



## Genetic structure of population and association analysis of some morpho-physiological traits of bread wheat under salinity stress using Simple Sequence Repeats (SSR)

Sasan Farhangian-kashani<sup>1</sup>, Shahab Khaghani\*<sup>1</sup>, Amin Azadi<sup>2</sup>,  
Mahdi Changizi<sup>1</sup>, Masoud Gomarian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran, Email: shahab.khaghani@gmail.com

<sup>2</sup>Department of Plant Breeding, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Serial 66, 17th year, Number 2, Summer 2022 (40-56)

### Abstract

Association analysis of 105 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes was carried out using 12 SSR markers. For this purpose, wheat seeds were planted in pots in a randomized complete block design with three replications under normal (10 mM NaCl) and saline (120 mM NaCl) conditions and the activity of catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and total protein contents were measured. The results of combined analysis of variance showed that the activity of catalase, ascorbate peroxidase, and total protein contents were significantly different in the bread wheat cultivars under study. The results of multiple regression analysis showed that gwm67b and gwm282d markers under salinity conditions were more correlated with catalase activity in the studied species. Also, gwm291a, wmc73a, and barc124a markers were the most effective markers in association with APX enzyme. Analysis of the population structure and the resulting plot showed that the K Index and the Average Likelihood Logarithm had the highest value at K = 2 (57.38), thus the population under study has most probably 2 subpopulations. Tassel analysis of SSR markers under normal irrigation and salinity irrigation conditions obtained 54 loci related to the traits under study in control condition and 61 loci in salinity condition based on the general linear model (GLM) and also 35 related loci in control condition and 20 loci in salinity condition based on the mixed linear model (MLM).

### Article type:

Research Full Paper

### Article history

Received: 2021/06/15

Revised: 2021/08/21

Accepted: 2021/08/22

### Keywords

Association analysis

Population structure

Bread wheat

Salinity and Simple

Sequence Repeats



## ساختار ژنتیکی جمعیت و تجزیه ارتباط تعدادی از صفات مورفو- فیزیولوژیک گندم نان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره (Simple Sequence Repeats) تحت تنش شوری

ساسان فرهنگیان کاشانی<sup>۱</sup>، شهاب خاقانی<sup>۱\*</sup>، امین آزادی<sup>۲</sup>، مهدی چنگیزی<sup>۱</sup>، مسعود گماریان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران. رایانامه: [shahab.khaghani@gmail.com](mailto:shahab.khaghani@gmail.com)

<sup>۲</sup> گروه اصلاح نباتات، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهری، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

سال هفدهم، شماره ۶۶، تابستان ۱۴۰۱ / صفحات: ۵۶-۴۰

### نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

### چکیده

در این تحقیق تجزیه ارتباطی ۱۰۵ ژنوتیپ گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با استفاده از ۱۲ آغازگر SSR مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، بذور گندم در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و در دو شرایط نرمال (۱۰ mM NaCl) و شور (۱۲۰ mM NaCl) در گلدان‌ها کشت شدند و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و محتوای پروتئین کل مورد سنجش قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌های فیزیولوژیک، نشان داد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و محتوای پروتئین کل در ارقام مورد مطالعه گندم نان، تفاوت معنی داری را داشتند. نتایج تجزیه رگرسیون چند متغیره نشان داد که نشانگرهای gwm67b - gwm282d تحت شرایط شوری، نسبت به سایر نشانگرهای مورد مطالعه، پیوستگی بیشتری با فعالیت کاتالاز در گونه‌های مورد مطالعه داشته‌اند. همچنین جدول مربوطه، مارکرهای gwm291a- wmc73a- barc124a را بعنوان موثرترین نشانگرها در پیوستگی با آنزیم APX معرفی نمود. تجزیه ساختار جمعیت و بارپلات بدست آمده از آن نیز نشان داد که شاخص K و متوسط لگاریتم لایک لی هود، بیشترین مقدار را در  $K=2$  (۵۷,۳۸) داشته‌اند، بنابراین به احتمال قوی جمعیت مورد استفاده دارای ۲ زیر جمعیت بودند. تجزیه Tassel مربوط به نشانگرهای SSR تحت شرایط آبیاری طبیعی و آبیاری با آب شور نشان داد که ۵۴ مکان مرتبط با صفات مورد مطالعه در شرایط شاهد و ۶۱ مکان در شرایط شوری بر اساس مدل خطی عمومی (GLM) و همچنین ۳۵ مکان مرتبط در شرایط شاهد و ۲۰ مکان در شرایط شوری بر اساس مدل خطی مختلط (MLM) به دست آمد.

