc74-1A باصفات وزن هزار دانه و طول سنبله به طور مشترک ارتباط داشتند. در محیط دیم، نشانگر gwm153 با صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در سنبله، وزن دانه در سنبله، وزن سنبله، وزن هزار دانه، نشانگر gwm408 با صفات ارتفاع بوته، وزن دانه در سنبله و وزن سنبله، نشانگر gwm46 با صفات وزن دانه در سنبله و طول سنبله، نشانگر barc 49 با صفات ارتفاع بوته و ارتفاع پدانکل ارتباط معنی دار مشترکی را دارند. نشانگر barc 49 در دو محیط آبی و دیم به طور مشترک با صفت ارتفاع بوته و ارتفاع پدانکل ارتباط معنی دار نشان داد بنابراین می‌توان استنتاج نمود که احتمالا بخشی از ژن‌های کنترل کننده این صفت در مجاور این نشانگرها قرار دارند و برای بهبود صفات مربوطه می‌توان از این نشانگرها به منظور انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد. نشانگر gwm372 در محیط آبیاری تکمیلی و نشانگرهای gwm153 و gwm408 بترتیب مناسب ترین نشانگرها برای

بهبود اغلب صفات در محیط آبیاری تکمیلی و محیط دیم بودند. زیرا بیشترین صفات با این نشانگرها ارتباط معنی‌دار نشان دادند و ضریب تبیین آنها بین ۳۵-۱۸ درصد بود. می‌توان از این نشانگرها که بیشترین رابطه با صفات برای آن معنی‌دار شدند، در جهت بهبود تعداد بیشتری از صفات بهره گرفت و به عنوان نشانگرهای مناسب جهت شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده تحمل به تنش خشکی و انتخاب به کمک نشانگر معرفی نمود. نشانگر gwm513 در محیط آبی و نشانگر gwm448-1 در محیط دیم بیشترین همبستگی از بین نشانگرها با صفت تعداد دانه در سنبله نشان دادند (به ترتیب ۳۵٪ و ۳۰٪). صفات کمی توسط تعداد زیادی ژن با تأثیرپذیری زیاد از محیط کنترل می‌شوند لذا پیشنهاد می‌شود از نشانگرهای مولکولی بیشتر و ژنوتیپ‌ها و منابع ژنتیکی جدید، استفاده شود وجهت افزایش دقت در مکان‌یابی ارتباطی آزمایش در چند سال و چند مکان انجام شود. شناسایی نشانگرهای عملگرا و بررسی پایه ژنتیکی عملکردی آن‌ها نیز می‌تواند به تسریع برنامه‌های به‌نژادی گندم دوروم کمک کند.

جدول ۱- نشانگرهای SSR با ارتباط معنی‌دار با صفات زراعی در گندم دوروم

Table 1- SSR markers with significant relationship with agronomic traits in durum wheat

نشانگر	پیشرو ('3→ '5)	پسرو ('3→ '5)
barc 49	GTCCCACCAAATTAACAGCTCCTA	AGGCGCAGTGCTCGAAGAATATTAT
gwm 107	ATTAATACCTGAGGGAGGTGC	GGTCTCAGGAGCAAGAACAC
gwm 410	GCTTGAGACCGGCACAGT	CGAGACCTTGAGGGTCTAGA
gwm 595	GCATAGCATCGCATATGCAT	GCCACGCTTGGACAAGATAT
gwm11	GGATAGTCAGACAATTCTTGTG	GTGAATTGTGTCTTGTATGCTTCC
gwm149	CATTGTTTTCTGCCTCTAGCC	CTAGCATCGAACCTGAACAAG
gwm153	GATCTCGTCACCCGGAATTC	TGGTAGAGAAGGACGGAGAG
gwm319	GGTTGCTGTACAAGTGTTCACG	CGGGTGCTGTGTGTAATGAC
gwm372	AATAGAGCCCTGGGACTGGG	GAAGGACGACATTCCACCTG
gwm388-2B-1	CTACAATTCGAAGGAGAGGGG	CACCGCGTCAACTACTTAAGC
gwm408	TCGATTTATTTGGGCCACTG	GTATAATTCGTTCACAGCACGC
gwm427	AAACTTAGAACTGTAATTTCAGA	AGTGTGTTCATTTGACAGTT
gwm448	AAACCATATTGGGAGGAAAGG	CACATGGCATCACATTTGTG
gwm46	GCACGTGAATGGATTGGAC	TGACCCAATAGTGGTGGTCA
gwm513	ATCCGTAGCACCTACTGGTCA	GGTCTGTTCATGCCACATTG
gwm547	GTTGTCCCTATGAGAAGGAACG	TTCTGCTGCTGTTTTCATTTAC
gwm617-5A	GATCTTGGCGCTGAGAGAGA	CTCCGATGGATTACTCGCAC
gwm617-6A	GATCTTGGCGCTGAGAGAGA	CTCCGATGGATTACTCGCAC
gwm68	AGGCCAGAATCTGGGAATG	CTCCCTAGATGGGAGAAGGG
wmc382-2A	CATGAATGGAGGCACTGAAACA	CCTTCCGGTCGACGCAAC
wmc382-2B	CATGAATGGAGGCACTGAAACA	CCTTCCGGTCGACGCAAC
wmc74-1A	AAAACAACAGGTTTCTCATCGC	GGTTAATCCTAAGGCATCTCTCC

