

## شناسایی نشانگرهای SNP آگاهی بخش مرتبط با صفات و شاخص های رشد ریشه، کارایی مصرف آب و کارایی تعرق در گندم دوروم با استفاده از تحلیل ارتباط در گستره ژنوم (GWAS)

### Identification of informative SNP markers associated to root traits and indices, water use efficiency and transpiration efficiency in durum wheat using GWAS

سید محمد تراب میری<sup>۱</sup>، علی اشرف مهربانی<sup>۱\*</sup>

۱- به ترتیب دانش آموخته دوره دکتری، دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

Miri SMT<sup>1</sup>, Mehrabi AA<sup>\*1</sup>

1- Graduated PhD, Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of  
Agriculture, Ilam University

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a.mehrabi@ilam.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۸/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۵)

#### چکیده

با هدف بررسی کنترل ژنتیکی صفات و شاخص های رشد ریشه و همچنین ارزیابی کارایی مصرف آب و کارایی تعرق گیاه در ژرم پلاسما گندم دوروم، از تحلیل ارتباط در گستره ژنوم استفاده شد. تعداد ۳۳۲۱ نشانگر SNP پلی مورف تثبیت شده در گندم دوروم (با حداقل ۵ درصد آلل مینور) با استفاده از مدل آماری خطی آمیخته (MLM) روی صفات ارزیابی شده در یک جمعیت ساختارمند متشکل از سه زیر جمعیت (۱۲ ژنوتیپ) برای تحلیل ارتباط استفاده شد. مشخص شد که طول ریشه های بذری با نشانگرهایی روی کروموزوم های ۲A و ۱B ارتباط داشت در حالی که طول ریشه های گسترش یافته تحت کنترل قسمت هایی از کروموزوم های ۱A و ۱B بود. وزن ریشه نیز با نشانگرهایی روی کروموزوم های ۲B و ۵B ارتباط معنی دار داشت. حجم ریشه با نشانگری روی کروموزوم ۷B مرتبط بود. به همین ترتیب، برای سطح ریشه و قطر ریشه نیز نشانگرهای پیوسته ای که بخش عمده ای از تغییرات این صفات را کنترل می کردند شناسایی شد. تعداد ۲۰ نشانگر آگاهی بخش برای صفت کارایی مصرف آب شناسایی شد. از این نشانگرها ۱۱ مورد روی ژنوم A (کروموزوم های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۶) و نه مورد نیز روی ژنوم B گندم دوروم قرار داشت (کروموزوم های ۲، ۳ و ۴). کارایی تعرق در گندم دوروم نیز کنترل ژنتیکی داشت و کروموزوم های ۲A، ۳A و ۶A از ژنوم A و کروموزوم های ۲B و ۳B نیز از ژنوم B در کنترل این صفت مشارکت داشتند. در چنین مواردی که تعداد اندکی نشانگر بخش عمده ای از تغییرات یک صفت را کنترل می کنند، می توان با گزینش ژنومی در جمعیت های اصلاحی در حال تفرق در حداقل زمان به ژنوتیپ های ایده آل رسید.

#### واژه های کلیدی

تحلیل ارتباط

ژرم پلاسما

گزینش ژنومی

نشانگرهای آگاهی بخش

## مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. durum Desf.) تنها گونه گندم تتراپلوئید است که به صورت زراعی کشت می شود. ساختار ژنومی این گونه گندم، آلوتتراپلوئید ( $2n=6x=28$ ,  $A^U A^U BB$ ) است که از اهلی شدن گونه وحشی *T. dicoccoides* حاصل شده است. ژنوم A آن از *T. urartu* و ژنوم B آن نیز از گندم نیای وحشی *Aegilops speltoides* منشاء گرفته است (Peterson et al. 2006; Kilian et al. 2007). گندم دوروم به عنوان منبع اصلی آرد سمولینا است که فراورده نهایی آن ماکارونی، پاستا، بلغور، باگل و سایر محصولات محلی مدیترانه ای است (Xu et al. 2015). گندم دوروم از لحاظ بوم شناختی به مناطق گرم و خشک سازگار می باشد و در اراضی کم بازده که دارای تنش های محیطی هستند عملکرد بیش تری نسبت به گندم معمولی تولید می کند. سطح زیر کشت گندم دوروم ۱۷ میلیون هکتار برآورد شده است که عمدتاً در آمریکا، کانادا، مکزیک، ایتالیا، الجزیره، مراکش، ترکیه، هندوستان و مناطق محدودی در ایران، پاکستان، سوریه و روسیه است (De vita et al. 2007). کمبود آب برای تولید محصولات کشاورزی روز به روز در حال افزایش است و هرگونه صرفه جویی در این بخش کمکی به صرفه جویی در منابع آب تلقی می شود. با توجه به اینکه کم آبیاری در ایران جزء لاینفک مدیریت مزرعه می باشد، ضرورت دارد تمام عوامل تأثیر گذار در شرایط کم آبیاری دقیق شناخته شوند. یکی از تأثیرگذارترین شاخص های گیاهی که رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد سیستم توسعه ریشه می باشد. استفاده از ارقامی که آب قابل دسترس را با کارایی بیشتر مصرف کرده و متحمل خشکی باشند، یک روش اساسی برای افزایش تولید در محیط های مستعد خشکی است (Sharif-Al-Hosseini et al. 2012).

بنابراین استفاده از واریته هایی که آب قابل دسترس را با کارایی بیش تر مصرف کرده و قادر به تحمل خشکی باشند یک هدف عمده برای افزایش تولید در محیط های مستعد خشکی است. از میان انواع گونه های جنس تربیتی کوم، گندم دوروم به مناطق کم باران دارای تنش خشکی و تغییرات شرایط آب و هوایی، بهتر از ارقام گندم نان سازگاری دارد و در شرایط مطلوب و فاریاب،

محصول آن با گندم نان قابل رقابت است (Fayaz and Arzani, 2011).