### واژه‌های کلیدی:

ساختار جمعیت

شور

گندم نان

تجزیه ارتباط و نشانگرهای ریزماهوره

استناد: فرهنگیان کاشانی، س.، خاقانی، ش.، آزادی، ا.، چنگیزی، م.، گماریان، م. (۱۴۰۱). ساختار ژنتیکی جمعیت و تجزیه ارتباط تعدادی از

صفات مورفو- فیزیولوژیک گندم نان با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره (Simple Sequence Repeats) تحت تنش شوری.

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۶۵ (۲)، ۵۶-۴۰.

مقدمه

مواجه شدن با نرخ رشد سریع جمعیت در دنیا، یکی از دلایل نیاز به تولید گندم را رقم می‌زند و این در حالی است که افزایش جمعیت تا سال ۲۰۵۰ بالغ بر نه میلیارد خواهد بود (Anwar et al., 2009). در سطح جهانی، تولید گندم به شدت تحت تأثیر تنش‌های غیر زنده از جمله خشکسالی، گرما، نمک و سمیت فلز قرار دارد و در بین این‌ها، تنش شوری بیشترین آسیب را دارد و در هر مرحله از رشد گیاه گندم تأثیر می‌گذارد (Ahmad et al., 2013) و ضروری است که ژرم پلاسما گندم را با معرفی ژن‌ها یا آلل‌های جدید از خزانه غنی واریته‌ها و گونه‌های مختلف گندم بهبود بخشیده و برخی ارقام گندم را جهت بالا بردن سطح مقاومت به شوری، کشت کنیم (Dresselhaus et al., 2018). شوری در محصولات زراعی از طریق تنش اسمزی ناشی از سمیت یون‌های سدیم و کلر و دخالت آنها در جذب مواد مغذی معدنی تأثیر گذار است (Mba et al., 2007). نمک ممکن است به طور غیرمستقیم بر رشد گیاهان از طریق کاهش میزان فتوسنتز، محتوای کلروفیل و تعرق و در نتیجه کاهش رشد تأثیر بگذارد (Szegetes et al., 2000). در واقع در شرایط شور، کاهش قابل توجهی در فتوسنتز با کاهش میزان محتوای کلروفیل کل همراه بوده است (Meng et al., 2011).

فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیو مثل کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) تحت تنش شوری در گیاهان افزایش می‌یابد و اغلب یک ارتباط مثبتی بین سطوح این آنزیم‌ها و تحمل به شوری مشاهده شده است (Parida and Das, 2005) و در این راستا، سنتز پروتئین‌ها که اهمیتی اساسی برای تمامی عملکردها در سلول دارند (Sara et al., 2012) تحت شرایط تنش، مختل شده و با کاهش رشد گیاه و عملکرد گیاه همراه است (Kabiri and Nasibi, 2014)؛ از طرفی

دیگر، یک روند افزایشی پروتئین‌های بخش هوایی گندم‌های کشت شده در شرایط تنش مشاهده شده است (Noman and et al., 2018) و پروتئین‌های تولید شده در شرایط تنش، به گیاهان این امکان را می‌دهند تا تنظیمات ساختاری و بیوشیمیایی را جهت سازگاری با تنش انجام دهند (Al-jebory, 2012).

در مطالعات تحمل گندم به شوری، Oyiga و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که ژنوتیپ‌های متحمل می‌توانند در سطح ۱۵۰ میلی مولار سدیم-کلسیم زنده بمانند و بدین منظور، برای دستیابی به درک عمیق تر از انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به نمک، باید مکانیسم‌های تأثیر نمک بر رشد گیاه، مورفولوژی، فیزیولوژی و پاسخ‌های آنتی اکسیدانی شناسایی شود (Acosta-Motos et al., 2017). در طول دو دهه گذشته، بسیاری از تکنیک‌های مارکری برای نقشه‌یابی ژنتیکی از صفات مهم اقتصادی در گندم مورد استفاده قرار گرفت (Randhawa et al., 2013)، که از میان آن‌ها، تکرارهای دنباله دار ساده (SSRs) برای تجزیه و تحلیل مولکولی گیاهان به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفت (Varshney et al., 2005). Roy و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از تجزیه رگرسیون چندگانه در ۵۵ ردیف گندم، ۵۵ نشانگر SSR را شناسایی کردند که با عملکرد بیولوژیکی مرتبط بوده و به‌عنوان نشانگرهای مثبت برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر<sup>۱</sup> (MAS) معرفی شدند.