جدول ۲- نتایج روش اوانو در انتخاب K بهینه با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE

Table 2- Results of the Evano method in optimal K selection using STRUCTURE software

Delta K	|Ln''(K)|	Ln'(K)	Stdev LnP(K)	Mean LnP(K)	Reps	K
—	—	—	170.392	-16986	5	2
4.493	174.6	900.78	38.858	16085.22-	5	3
1.931	342.68	726.18	177.40	-15359.04	5	4
0.035	19.86	383.5	557.053	-14975.54	5	5
0.477	375.24	363.64	785.576	-14611.9	5	6
1.521	249.3	738.88	163.856	-13873.02	5	7
1.571	257.76	489.58	164.039	-13383.44	5	8
8.351	3414.14	231.82	408.834	-13151.62	5	9
1.161	6986.5	-3182.32	6013.519	-16333.94	5	10
—	—	3804.18	186.055	-12529.76	5	11

جدول ۳- مقادیر بیشینه، کمینه و میانگین صفات زراعی جمعیت و ژنوتیپ‌های شاهد در شرایط آبیاری تکمیلی در گندم دوروم

Table 3- Maximum, minimum and average agronomic traits of population and control genotypes in supplementary irrigation conditions in durum wheat

صفات	بیشینه جمعیت	کمینه جمعیت	میانگین جمعیت	شاهدها			
				C1 (دنا)	C2 (زردک)	C3 (ساجی)	C4 (گندم هگزا)
ارتفاع بوته (cm)	76.40	38.88	55.73	47.64	57.10	46.44	59.67
ارتفاع پدانکل (cm)	48.50	20.77	37.19	29.45	37.70	30.14	37.94
ضخامت ساقه اصلی (mm)	33.65	2.41	7.08	4.45	5.19	4.68	5.04
طول سنبله (cm)	7.98	3.49	5.05	4.28	4.05	3.89	4.61
تعداد گره ساقه اصلی	3.28	1.04	1.85	2.50	2.10	2.41	2.44
وزن سنبله (g)	2.65	0.73	1.60	1.53	1.26	1.14	1.06
تعداد دانه در سنبله	41.32	15.37	29.89	31.99	23.78	22.53	18.55
وزن دانه در سنبله (g)	19.45	5.35	11.67	11.56	9.51	8.47	7.62
وزن هزاردانه (g)	48.58	17.12	37.99	36.69	41.23	38.51	39.91

جدول ۴- مقادیر بیشینه، کمینه و میانگین صفات صفات زراعی جمعیت و ژنوتیپ‌های شاهد در شرایط دیم در گندم دوروم

Table 4- Maximum, minimum and average agronomic traits of population and control genotypes in rainfed conditions in durum wheat