تجزیه و تحلیل ژنتیکی معماری سیستم ریشه و شناسایی جایگاه های صفات کمی (QTL) صفات ریشه گندم نان و دوروم نقشه برداری شده اند (Kara et al. 2000; Liu et al. 2013; Ren et al. 2012; Maccaferri et al. 2016). این مطالعات نشان داده اند که صفات ریشه کنترل ژنتیکی نسبتاً پیچیده ای دارند و تحت اثرات قوی محیطی هستند. صفات ریشه توسط مجموعه ای از ژن های کوچک اثر کنترل می شود که حداکثر تا ۳۰ درصد تنوع فنوتیپی برنج (Price et al. 2002; Giuliani et al. 2005) و تا ۵۰ درصد تنوع فنوتیپی در گندم (Ren et al. 2012) را توصیف کنند. در این تحقیق، هدف بررسی صفات و شاخص های رشد ریشه و همچنین بررسی کارایی مصرف آب و کارایی تعرق در ارقام محلی دارای زمینه ژنتیکی و منشاء جغرافیایی گوناگون و استفاده از روشی تحلیل ارتباطی در گستره ژنوم (GWAS) برای شناسایی نشانگرهای اسنپ (SNP) آگاهی بخش مرتبط با این صفات است.

## مواد و روش ها

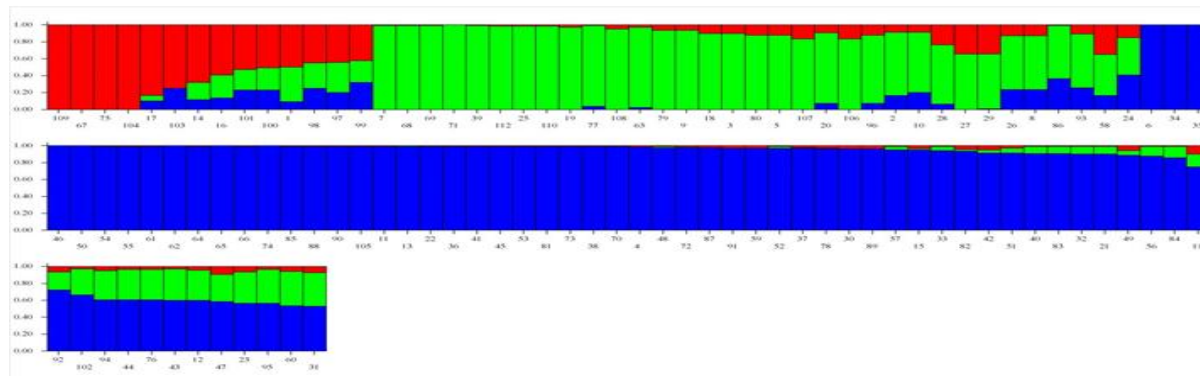
مواد گیاهی مورد ارزیابی در این آزمایش شامل ۱۱۲ ژنوتیپ گندم دوروم بود که محل جمع آوری هر یک از آنها در جدول ۱ درج شده است. ارزیابی ریشه های بذری (Seminal roots) روی گیاهچه های ده روزه در چهار تکرار و به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ارزیابی ریشه های گسترش یافته گیاهان ۵ هفته ای نیز در لوله هایی به طول ۶۰ و قطر ۱۰ سانتی متر در قالب طرح بلوک های کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو گیاهچه در هر واحد آزمایشی انجام شد. برای ارزیابی کارایی مصرف آب، کارایی تعرق و همچنین ارزیابی ریشه در مرحله گیاه کامل نیز از لوله هایی به طول ۱۰۰ و قطر ۱۴ سانتی متر به صورت طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار و دو گیاهچه در هر واحد آزمایشی استفاده شد. صفات ارزیابی شده در آزمایش اول عبارت بودند از: تعداد ریشه های جنینی، میانگین طول ریشه ها و مجموع طول ریشه ها. در آزمایش دوم نیز صفاتی که ارزیابی شده عبارت

بودند از: طول ریشه، وزن ریشه، حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه، شاخص سطح ریشه (Hajabbasi MA 2001)، تراکم ریشه (Paula and Pausas 2011) و قطر ریشه (Mandal et al. 2003). در آزمایش سوم نیز لوله‌ها از حجم و وزن ثابتی از بستر کشت

شامل خاک، ماسه و کود دامی پوسیده به نسبت ۱:۱:۱، پر شدند. رطوبت در حد ظرفیت زراعی مشخص شد. کاهش وزن هر واحد آزمایشی پیش از هر نوبت آبیاری برای تمامی واحدها توزین شد. که میزان آن جمع تبخیر و تعرق از هر واحد آزمایشی بود.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های گندم دورم مورد استفاده در تحقیق