تجزیه ارتباطی<sup>۲</sup> نه تنها امکان مکان‌یابی دقیق و مطمئن ژن‌ها و مکان‌های کنترل کننده صفات کمی را فراهم می‌کند، بلکه امکان شناسایی نواحی کروموزومی دیگری که در مطالعات مبتنی بر پیوستگی امکان پذیر نیستند را نیز میسر می‌سازد.

1. Marker-Assisted Selection
2. Association analysis

در این روش نیازی به تهیه جمعیت در حال تفرق نیست و از جمعیت‌های متنوع موجود جهت شناسایی مکان‌های ژنومی پیوسته با صفات استفاده می‌شود. عدم تعادل پیوستگی<sup>۱</sup> نقش مهمی در تجزیه ارتباط دارد و اگر بین مارکرهای مولکولی و ژن‌های کنترل کننده یک صفت خاص وجود داشته باشد، می‌توان ارتباط صفت-مارکر را تعیین کرد و در برنامه‌های اصلاحی از آن استفاده نمود (Darvishzadeh et al., 2016).

برای انجام نقشه‌یابی ارتباطی باید داده‌های فنوتیپی، داده‌های ژنوتیپی و ماتریس ساختار جمعیت به نرم افزار TASSEL معرفی شوند و این نرم افزار قادر است به صورت گرافیکی میزان عدم تعادل پیوستگی را نشان دهد. همچنین، تجزیه ارتباطی در این نرم افزار با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) یا مدل خطی مخلوط (MLM) انجام می‌شود (Bradbury et al., 2007). در تحقیقی، Caldwell و همکاران (۲۰۰۶) بر روی چهار ژن در سه جمعیت متفاوت جو (زرعی، بومی و وحشی) گزارش دادند که بیشترین میزان عدم تعادل به جمعیت متشکل از ارقام زراعی اختصاص داشت و دلیل آنرا در تفاوت ساماندهی ژنوم، وجود عناصر کوچکی در ژنوم که مانع نوترکیبی می‌شوند و تاثیر متفاوت نیروهای تکاملی مانند گزینش و رانش نسبت دادند. همچنین، Saeed و همکاران (۲۰۱۴) در مکان‌یابی ارتباطی تحمل به شوری در ژرم پلاسما پنبه، اظهار داشتند که استفاده از مدل MLM به کاهش نتایج مثبت دروغین (ارتباطات کاذب نشانگر-صفت) و اریبی کمتر نتایج کمک زیادی می‌کند. می‌توان با اعمال تنش شوری در ارقام مختلف گیاهان استراتژیک همچون گندم و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های مرتبط با شوری، از آن‌ها به عنوان شاخص کمی در

مکان‌یابی ژن‌های دخیل در تولید آنزیم‌های مرتبط با تحمل به شوری استفاده کرد. این مطالعه با هدف تعیین سطوح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مرتبط با تحمل شوری و تجزیه ارتباطی برخی صفات فیزیولوژیک (فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پروتئین کل) و مورفولوژیک (وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هوایی، میزان کلروفیل برگ‌ها، میزان هدایت روزنه برگ، دما و رطوبت نسبی برگ، نسبت ساقه به ریشه، وزن خشک گیاهچه، محتوای سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم) با استفاده از نشانگرهای SSR در شرایط آبیاری معمولی و آبیاری تحت تنش شوری کلرید سدیم در میان ژنوتیپ‌های گندم نان انجام شد. این مطالعه با هدف تعیین سطوح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مرتبط با تحمل شوری و تجزیه ارتباطی برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک با استفاده از نشانگرهای میکروساتلایت SSR در شرایط آبیاری معمولی و آبیاری تحت تنش شوری کلرید سدیم در میان ژنوتیپ‌های گندم نان انجام شد.