صفات	بیشینه جمعیت	کمینه جمعیت	میانگین جمعیت	شاهدها			
				c1	c2	c3	c4
ارتفاع بوته (cm)	75.19	32.39	50.57	51.51	50.26	50.79	52.07
ارتفاع پدانکل (cm)	42.53	9.20	26.69	23.54	24.85	22.87	20.59
ضخامت ساقه اصلی (mm)	10.79	3.38	6.50	4.75	4.03	4.95	4.14
طول سنبله (cm)	10.39	3.33	5.31	5.09	4.75	5.14	5.15
تعداد گره ساقه اصلی	4.75	1.14	2.70	3.59	3.48	3.51	3.30
وزن سنبله (g)	2.11	0.19	1.13	0.94	0.67	1.14	0.74
تعداد دانه در سنبله	76.49	8.92	22.59	21.74	29.52	23.09	14.42
وزن دانه در سنبله (g)	19.88	3.06	7.66	6.64	4.44	5.69	5.19
وزن هزاردانه (g)	43.24	15.76	31.80	29.33	25.97	24.74	31.10

جدول ۵- نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی در شرایط آبیاری تکمیلی در گندم دوروم

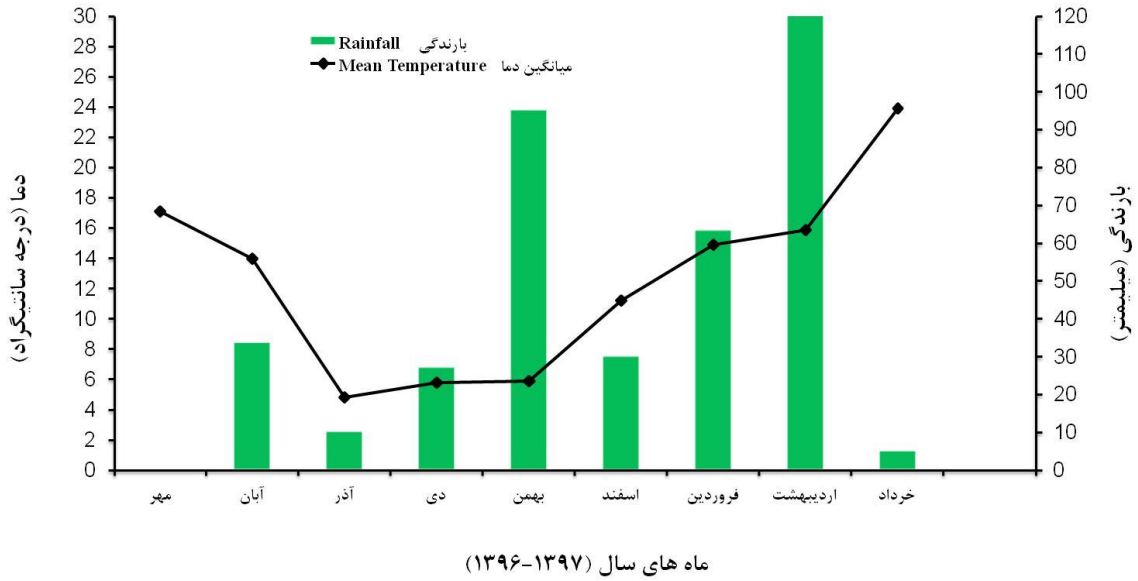
Table1 5- Markers associated with agronomic traits in supplementary irrigation conditions in durum wheat

صفت	نشانگر	p_value	ضریب تبیین (R2)	کروموزوم
ارتفاع بوته (cm)	barc 49	0.011	0.143	7A
	gwm 595	0.038	0.105	7A
	gwm372	0.003	0.099	7A
	gwm617-5A	0.034	0.155	7A
	wmc382-2A-1	0.035	0.280	4B
	wmc382-2A-2	0.020	0.118	2B
ارتفاع پدانکل (cm)	barc 49	0.002	0.172	5A
	gwm149	0.033	0.089	5A
	gwm372	0.003	0.101	1B
	wmc382-2A-2	0.027	0.114	1B
تعداد دانه در سنبله	gwm448-1	0.005	0.302	1B
تعداد گره ساقه اصلی	gwm68	0.049	0.114	4B
ضخامت ساقه اصلی (mm)	gwm427-1	0.005	0.220	1B
	gwm513	0.797	0.291	1B
	gwm547	0.035	0.096	1B
	wmc382-2B	0.018	0.166	1B
طول سنبله (cm)	gwm 107	0.020	0.080	2B
	wmc74-1A	0.021	0.142	2A
وزن دانه در سنبله (g)	gwm372	0.001	0.096	2A
وزن سنبله (g)	gwm372	0.009	0.078	2A
وزن هزاردانه (g)	gwm319	0.028	0.188	2A
	gwm427-2	0.018	0.141	2B
	gwm617-5A	0.045	0.171	5B
	wmc74-1A	0.005	0.126	5B