| کد ژنوتیپ | مبدأ ژنوتیپ                      | کد ژنوتیپ | مبدأ ژنوتیپ                   | کد ژنوتیپ | مبدأ ژنوتیپ                              |
|-----------|----------------------------------|-----------|-------------------------------|-----------|------------------------------------------|
| ۱         | ایران - خراسان (مشهد)            | ۳۹        | ایران - فارس (مرودشت)         | ۷۷        | ایران - لرستان (دلفان)                   |
| ۲         | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۴۰        | ایران - خوزستان (اهواز)       | ۷۸        | ایران - کرمانشاه                         |
| ۳         | ایتالیا                          | ۴۱        | ایران - کرمانشاه              | ۷۹        | ایران - همدان (اسدآباد)                  |
| ۴         | ایران - نامشخص                   | ۴۲        | بلغارستان                     | ۸۰        | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۵         | ایران - خراسان (مشهد)            | ۴۳        | ایران - همدان                 | ۸۱        | ایران - فارس (شیراز)                     |
| ۶         | ایران - ایلام - دره شهر          | ۴۴        | ایران - خراسان (مشهد)         | ۸۲        | آرژانتین                                 |
| ۷         | یوگسلاوی                         | ۴۵        | ایران - خراسان (مشهد)         | ۸۳        | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۸         | ایران - کردستان - کامیاران       | ۴۶        | ایران - کرمانشاه              | ۸۴        | ایران - کرمانشاه (پاوه)                  |
| ۹         | ایران - خراسان (مشهد)            | ۴۷        | ایران - اردبیل                | ۸۵        | ایران - نامشخص                           |
| ۱۰        | ایتالیا                          | ۴۸        | ایران - لرستان (خرم آباد)     | ۸۶        | ایران - اصفهان (گلپایگان)                |
| ۱۱        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۴۹        | ایران - خراسان (مشهد)         | ۸۷        | ایران - خراسان (مشهد)                    |
| ۱۲        | ایران - نامشخص                   | ۵۰        | ایران - لرستان (خرم آباد)     | ۸۸        | ایران - فارس (شیراز)                     |
| ۱۳        | بانک ژن کرج ۷۳۷۴                 | ۵۱        | رقم زردک                      | ۸۹        | ایران - فارس (مرودشت)                    |
| ۱۴        | ایران - خراسان (مشهد)            | ۵۲        | ایران - لرستان (الشتر)        | ۹۰        | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۱۵        | ایران - خوزستان                  | ۵۳        | ایران - لرستان (سفیددشت آباد) | ۹۱        | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۱۶        | ایران - نامشخص                   | ۵۴        | ایران - خراسان (مشهد)         | ۹۲        | ایران - کردستان (دهگلان)                 |
| ۱۷        | ایتالیا                          | ۵۵        | افغانستان                     | ۹۳        | ایران - اردبیل                           |
| ۱۸        | ایران - کردستان (سندج)           | ۵۶        | ایران - خراسان (مشهد)         | ۹۴        | ایران - کرمانشاه (پاوه)                  |
| ۱۹        | ایران - خوزستان (ایذه)           | ۵۷        | ایران - اصفهان (گلپایگان)     | ۹۵        | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۲۰        | ایران - کرمانشاه                 | ۵۸        | ایران - اصفهان                | ۹۶        | ایران - کرمانشاه (حمیل)                  |
| ۲۱        | رقم دنا                          | ۵۹        | ایران - نامشخص                | ۹۷        | ایران - خوزستان (شوش)                    |
| ۲۲        | ایران - کرمانشاه - گهواره        | ۶۰        | ایران - ایلام - دهلران        | ۹۸        | ایران - خراسان (مشهد)                    |
| ۲۳        | ایران - آذربایجان شرقی (زق آباد) | ۶۱        | ایتالیا                       | ۹۹        | مکزیک                                    |
| ۲۴        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۶۲        | ایران - آذربایجان شرقی (اهر)  | ۱۰۰       | ایران - خوزستان (دزفول)                  |
| ۲۵        | استرالیا                         | ۶۳        | ایران - لرستان (خرم آباد)     | ۱۰۱       | ایران - لرستان (خرم آباد)                |
| ۲۶        | ایران - خراسان (مشهد)            | ۶۴        | ایران - کرمانشاه - هرسین      | ۱۰۲       | ایران - آذربایجان شرقی                   |
| ۲۷        | ایران - کرمانشاه                 | ۶۵        | ایران - کرمانشاه - بیستون     | ۱۰۳       | ایران - خراسان (مشهد)                    |
| ۲۸        | ایران - نامشخص                   | ۶۶        | ایران - لرستان (خرم آباد)     | ۱۰۴       | ایران - خوزستان                          |
| ۲۹        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۶۷        | ایران - لرستان - فیروزآباد    | ۱۰۵       | ایران - ایلام                            |
| ۳۰        | ایران - خوزستان (اهواز)          | ۶۸        | ایران - اردبیل                | ۱۰۶       | ایران - چهارمهل - بروجن بختیاری (شهرکرد) |
| ۳۱        | ایران - نامشخص                   | ۶۹        | پرتغال                        | ۱۰۷       | افغانستان                                |
| ۳۲        | ایران - خراسان (مشهد)            | ۷۰        | رقم یاوروس                    | ۱۰۸       | ایران - خوزستان (اهواز)                  |
| ۳۳        | ایران - لرستان (بروجرد)          | ۷۱        | ایتالیا                       | ۱۰۹       | ایران - لرستان (بروجرد)                  |
| ۳۴        | ایران - خوزستان (اهواز)          | ۷۲        | ایران - نامشخص                | ۱۱۰       | ایران - آذربایجان شرقی (میانه)           |
| ۳۵        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۷۳        | ایران - لرستان (خرم آباد)     | ۱۱۱       | ایران - بهبهان                           |
| ۳۶        | ایران - کرمان (بم)               | ۷۴        | رقم ساجی                      | ۱۱۲       | ایران - آذربایجان غربی - نقده            |
| ۳۷        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۷۵        | ایران - لرستان (خرم آباد)     |           |                                          |
| ۳۸        | ایران - لرستان (خرم آباد)        | ۷۶        | ایران - ایلام - مهران         |           |                                          |



شکل ۱- بارپلات حاصل از تجزیه ساختار ژنتیکی ۱۱۲ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از نرم افزار Structure.

### نتایج و بحث

تحلیل ساختار ژنتیکی جمعیت مورد بررسی، وجود سه زیر جمعیت کاملاً متمایز از هم را نشان داد (شکل ۱). زیرجمعیت اول با ۱۴ ژنوتیپ، بیشترین شاخص تمایز ژنتیکی را دارا بود ( $F_{ST}=0/8$ ). در زیر جمعیت دوم با ۶۳ ژنوتیپ کمترین میزان شاخص تمایز ژنتیکی ( $F_{ST}=0/03$ ) مشاهده شد (جدول ۲). در هرکدام از زیر جمعیت‌ها، فراوانی ال‌های نشانگرهای SNP مورد استفاده دارای تعادل هاردی-واینبرگ بود. ماتریس ضرایب ساختار زیرجمعیت‌های استخراج شده برای اجتناب از نتایج مثبت-کاذب (خطای نوع اول) در تحلیل ارتباط به‌عنوان متغیرهای همراه (کواریت) مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرهای مورد ارزیابی در گروه‌های پیوستگی (کروموزوم‌های مختلف) در شکل ۲ و ۳ به‌ترتیب در گستره ژنوم گندم دوروم و کروموزوم شماره ۱۰ (۳B) آورده شده‌است که میزان بالایی از عدم تعادل پیوستگی معنی‌دار بین مکان‌های نشانگری را نشان می‌دهد و شرط لازم برای تحلیل ارتباط نشانگرهای ارزیابی شده در هر ژنوتیپ با صفات فنوتیپی ارزیابی شده برای آن می‌باشد.