**مواد گیاهی و طرح آزمایشی:** این تحقیق شامل دو مرحله ژنوتایپینگ و فنوتایپینگ انجام گردید و برای این منظور مجموعه‌ای متشکل از ۱۰۵ ژنوتیپ از ارقام متفاوت گندم نان (شامل واریته‌های بومی و اصلاح شده) از موسسه تحقیقات اصلاح بذر و نهال کرج در سال ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید (جدول S1 در فایل جداول مکمل). آزمایش بصورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار و در دو شرایط نرمال (۱۰ mM NaCl) و شور (۱۲۰ mM NaCl) در گلدان‌ها اجرا شد. محلول غذایی نیز مطابق محلول غذایی Hoagland و Arnon (۱۹۵۰) تهیه شد که در دو مرحله رشد، پس از چند برگی شدن گیاهچه‌ها در دسترس گیاهچه‌ها قرار گرفت. جهت اعمال شوری از NaCl استفاده شد و پس از ۴ هفته اعمال تدریجی

#### 1.Linkage disequilibrium

تنش، نمونه‌هایی از بافت برگ‌ها با ترازوی حساس ۰,۰۱ اعشار (KERN PEJ 220-3M) توزین شده و در داخل فویل‌های آلومینیومی جهت سنجش صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد نظر در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد، نگهداری شدند.

**سنجش پروتئین کل:** استخراج پروتئین کل عصاره گیاهی با روش Bradford (۱۹۷۶) انجام پذیرفت؛ به این صورت که ۰/۵ گرم بافت تر گیاهی (ریشه یا برگ) درون هاون سرد (داخل حمام یخ) قرار داده شد. پس از افزودن بافر استخراج، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سائیده شدند و عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در 20000 g (rpm) یا ۳۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ g (rpm) در دمای ۴ درجه سانتی گراد، سانتریفیوژ شده و از عصاره استخراجی، برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی به ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد افزوده شد و پس از گذشت ۲۵ دقیقه، جذب هر نمونه در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانش شد. برای تهیه محلول استاندارد، ۱ گرم سرم آلبومین گاوی در یک لیتر آب مقطر حل شد و از آن به ترتیب غلظت‌های ۰, ۲۵, ۵۰, ۱۰۰, ۲۰۰, ۴۰۰, ۶۰۰, ۷۰۰, ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ساخته شد. در ۱۰ لوله آزمایش به ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت تهیه شده از آلبومین سرم گاوی افزوده شد و پس از ۲۵ دقیقه، جذب در ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Cary 60 UV-Vis spectrophotometer) خوانش شده و منحنی استاندارد رسم گردید و در نهایت غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر محاسبه شد.

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT):** به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸۳) استفاده شد و مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (با اسیدیته ۷) محتوی ۰/۲ میلی‌لیتر H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (۱درصد) و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره

استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش جذب هیدروژن پراکسید طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Cary 60 UV-Vis spectrophotometer) و محاسبه شد (۰,۰۴۳۶ =  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  ضریب خاموشی).

**سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX):** بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با پیگیری میزان اکسیداسیون آسکوربات در ۲۹۰ نانومتر از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده شد. واکنش با افزودن مقادیر مناسب عصاره آنزیمی (۰/۱ میلی‌لیتر) در حجم نهایی ۱ میلی‌لیتر مخلوط واکنش، آغاز گردید. کاهش میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه ثبت شد و میزان فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بر اساس اکسیداسیون آسکوربات، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Cary 60 UV-Vis spectrophotometer) محاسبه گردید.

**انتخاب نشانگرهای مولکولی SSR:** 12 نشانگر SSR (microsatellite) مناسب با (0.025  $\mu\text{mol}$ ) = OD=2 که ژنوم‌های A, B و D گندم نان را پوشش داده بودند، انتخاب شدند و سعی بر این بود که مارکرهایی انتخاب گردند که در شرایط شوری با ژن‌های متحمل، لینکاز بیشتری را نشان داده‌اند. اطلاعات مربوط به مارکرهای مورد استفاده با توالی‌های مشخص (جدول S3 در فایل جداول مکمل)، در سایت‌های [www.gramene.org](http://www.gramene.org) و [www.graingenes.org](http://www.graingenes.org) بدست آمد.