جدول ۶- نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی در شرایط دیم در گندم دوروم

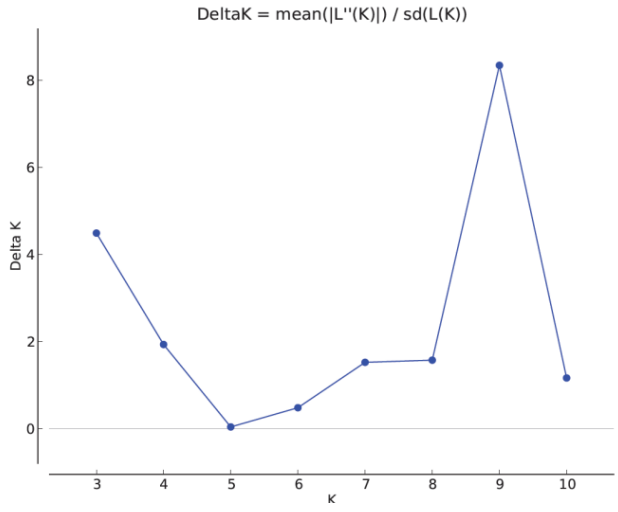
Table 6- Markers related to agronomic *traits* in rainfed conditions in durum wheat

صفت	نشانگر	p_value	ضریب تبیین (R2)	کروموزوم
ارتفاع بوته (cm)	barc 49	0.034	0.110	5B
	gwm153	0.025	0.213	5B
	gwm408	0.037	0.192	6A
ارتفاع پدانکل (cm)	barc 49	0.034	0.106	6A
	gwm547	0.039	0.080	2A
تعداد دانه در سنبله	gwm153	0.000	0.350	2A
تعداد گره ساقه اصلی	gwm388-2B-1	0.025	0.071	2A
ضخامت ساقه اصلی (mm)	gwm448-2	0.001	0.294	4B
	gwm617-6A	0.018	0.105	4B
	gwm68	0.013	0.135	3B
طول سنبله (cm)	gwm46	0.000	0.143	3B
	gwm513	0.023	0.092	3B
	wmc382-2A-2	0.000	0.121	5A
وزن دانه در سنبله (g)	gwm 410-1	0.042	0.088	5B
	gwm153	0.014	0.202	2A
	gwm408	0.000	0.323	2A
	gwm46	0.004	0.138	2A
وزن سنبله (g)	gwm11	0.009	0.147	2A
	gwm153	0.031	0.185	2B
	gwm408	0.001	0.224	1A
وزن هزاردانه (g)	gwm153	0.035	0.208	1A



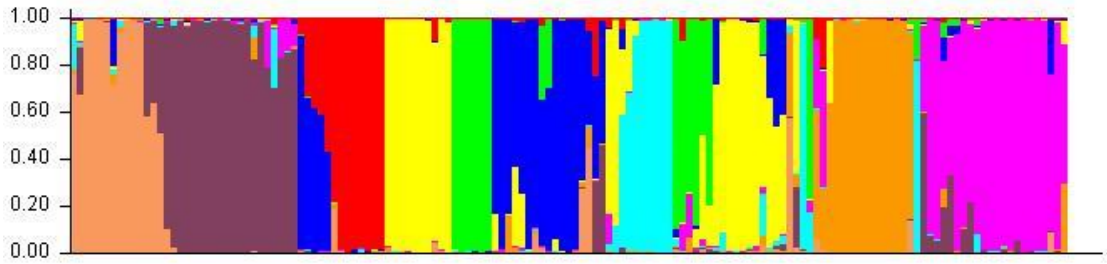
شکل ۱- نمودار دما و بارندگی محل آزمایش در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶

Figure 1- Temperature and rainfall diagram in the crop season 2017-2018



شکل۲- برآورد تعداد جمعیت برای بازه ۲ تا ۱۰ زیر جمعیت (k) با مقادیر میانگین LnP(K) و Delta K

Figure 2- Estimation of population number for the range of 2 to 10 sub-population (K) with mean values of LNP (K) and Delta K



شکل۳ - بررسی عضویت افراد در K = ۹ به وسیله نرم‌افزار Structure. هر رنگ یک زیر جمعیت را نشان می دهد و محور عمودی ضریب تعلق هر فرد به هر زیر جمعیت را نشان می دهد.