جدول ۲- اطلاعات مربوط به تحلیل ساختار و فاصله ژنتیکی زیرجمعیت‌های استخراج شده.

| زیر جمعیت | تعداد ژنوتیپ | شاخص تمایز جمعیت $F_{ST}$ | فاصله ژنتیکی بین زیرجمعیت‌ها |      |      |
|-----------|--------------|---------------------------|------------------------------|------|------|
|           |              |                           | I                            | II   | III  |
| I         | ۱۴           | ۰/۸۰                      | -                            | ۰/۱۵ | ۰/۱۸ |
| II        | ۳۵           | ۰/۰۳                      | ۰/۱۵                         | -    | ۰/۱۲ |
| III       | ۶۳           | ۰/۵۶                      | ۰/۱۸                         | ۰/۱۲ | -    |

در هر بلوک نیز یک لوله حاوی بستر کشت-بدون کاشت بذری، به‌عنوان شاهد و برای ارزیابی میزان تبخیر خالص، استفاده شد. تفاضل وزن کم شده در هر واحد از شاهد مربوط به آن بلوک معیار تعرق انجام شده در هر ژنوتیپ قرار گرفت. پس از رسیدگی فیزیولوژیک گیاهان، آگرو-مورفولوژیکی اندازه‌گیری شد. اما بخش عمده ریشه‌ها در این مرحله تجزیه شده بود که داده‌های این مرحله قابل اعتماد نبود. کارایی مصرف آب و کارایی تعرق گیاه با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شد.

۱- (عملکرد دانه هر بوته به گرم) / (میزان آب مصرفی به لیتر)

$$WUE =$$

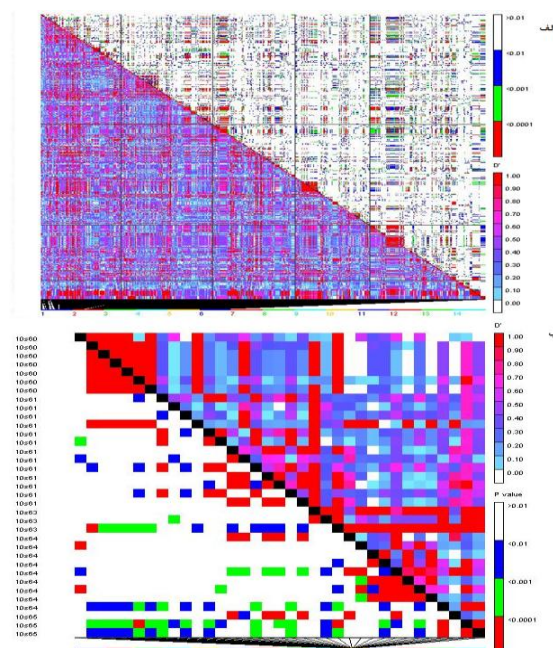
۲- (میزان تعرق هر بوته) / (عملکرد دانه هر بوته بر واحد گرم)

$$TE =$$

تعیین ژنوتیپ مواد گیاهی مورد استفاده نیز قبلاً با استفاده از یک پانل ۱۵۰۰۰ اس. ان. پی (۱۵K SNPs) انجام شده بود (Mansouri et al. 2017) که از این نشانگرهای در دسترس، تعداد 3321 نشانگر با مکان ژنومی مشخص و دارای فراوانی بیش از پنج درصد برای ال‌مینور، استفاده شد. برای تعیین ساختار جمعیت، یک تا ۱۰ زیرجمعیت (K) با سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE-2.3.4 و با ۱۰۰۰۰ دور (Burnin) و ۱۰۰/۰۰۰ زنجیره MCMC ارزیابی شد. برای تحلیل ارتباط صفات مورد مطالعه با نشانگرهای اس. ان. پی، از نرم‌افزار TASSEL-5 استفاده شد و برای اجتناب از گزارش نشانگرهای مثبت کاذب، حداقل میزان معنی‌داری لحاظ شد. به‌طوری که در مانهاتان پلات ترسیم شده حد آستانه ( $-\log Pvalue$ ) کمتر از ۲ نباشد.

آماره‌های توصیفی مربوط به صفات فنوتیپی ارزیابی شده نشان داد که تنوع فنوتیپی بسیار بالایی برای صفات ریشه و شاخص‌های ارزیابی شده روی آن‌ها در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده وجود دارد به نحوی که عمق (طول) و تراکم ریشه و همچنین کارایی مصرف آب و کارایی تعرق دامنه تغییرات و ضریب تنوع (پراکندگی) مناسبی برای انجام تحلیل ارتباط نشانگرهای مولکولی با آن‌ها را فراهم ساخت (جدول ۲).

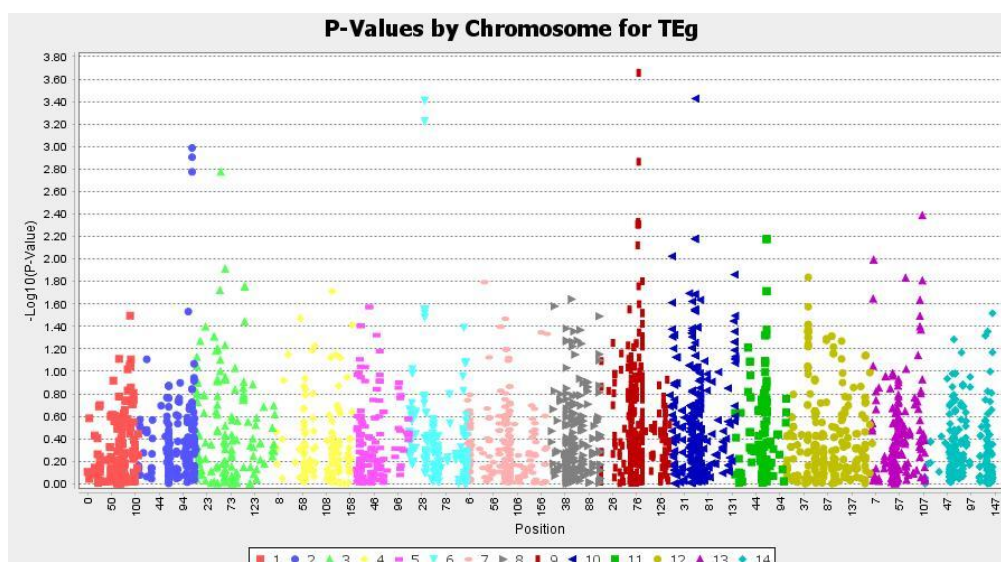
تنوع بالایی مشاهده شده برای صفات مهمی مانند ترکم ریشه و میزان تعرق انجام شده در ژنوتیپ‌های مختلف ارزیابی شده، ضرورت بررسی بیشتر روی این ژرم‌پلاس‌م گندم دوروم را در شرایط محدود رطوبتی و تنش خشکی نشان می‌دهد.