**آنالیز استراکچر (Structure analysis):** جمعیتی بالغ بر ۱۰۰ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از نرم افزار STRUCTURE V2.3.4 بر اساس الگوریتم خوشه بندی Bayesian ارزیابی شد (Pritchard et al., 2003; Falush et al., 2000). به منظور حصول بهینه از تعداد زیرجمعیت‌ها، مقادیر K = 2 تا K = 9 طبق

بعد وارد کردن داده‌ها در اکسل بوده که داده‌ها بر اساس فرمت نرم‌افزار NTSYS- pc Version 2.02 آماده شده و محاسبات طبق نرم افزار انجام گردید. تجزیه رگرسیون چندگانه نیز با استفاده از نرم افزار SPSS برای صفات فیزیولوژیک، انجام شد. در نهایت نشانگرهای شناسایی شده مرتبط با صفات مورد اندازه گیری در شرایط تنش، با QTLهای احتمالی موجود در منابع مقایسه شدند.

### نتایج

تجزیه واریانس مرکب صفات فیزیولوژیک: یک طرح جداگانه برای بلوک و یک طرح برای تنش شوری و مکان‌ها به عنوان شوری در نظر گرفته شد. نتایج تجزیه واریانس مرکب فعالیت آنزیم کاتالاز، نشان داد که ارقام مورد مطالعه گندم از نظر صفت مورد ارزیابی، تفاوت معنی داری در سطح ۰٫۰۱ با میانگین ۰/۰۰۰۸۴ داشتند (جدول ۱) و با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در اندام هوایی ژنوتیپ‌های گندم نان (جدول ۲)، نشان می دهد که ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی داری را با میانگین ۰/۰۲۵۸ نسبت به شاهد با میانگین ۰/۰۳۳۴ دارند. اثر متقابل ژنوتیپ×شوری نیز با میانگین ۰/۰۰۰۶۵ در سطح ۰٫۰۱ تفاوت معنی‌داری را نشان داد. همچنین جدول مربوطه نشان داد که ارقام مورد مطالعه گندم از نظر آسکوربات پراکسیداز، تفاوت

معنی‌داری در سطح ۰٫۰۱ با میانگین ۰٫۰۷۴۳ داشتند (جدول ۱) و با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر شوری بر فعالیت آنزیم APX (جدول ۲)، ژنوتیپ‌ها تحت شرایط شوری اختلاف معنی‌داری را با میانگین ۰٫۰۰۵۳ نسبت به شاهد با میانگین ۰٫۰۴۲۷

جدول S4 (در فایل جداول مکمل) بدست آمد (Darvishzadeh et al 2016). در ادامه، عدم تعادل پیوستگی (LD) با سطح معنی داری ۰٫۰۰۰۱ برای مکان‌های ژنی نشانگر SSR و تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات با استفاده از نرم‌افزار TASSEL(version 2.1) محاسبه شد. همچنین مدل‌های خطی عمومی (GLM) بر اساس ماتریس Q حاصل از STRUCTURE و مدل خطی مختلط (MLM؛ Yu et al., 2011) بر اساس ماتریس Q و ماتریس خویشاوندی، برای محاسبه ارتباط بین نشانگر و صفت استفاده شد.

### آنالیز داده‌ها

جهت شناسایی داده‌های پرت و آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی در نرم‌افزار SAS، مطابق آزمون‌های (Kolmogorov, 1933a; Anderson and Darling, 1952; Von Mises, 1931)، تست نرمالیتی داده‌ها انجام گرفت و برای صفاتی که توزیع اشتباهات آن‌ها نرمال نبود، تبدیل مناسب (جدری، لگاریتمی) روی داده‌های اصلی انجام گرفت. همچنین آماره‌های توصیفی، اجزای واریانس، وراثت پذیری و همبستگی ساده بین صفات در هر یک از شرایط آبیاری معمولی و محدود در نرم افزارهای Minitab و SAS محاسبه شدند. تجزیه واریانس بروش تجزیه مرکب و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و بروش LSD (آزمایش در دو سطح نرمال و شوری) انجام پذیرفت که نتایج مربوط به تنوع ژنتیکی داده‌های مارکری این مطالعه، در گزارش قبلی توسط Farhangian و همکاران (۲۰۲۱) آمده است.