Figure 3 - Membership of individuals at 9 = K by Structure software. Each color shows a sub-population and shows the vertical axis of each person's belonging to each sub-population

References

Abobatta, W.F. 2019. Drought adaptive mechanisms of plants – a review. Advances in Agriculture and Environmental Science. 2(1): 62−65.

Ataei, R., Gholamhoseini, M and Mohammadi, V. 2017. Association mapping in plants. Cropbiotechnology.nology 18: 25-37.

Blanco, A., Simeone, R and Gadaleta, A. 2006. Detection of QTLs for grain protein content in durum wheat. Theoretical and Applied Genetics. 112: 1195–1204.Bousba, R., Baum, M., jighly, A., Djekoune, A., Lababidi, S., Benbelkacem, A., labhilili, M., Gaboun, F. and Ykhlef, N. 2013. Association analysis of genotypic and phenotypic traits using SSR marker in durum wheat.Online International Interdisciplinary Research Journal. 3(4): 60-79.

Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A.M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A and Stanca, A.M. 2008. Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. Field Crops Research, 105:1–14.

Evanno, G., Regnaut, S and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology. 14: 2611–2620.

Golabadi, M., Arzani, A and Mirmohammadi Maibody, S.A.M. 2012. Mapping of loci controlling phenological traits in durum wheat under drought stress and non-stress conditions using SSR markers. Iranian Journal of Crop Sciences. 13(4): 712-729. [In Persian].

Hussain, S., Hussain, S., Qadir, T., Khaliq, A., Ashraf, U., Parveen, A., Saqib, M and Rafiq, M. 2019. Drought stress in plants: An overview on implications, tolerance mechanisms and agronomic mitigation strategies. Plant Science Today. 6(4):389-402.

Maccaferri, M., Sanguineti, M.C., Demontis, A., El-Ahmed, A., del Moral, L.G., Maalouf, F., Nachit, M., Nserallah, N., Ouabbou, H., Rhouma, S., Royo, C., Villegas, D and Tuberosa, R. 2011. Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. Journal of Experimental Botany. 62(2): 409–438.

Mir, R.R., Zaman-Allah, M., Sreenivasulu, N., Trethowan, R and Varshney, R.K. 2012. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. Theoretical and Applied Genetics, 125: 625–645.

MirMohammadi Maibody, S.A.M and Golkar, P. 2019. Application of DNA Molecular Markers in Plant Breeding (Review Article). Plant Genetic Researches. 6(1): 1-29. [In Persian].

Mohammadi, R., Armion, M., Sadeghzadeh, B., Golkari, S., Khalilzadeh, G.H., Ahmadi, H., Abedi-Asl, G.H and Eskandari, M. 2016. Assessment of grain yield sability and adaptability of ranfed durum wheat breeding lines. Applied Field Crops Research. 29(4): 5-42. (in Persian)

Rosenberg, N.A., Burke, T., Elo K., Feldman, M.W., Freidlin, P.L., Groenen, M.A.M., Hillel, J., Mäki Tanila, A., Michèle T. B., Vignal, A., Wimmers, K and Weigend, S. 2001. Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. Genetics. 159: 699–713.

Royo, C., Nazco, R and Villegas, D. 2014. The climate of the zone of origin of mediterranean durum wheat 15 (Triticum Durum Desf.) landraces affects their agronomic performance. Genetic Resources and Crop Evolution, 61 (7): 1345-1358.

Stich, B and Melchinger, A. E. 2010. An introduction to association mapping inplants. CAB Reviews, 5: 1-9.

Xynias, I.N., Mylonas, I., Korpetis, E.G., Ninou,E., Tsaballa, A., Avdikos, I.D and Mavromatis, A.G. 2020. Durum wheat breeding in the mediterranean region: current status and future prospects. Agronomy. 10(432): 1-27.