شکل ۳- پراکنش عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرهای مورد استفاده در گستره ژنوم (الف) و در سطح یک کروموزوم (ب)

جدول ۲- خلاصه آماره‌های توصیفی مربوط به صفات اندازه‌گیری شده در ۱۱۲ ژنوتیپ گندم دوروم

| صفت                         | حداقل  | حداکثر | میانگین | خطای معیار | ضریب تغییرات % |
|-----------------------------|--------|--------|---------|------------|----------------|
| تعداد ریشه چه بذری          | ۱/۶۵   | ۵/۹۴   | ۴/۱۸    | ۰/۰۷       | ۱۷/۸۷          |
| طول ریشه‌های بذری (cm)      | ۰/۴۷   | ۹/۰۷   | ۴/۰۷    | ۰/۱۳       | ۳۵/۱۹          |
| طول کلنوتیل (cm)            | ۰/۶۴   | ۴/۴۱   | ۱/۶۴    | ۰/۰۴       | ۲۷/۵۵          |
| حجم ریشه (cm <sup>۳</sup> ) | ۰/۷۴   | ۵/۹۴   | ۰/۶۷    | ۰/۰۸       | ۳۲/۳۶          |
| طول ریشه (cm)               | ۳۱/۱۹  | ۶۴/۹۷  | ۵۵/۵۱   | ۰/۶۰       | ۱۲/۴۱          |
| سطح ریشه (cm <sup>۲</sup> ) | ۱۹/۷۶  | ۶۳/۷۶  | ۴۲/۰۸   | ۰/۷۱       | ۱۹/۳۸          |
| تراکم بافت ریشه             | ۲۰۰/۹۱ | ۹۳۵/۲۷ | ۵۰۵/۹۶  | ۲۵/۷۱      | ۵۴/۷۶          |
| وزن تر ریشه (g)             | ۰/۶۸   | ۲/۶۰   | ۱/۶۰    | ۰/۰۴       | ۲۴/۹۲          |
| وزن خشک ریشه (g)            | ۰/۰۶   | ۰/۹۰   | ۰/۱۶    | ۰/۰۱       | ۵۴/۷۶          |
| دوره پر شدن دانه (روز)      | ۱۲/۸۷  | ۳۵/۶۴  | ۲۱/۰۳   | ۰/۳۴       | ۱۸/۳۲          |
| رسیدگی فیزیولوژیکی (روز)    | ۱۶۵/۳۳ | ۱۸۶/۱۲ | ۱۷۵/۸۸  | ۰/۵۰       | ۳/۲۱           |
| ارتفاع بوته (cm)            | ۶۶/۵۸  | ۱۶۶/۷۲ | ۱۱۲/۵۸  | ۱/۳۴       | ۱۳/۶۴          |
| طول پدانکل (cm)             | ۳۲/۴۲  | ۷۵/۲۴  | ۵۲/۴۰   | ۰/۶۴       | ۱۴/۰۱          |
| کارایی مصرف (g/L)           | ۰/۱۳   | ۰/۷۹   | ۰/۳۰    | ۰/۰۱       | ۳۶/۸۴          |
| میزان تعرق (g/L)            | ۰/۲۱   | ۱/۹۴   | ۰/۶۶    | ۰/۰۳       | ۱۵/۹۰          |
| طول سنبله (cm)              | ۴/۵۰   | ۱۱/۴۸  | ۷/۰۵    | ۰/۱۰       | ۱۶/۳۳          |
| تعداد دانه در بوته          | ۴۰/۰۵  | ۲۶۷/۵۵ | ۹۱/۸۱   | ۲/۴۴       | ۳۰/۵۰          |
| وزن هزار دانه (g)           | ۲/۵۱   | ۱۳/۶۲  | ۴/۶۹    | ۱/۰۹       | ۲۵/۱۷          |
| عملکرد دانه تک بوته (g)     | ۱/۷۵   | ۸/۴۰   | ۴/۲۷    | ۰/۱۱       | ۲۸/۷۱          |
| بیوماس (g)                  | ۴۷/۳۴  | ۲۷۰/۷۳ | ۱۲۴/۲۳  | ۳/۷۶       | ۳۴/۸۶          |



شکل - نمایش گرافیکی نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفت کارایی تعرق ژنوتیپ‌های مختلف گندم دوروم با استفاده از مانهاتان پلات ترسیم شده با نرم افزار تاسل ۵ و استفاده از ۳۲۲۱ نشانگر SNP روی ۱۴ کروموزوم گندم دوروم. از چپ به راست کروموزوم ۱A تا ۷B می باشد.

ریشه‌های بذری گندم نان، را گزارش نموده‌اند (Al Richard et al. 2015; Meister et al. 2014). مکان‌هایی از کروموزوم‌های ۲B و ۳B گندم هگزاپلویدی برای کنترل تنوع در ریشه‌های بذری در شرایط تنش رطوبتی ایجاد شده با پلی اتیلن گلاکول گزارش شده‌است (Ayalew et al. 2018).

طول ریشه‌های گسترش یافته از ۳۱/۱۹ تا ۶۴/۹۷ سانتی متر متغیر بود. تجزیه ارتباطی نشان داد که نشانگرهای wsnp\_Ex\_rep\_c109742\_92411838 و wsnp\_Ku\_c21316\_31053745 روی کروموزوم ۱A پیوستگی معنی داری با این صفت داشت که در مجموع ۵۰ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را در کنترل دارند. نشانگر Excalibur\_c35713\_106 روی کروموزوم ۶B نیز ۱۳ درصد از تغییرات این صفت را توجیه می‌کند. در چنین مواردی که تعداد اندکی نشانگر بخش عمده‌ای از تغییرات یک صفت را کنترل می‌کند، می‌توان با گزینش ژنومی در جمعیت‌های اصلاحی در حال تفرق در حداقل زمان به ژنوتیپ‌های ایده‌آل رسید. کنترل ژنتیکی صفت طول ریشه در طیف گسترده‌ای از ارقام گندم با تیپ‌های مختلف رشدی گزارش شده‌است (Narayanan et al. 2014). تغییرات حجم ریشه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، بسیار زیاد بود و از ۰/۷۴ تا ۵/۹۴ سانتی متر مکعب متغیر بود. وجود ضریب تغییرات بسیار زیاد برای این صفت، نشان می‌دهد که

تحلیل ارتباط درگستره ژنوم با استفاده از مدل خطی آمیخته (MLM) انجام شد و نشانگرهای مرتبط با هر کدام از صفات شناسایی و در جدول مرتب شد. سطح معنی داری ارتباط نشانگرها و صفات مربوطه و همچنین درصدی از اطلاعات فنوتیپی صفت که توسط نشانگر توجیه می‌شود به ترتیب با  $P$ -value و  $r^2$  نشان داده شده‌است.