همچنین، امتیاز دهی الگوهای بانندی در هر ردیف آلی به این صورت بود که به نمونه‌های دارای باند، امتیاز یک و بدون باند، امتیاز صفر داده شد. مرحله

نشان دادند. نتایج تجزیه واریانس مرکب محتوای پروتئین کل، نشان داد که ارقام مورد مطالعه گندم از نظر صفت مورد ارزیابی، تفاوت معنی داری در سطح ۰,۰۱ با میانگین ۰,۰۴۳ داشتند (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس مرکب فعالیت کاتالاز، APX و محتوای پروتئین کل ارقام گندم نان تحت تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	MS (CAT)	df	MS (APX)	df	MS (Protein)
شوری	۱	۰,۰۰۸۲**	۱	۰,۲۵۲**	۱	0.126**
تکرار (شوری)	۴	۰,۰۰۰۵۳	۴	۰,۰۰۲۶	۴	۰,۰۱۱۵*
ژنوتیپ	۹۷	۰,۰۰۰۸۴**	۹۹	۰,۰۷۴۳**	۹۹	۰,۰۴۳**
ژنوتیپ × شوری	۵۴	۰,۰۰۰۶۵**	۸۸	۰,۰۴۱۵**	۸۷	۰,۰۴۸**
خطا	۲۹۸	۰,۰۰۰۳۲	۳۶۸	۰,۰۰۰۴	۳۷۰	۰,۰۰۵۳
کل	۴۵۴		۵۶۰		۵۶۱	
ضریب تغییرات (%)	۲۹,۸		۲۶,۵		۱۴,۲	

\* و \*\*، به ترتیب ۰,۰۵ و ۰,۰۱ درصد سطح معنی داری را نشان می دهد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات شوری بر فعالیت کاتالاز، APX و پروتئین کل در ژنوتیپ های گندم نان

صفت	سطح تنش	میانگین
کاتالاز	شاهد	a ۰,۰۳۳۴
	تنش	b ۰,۰۲۵۸
آسکوربات پراکسیداز	شاهد	a ۰,۰۴۲۷
	تنش	b ۰,۰۰۵۳
پروتئین کل	شاهد	a ۰,۰۵۰۱
	تنش	a ۰,۰۵۲۴

حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار با روش LSD می باشد

### تجزیه رگرسیون چند متغیره صفات فیزیولوژیک:

نتایج تجزیه رگرسیون چند متغیره (جدول ۳)، در معرفی نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه، نشان داد که نشانگرهای gwm291c- barc124a- barc212a آبیاری نرمال، نسبت به سایر نشانگرهای مورد مطالعه در این تحقیق، پیوستگی بیشتری با فعالیت کاتالاز در گونه های مورد مطالعه نشان داده اند، بطوریکه این اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی داری نمایش داده شده است. از طرفی نشانگرهای gwm67b و gwm282d در واریته های تحت شوری، پیوستگی بیشتری (در سطح ۰/۰۵ معنی داری) را نسبت به سایر نشانگرها

نشان داده اند. جدول تجزیه رگرسیون (جدول ۳)، ۸ نشانگر ریزماهواره (wm410c- gwm282a-barc68a- barc212a- barc68b-barc68c- gpw2181d) از بین ۱۲ نشانگر مورد ارزیابی را با بیشترین میزان پیوستگی با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط نرمال معرفی نمود و در سطح تنش شوری نیز، سه مارکر gwm291a- wmc73a- barc124a را با آل های مشخص شده در جدول مربوطه، بعنوان موثرترین نشانگرها در پیوستگی با APX معرفی کرد. نشانگر gpw2181b نیز تنها مارکر پیوسته با صفت پروتئین کل برگ ها در شرایط آبیاری نرمال بوده و تحت شرایط تنش شوری نیز، مارکرهای

آگاهی بخش - gwm410c- gwm410d- barc124a-  
 barc212c با بیشترین میزان پیوستگی با صفت مربوطه  
 (پروتئین کل) در جدول آمده‌اند.