تعداد ریشه‌های بذری در بین ژنوتیپ‌ها تنوع مشاهده شد. به طوری که دامنه تغییرات آن از ۱/۶۵ تا ۵/۹۴ بود. ضریب تغییرات این صفت ۱۷/۸۷ درصد بود اما طول ریشه‌های بذری تنوع بسیار بیش‌تری داشت و ضریب تغییرات برای این صفت ۳۵/۱۹ درصد بود. چنین تنوعی اهمیت ارزیابی کنترل ژنتیکی ریشه‌های بذری را در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. تحلیل ارتباط نشان داد که نشانگر Kukri\_c62142\_683 با سطح احتمال  $P=0/0002$  روی کروموزوم ۲A و نشانگر Ku\_c106533\_550 با سطح احتمال  $P=0/0004$  روی کروموزوم ۱B با طول ریشه‌های بذری ارتباط دارند. ضریب تبیین این نشانگر نشان می‌دهد که ۲۱ درصد از تفاوت‌های موجود برای این دو صفت را کنترل می‌کند. در ارتباط با تعداد ریشه‌های بذری نیز نشانگر آگاهی بخش معنی داری شناسایی نشد. اگر چه گزارش قبلی در مورد ژن‌های کنترل‌کننده ریشه‌های بذری در گندم دوروم وجود ندارد، اما تحقیقات متعددی تنوع در تعداد و طول

تراکم و سطح ریشه‌ها لازم است با دقت بیشتری ارزیابی شود. نشانگر  $wsnp\_Ex\_c10550\_17231294$  روی کروموزوم ۷B به میزان ۱۱/۶ دصد از تنوع این صفت را توجیه می‌کند. در گیاه جو نیز مشخص شده‌است که این صفت کنترل ژنتیکی دارد و مکان‌های ژنی کنترل کننده آن روی کروموزوم‌های ۳ و ۶ این ژنوم گیاه قرار دارد (Ataei et al. 2013).

تعداد ۶ نشانگرهای SNP مرتبط با صفت وزن خشک ریشه شناسایی شد که این نشانگرها به روی کروموزوم‌های ۲B و ۵B قرار داشت (جدول ۳). این نشانگرها با شاخص شاخص تراکم بافت ریشه نیز پیوستگی داشت که دلیل آن می‌تواند محاسبه این

شاخص از روی وزن ریشه‌ها باشد. نشانگرهای  $wsnp\_Ex\_rep\_c109742\_92411838$  و  $wsnp\_Ku\_c21316\_31053745$  روی کروموزوم ۱A و نشانگر  $Excalibur\_c74397\_238$  روی کروموزوم ۴A هرکدام به میزان ۱۱/۱ درصد از تغییرات سطح ریشه را توجیه می‌نمایند. روی کروموزوم ۶B نیز دو نشانگر  $wsnp\_BE404947B\_Ta\_2\_12$  و  $IAAV1711$  نیز هرکدام به میزان ۱۰/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفت را کنترل می‌کنند. قطر ریشه صفت مهم دیگری است که نشانگرهای پیوسته با آن بر روی کروموزوم‌های ۲B و ۷B قرار داشت.

جدول ۳- نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات و شاخص‌های رشد ریشه شناسایی شده به روش تحلیل در گستره ژنوم

| نام صفت           | نام نشانگر                         | کروموزوم | موقعیت (سانتی‌مورگان) | سطح معنی‌داری | ضریب تبیین $R^2$ |
|-------------------|------------------------------------|----------|-----------------------|---------------|------------------|
| طول ریشه‌های بذری | Kukri_c62142_683                   | ۲A       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۲        | ۰/۱۲             |
|                   | Ku_c106533_550                     | ۱B       | ۵۵                    | ۰/۰۰۰۴        | ۱۲/۹             |
| طول ریشه          | $wsnp\_Ex\_rep\_c109742\_92411838$ | ۱A       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۰        | ۰/۲۵             |
|                   | $wsnp\_Ku\_c21316\_31053745$       | ۱A       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۰        | ۰/۲۵             |
|                   | Excalibur_c35713_106               | ۶B       | ۴۰                    | ۰/۰۰۰۱        | ۰/۱۳             |
| حجم ریشه          | $wsnp\_Ex\_c10550\_17231294$       | ۷B       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۶             |
| وزن خشک ریشه      | RAC875_c34512_685                  | ۲B       | ۲                     | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۷              |
|                   | RAC875_c34512_493                  | ۲B       | ۲                     | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۷              |
|                   | BS00068200_51                      | ۵B       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۰۲       | ۱۵/۵             |
|                   | Excalibur_c9391_1016               | ۵B       | ۱۰۳                   | ۰/۰۰۰۵        | ۱۰/۸             |
|                   | GENE-0168_7                        | ۵B       | ۱۰۴                   | ۰/۰۰۰۶        | ۱۰/۵             |
|                   | Tdurum_contig25393_218             | ۵B       | ۴۶                    | ۰/۰۰۰۷        | ۱۰/۰             |
|                   | RAC875_c34512_685                  | ۲B       | ۲                     | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۷              |
|                   | RAC875_c34512_493                  | ۲B       | ۲                     | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۷              |
| تراکم بافت ریشه   | BS00068200_51                      | ۵B       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۰۲       | ۱۵/۵             |
|                   | Excalibur_c9391_1016               | ۵B       | ۱۰۳                   | ۰/۰۰۰۵        | ۱۰/۸             |
|                   | GENE-0168_7                        | ۵B       | ۱۰۴                   | ۰/۰۰۰۶        | ۱۰/۵             |
|                   | Tdurum_contig25393_218             | ۵B       | ۴۶                    | ۰/۰۰۰۷        | ۱۰/۰             |
|                   | $wsnp\_Ex\_rep\_c109742\_92411838$ | ۱A       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۱             |
| سطح ریشه          | $wsnp\_Ku\_c21316\_31053745$       | ۱A       | ۷۲                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۱             |
|                   | Excalibur_c74397_238               | ۴A       | ۱۱۵                   | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۱             |
|                   | $wsnp\_BE404947B\_Ta\_2\_12$       | ۶B       | ۲۸                    | ۰/۰۰۰۷        | ۱۰/۱             |
|                   | IAAV1711                           | ۶B       | ۲۸                    | ۰/۰۰۰۷        | ۱۰/۱             |
| قطر ریشه          | RFL_Contig4856_71                  | ۲B       | ۷۰                    | ۰/۰۰۰۴        | ۱۰/۸             |
|                   | Kukri_c50071_1084                  | ۷B       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۴        | ۱۰/۵             |
|                   | Excalibur_c21739_688               | ۷B       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۶        | ۱۰/۵             |