جدول ۳: تجزیه رگرسیون چند متغیره و تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات فیزیولوژیکی در گندم نان

صفت	تعداد نشانگر	نشانگرهای SSR مرتبط با صفات و سطح معنی داری آنها
کاتالاز	شاهد ۳	gwm291c*- barc124a*- barc212a*
(تجزیه ۱ میکرومول H2O2 در دقیقه)	شوری ۲	gwm67b*- gwm282d*
آسکوربات پراکسیداز	شاهد ۸	gwm410c*- gwm282a*- barc68a*- barc68b*-barc68c barc212a*- barc212c*- gpw2181d
(تجزیه ۱ میکرومول آسکوربات در دقیقه)	شوری ۳	gwm291a*- wmc73a*- barc124a*
پروتئین کل	شاهد ۱	gpw2181b
(میلی گرم در گرم وزن تر)	شوری ۴	gwm410c*- gwm410d*- barc124a*- barc212c

\* اختلاف معنی دار در سطح ۰,۰۵ بین ژنوتیپ‌های گندم

تجزیه TASSSEL: با استفاده از نرم افزار Tassel، مدل خطی عمومی (GLM) وابسته به مدل Q و برای جلوگیری از ارتباط کاذب نشانگر- صفت مدل خطی مختلط وابسته به مدل K + Q محاسبه شد (سطح ۰/۰۱ درصد). جداول S5 و S6 (در فایل جداول مکمل) ارتباط معنی دار در سطح احتمال ۰,۰۱ بین نشانگرها و صفات مورد مطالعه برای دو مدل را نمایش داده است. بر اساس داده‌های ژنوتایپینگ، عدم تعادل پیوستگی به دست آمد و بار پلات‌های مربوطه در اشکال ۳ تا ۶ بدست آمدند. در این مطالعه، ۵۴ مکان مرتبط با صفات مورد مطالعه در شرایط شاهد و ۶۱ مکان در شرایط شوری بر اساس مدل خطی عمومی (GLM) و همچنین ۳۵ مکان مرتبط در شرایط شاهد و ۲۰ مکان در شرایط شوری بر اساس مدل خطی مختلط (MLM) به دست آمد که در جداول (جداول S5 تا S8 در فایل جداول تکمیلی) بر اساس مدل‌های GLM و MLM ذکر شده‌اند و با توجه به نتایج بدست آمده، تعداد مکان‌های کنترل کننده صفات مورد بررسی در هر دو مدل متفاوت بوده است.

تجزیه ساختار ژنتیکی جمعیت، براساس نشانگرهای مولکولی SSR: تجزیه ساختار جمعیت به روش بی‌زین با استفاده از نرم افزار Structure نشان داد که شاخص K و متوسط لگاریتم لایک لی هود  $[LnP(D)=L(K)]$  بیشترین مقدار را در  $K=2$  با بالاترین Delta K (57.38) دارند، بنابراین به احتمال قوی جمعیت مورد استفاده دارای ۲ زیرساختار یا زیر جمعیت می باشد (جدول S4 در فایل جداول تکمیلی). با توجه به خروجی نرم افزار، تکرار دوم ( $k=2$ ) بیشترین میزان لگاریتم لایک لی هود  $[LnP(D)=L(K)]$  را نشان داد و تعداد ۲ زیر جمعیت با روابط خویشاوندی نزدیک و بر اساس مقادیر پایین قدرمطلق  $LnP(D)$  انتخاب گردید (شکل ۱).