جدول ۳- نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفت کارایی تعرق در گندم دوروم، شناسایی شده به روش تحلیل در گستره ژنوم

| نام صفت        | نام نشانگر                   | کروموزوم | موقعیت (سانتی مورگان) | سطح معنی داری | ضریب تبیین $R^2$ |
|----------------|------------------------------|----------|-----------------------|---------------|------------------|
| کارایی مصرف آب | Kukri_c54678_88              | ۱A       | ۷۶                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۰/۸             |
|                | Kukri_c49170_655             | ۱A       | ۷۸                    | ۰/۰۰۰۶        | ۹/۹              |
|                | Kukri_c12984_465             | ۱A       | ۷۹                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۱             |
|                | Excalibur_c44668_382         | ۱A       | ۸۱                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۰             |
|                | IAAV2694                     | ۱A       | ۸۴                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۰             |
|                | Ra_c110766_321               | ۱A       | ۹۶                    | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۵              |
|                | RAC875_c68649_457            | ۲A       | ۱۱۳                   | ۰/۰۰۰۰۲       | ۱۴/۷             |
|                | BS00094057_51                | ۳A       | ۲                     | ۰/۰۰۰۶        | ۱۰/۸             |
|                | BS00067216_51                | ۳A       | ۵۲                    | ۰/۰۰۰۵        | ۱۰/۶             |
|                | BS00110075_51                | ۵A       | ۳۶                    | ۰/۰۰۰۸        | ۹/۹              |
|                | Tdurum_contig75595_586       | ۶A       | ۳۴                    | ۰/۰۰۰۰۷       | ۱۴/۰             |
|                | Kukri_c6552_4243             | ۲B       | ۷۸                    | ۰/۰۰۰۰۲       | ۱۸/۴             |
|                | wsnp_JD_rep_c67103_42432235  | ۲B       | ۷۹                    | ۰/۰۰۰۲        | ۱۱/۴             |
|                | wsnp_Ra_c28955_38371323      | ۲B       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۰        | ۲۱/۲             |
|                | RAC875_rep_c69171_92         | ۳B       | ۵                     | ۰/۰۰۰۴        | ۱۰/۶             |
|                | Excalibur_c29625_222         | ۳B       | ۵۳                    | ۰/۰۰۰۴        | ۱۱/۱             |
|                | BobWhite_c1196_297           | ۳B       | ۵۴                    | ۰/۰۰۰۰۱       | ۱۶/۴             |
|                | Tdurum_contig76213_958       | ۴B       | ۳۲                    | ۰/۰۰۰۵        | ۱۰/۳             |
|                | wsnp_CAP12_rep_c4278_1949864 | ۴B       | ۶۳                    | ۰/۰۰۰۲        | ۱۱/۳             |
|                | BS00022364_51                | ۴B       | ۶۶                    | ۰/۰۰۰۰۹       | ۱۲/۷             |
|                | RAC875_c68649_457            | ۲A       | ۱۱۳                   | ۰/۰۰۰۰۳       | ۱۴/۳             |
|                | BS00067216_51                | ۳A       | ۵۲                    | ۰/۰۰۰۱        | ۱۲/۷             |
|                | Tdurum_contig75595_586       | ۶A       | ۳۴                    | ۰/۰۰۰۰۶       | ۱۳/۷             |
|                | Excalibur_c71500_231         | ۲B       | ۸۰                    | ۰/۰۰۰۰۱       | ۱۵/۵             |
| کارایی تعرق    | Excalibur_c5064_765          | ۲B       | ۷۸                    | ۰/۰۰۰۱        | ۱۱/۸             |
|                | wsnp_Ex_c7203_12370983       | ۲B       | ۷۹                    | ۰/۰۰۰۱        | ۱۱/۴             |
|                | BobWhite_c1196_297           | ۳B       | ۵۴                    | ۰/۰۰۰۰۶       | ۱۷/۲             |
|                | RAC875_rep_c69171_92         | ۳B       | ۵                     | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۱             |
|                | GENE-1966_110                | ۳B       | ۵۳                    | ۰/۰۰۰۳        | ۱۱/۳             |

(کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۶) و ۹ مورد نیز روی ژنوم B گندم دوروم قرار داشت (کروموزوم‌های ۲، ۳ و ۴). از آنجاکه عوامل مختلفی کارایی مصرف آب در گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند، چنین گستردگی برای نواحی ژنومی درگیر در کنترل ژنتیکی کارایی مصرف آب قابل پیش‌بینی بود.

برخلاف صفت کارایی مصرف آب که مجموع آب تبخیر و تعرق یافته در هر واحد آزمایشی به ازای عملکرد اقتصادی مورد توجه قرار می‌گیرد، در کارایی تعرق گیاه صرفاً آب حاصل تعریق یافته (مصرف شده در گیاه) در محاسبه وارد می‌شود و تنوع ژنتیکی برای این صفت اهمیت بیشتری دارد. همانطور که در جدول آماره‌های توصیفی مشاهده می‌شود کارایی تعرق گیاه از ۰/۲۱ تا

سه نشانگر RFL-Contig4856\_71، Kukri\_c50071\_1084، Excalibur\_c21739\_688 در مجموع ۳۱/۸ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را تبیین می‌کنند. موقعیت یکسان این نشانگرها روی کروموزوم‌ها حاکی از وجود QTL‌هایی برای این صفت در این مکان از ژنوم گندم دوروم است (Xin et al. 2015).

در رابطه با صفت کارایی مصرف آب در گندم دوروم مشخص شد که میانگین این صفت در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۰/۳ گرم دانه به ازای هر لیتر آب مصرفی بود. اما تنوع برای این صفت بسیار بالا بود و ضریب تغییرات این صفت ۳۶/۸۴ درصد محاسبه شد. تعداد ۲۰ نشانگر آگاهی‌بخش برای این صفت شناسایی شد. از این نشانگرها ۱۱ مورد روی ژنوم A

نواحی ژنومی مرتبط با صفات و شاخص‌های رشد ریشه بعلاوه صفات کارایی مصرف آب و تعرق را فراهم کرد. در این تحقیق مشخص شد که تنوع بسیار زیادی برای صفات ارزیابی شده وجود داشت که لازم است کارایی چنین تنوعی در صفات ریشه‌ای و کارایی مصرف آب در شرایط محدود رطوبتی نیز ارزیابی شود. گزینش ژنومی به کمک نشانگرهایی که سهم عمده‌ای از تغییرات فنوتیپی صفات را در کنترل دارد می‌تواند به غربالگری زود هنگام جمعیت‌های در حال تفرق در برنامه‌های اصلاحی گندم دوروم کمک کند.

### منابع

- Ayalew A, Liu H, Börner A, Kobiljski B, Liu C, Yan G (2018) Genome-Wide Association mapping of major root length QTLs under PEG induced water stress in wheat. *Frontiers in Plant Science* 9:1759.
- De Vita P, Nicosia OLD, Nigro F, Platani C, Riefolo C, Di Fonzo N (2007) Breeding progress in morpho-physiological, agronomical and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *European Journal of Agronomy* 26: 39-53.
- Fayaz N, and Arzani A (2011) Moisture stress tolerance in reproductive growth stage in triticale (X *Triticosecale* Wittmack) cultivars under field conditions. *Crop Breeding Journal* 1: 1-12.
- Hajabbasi MA (2001) Tillage effects on soil compactness and wheat root Morphology *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 3: 67-77.
- Iannucci A, Marone D, Russo M, De Vita P, Miullo V, Ferragonio P, Blanco A, Gadalet A, Mastrangelo A (2017) Mapping QTL for Root and Shoot Morphological Traits in a Durum Wheat×*T. dicoccum* Segregating Population at Seedling Stage. *International Journal of Genomics* 1: 1-17.
- Kara Y, Martín A, Souyris I, Rekika D, Monneveux P (2000) Root characteristics in durum wheat (*T. turgidum* conv. durum) and some wild Triticeae species. Genetic variation and relationship with plant architecture. *Cereal Research Communication* 28: 247-254.
- Kilian B, Mammen K, Millet E, Sharma R, Graner A, Salamini F, Hammer K, Ozkan H (2011) Wild crop relatives: genomic and breeding resources: Cereals, Springer, Chapter 1.
- Liu X, Li R, Chang X, Jing R (2013) Mapping QTLs for seedling root traits in a doubled haploid wheat population under different water regimes. *Euphytica*. 189: 51-66.
- Maccaferri M, El-Feki W, Nazemi G, Salvi S, Angela Canè M, Chiara Colalongo M, Stefanelli S, Tuberosa R (2016) Prioritizing quantitative trait loci for root system architecture in tetraploid wheat. *Journal of Experimental Botany* 6:1161-1178.
- Mandal KG, Hati KM, Misra AK, Ghosh PK, Bandyopadhyay KK (2003) Root density and water use

۱/۹۴ در بین ژنوتیپ‌ها متغیر بود و به‌طور متوسط ۰/۶۶ گرم به ازای هر لیتر آب تعرق یافته بود. کنترل چنین تنوعی با ۹ مورد از نشانگرهای مورد بررسی ارتباط معنی‌داری داشت. از این نشانگرها سه نشانگر روی ژنوم A و ۶ نشانگر روی ژنوم B قرار دارد. کروموزوم‌های ۲A، ۳A و ۶A از ژنوم A و کروموزوم‌های ۲B و ۳B نیز از ژنوم B در کنترل کارایی تعرق گندم دوروم مشارکت داشتند.

### نتیجه‌گیری کلی

تحلیل ارتباط در گستره ژنوم با استفاده از نشانگرهای تکرارپذیر و با جایگاه مشخص روی ژنوم گندم دوروم امکان شناسایی

- efficiency of wheat as affected by irrigation and nutrient management. *Journal of Agricultural Physics* 3: 49-55.
- Narayanan S, PV Prasad (2014) Characterization of a spring Wheat Association Mapping Panel for Root Traits. *Agronomy Journal* 106: 1593-1604.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the national academy of sciences, USA* 70:3321-3323.
- Paula P, Pausas JG (2011) Root traits explain different foraging strategies between resprouting life histories, *Oecologia* 165: 321-331.
- Peterson G, Seberg O, Yde M, Berthelsen K (2006) Phylogenetic relation of *Triticum* and *Aegilops* evidence for the origin of the A, B and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*)', *Molecular Phylogenetic and Evolution* 39:70-82.
- Price A, Steele K A, Gorham J, Bridges JM, Moore BJ, Evans JL, Jones R, Richardson P (2002) Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes, root distribution, water use and plant water status. *Field Crops Research* 76: 11-24.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-59.
- Ren Y, He X, Liu, D, Li J, Zhao X, Li B, Tong Y, Zhang A, Li Z (2012) Major quantitative trait loci for seminal root morphology of wheat seedlings. *Molecular Breeding* 30: 139-148.
- Sharif-Al-Hosseini M, Ahmadi E (2012) Evaluation of durum wheat genotypes using drought tolerance indices. *Iran Agronomy Researches* 10:361-367.
- Xu X, Ren J, Ren X, Huang S (2015) association of agronomic traits with SNP markers in durum wheat (*Triticum turgidum* L. durum (Desf.)). *PLoS ONE* 10:6.
- Mansouri S, Mehrabi AA, Mohammadi V, Arminian A, Roder M (2018) Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes using SNP markers. *Modern Genetics*. 13:157-168.