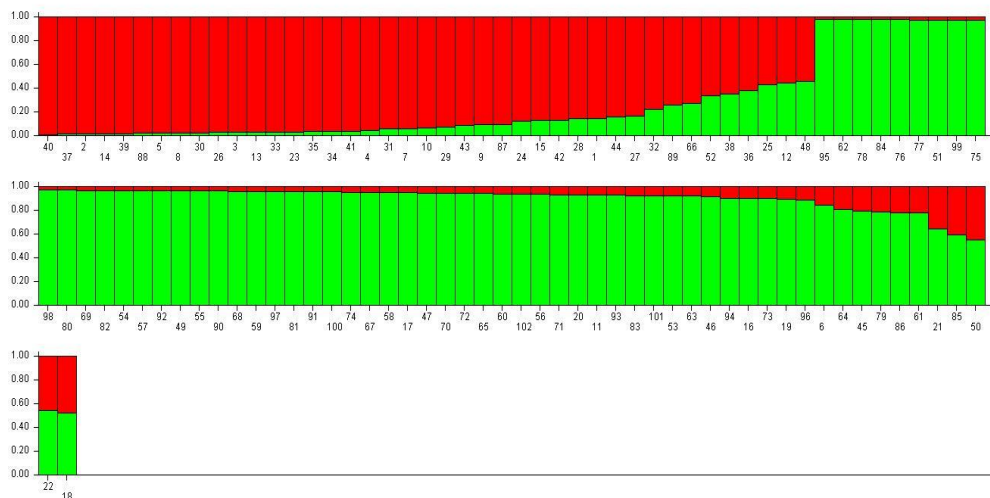
جدول ۴ و نمودارهای ۱ و ۲، درصد عضویت ۱۰۲ ژنوتیپ گندم نان مورد مطالعه را نشان می‌دهد و بر اساس نتایج ارائه شده در این جدول، ژنوتیپ‌ها بر اساس مقدار K به دو گروه تقسیم شدند. نمودار مربوطه نحوه قرارگیری افراد در زیر جمعیت‌های شناسائی شده با نشانگرهای SSR را بصورت گرافیکی نمایش داده است. با توجه به نتایج جدول، در مجموع ۶۰,۱۸ درصد ژنوتیپ‌ها به زیرجمعیت اول و ۱,۸۱ درصد آن‌ها به زیر جمعیت دوم تعلق داشتند.



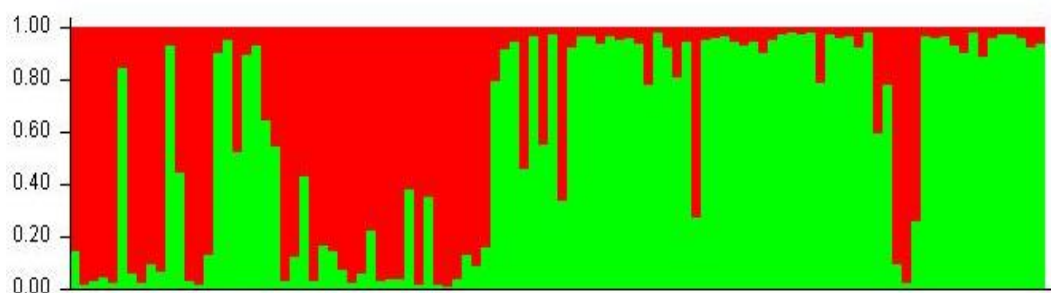
جدول ۴: عضویت ژنوتیپ‌ها در گروه خاص بر اساس نرم افزار STRUCTURE

شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	درصد عضویت (گروه ۱)	درصد عضویت (گروه ۲)	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	درصد عضویت (گروه ۱)	درصد عضویت (گروه ۲)
۱	کوهدشت	۰,۸۵۲	۰,۱۴۸	۵۲	آرتا	۰,۶۲۳	۰,۳۶۷
۲	هشترود	۰,۹۷۷	۰,۰۲۳	۵۳	پیشگام	۰,۰۷۹	۰,۹۲۱
۳	البرز	۰,۹۷	۰,۰۳	۵۴	زارع	۰,۰۳۱	۰,۹۶۹
۴	توس	۰,۹۶	۰,۰۴	۵۵	افق	۰,۰۳۵	۰,۹۶۵
۵	برات	۰,۹۷۲	۰,۰۲۸	۵۶	مهدوی	۰,۰۴۸	۰,۹۵۲
۶	خزرا	۰,۱۴۶	۰,۸۵۴	۵۷	نوید	۰,۰۳۲	۰,۹۶۸
۷	اینیا ۶۶	۰,۹۳۶	۰,۰۶۴	۵۸	پیشتاز	۰,۰۴۶	۰,۹۵۴
۸	هیرمند	۰,۹۷۷	۰,۰۲۳	۵۹	کرج ۱	۰,۰۳۱	۰,۹۶۹
۹	آذر ۲	۰,۹۰۳	۰,۰۹۷	۶۰	کرج ۲	۰,۰۶۲	۰,۹۳۸
۱۰	مهدوی	۰,۹۲۴	۰,۰۷۶	۶۱	کرج ۳	۰,۲۲۴	۰,۷۷۶
۱۱	داراب ۱	۰,۰۶۲	۰,۹۳۸	۶۲	مغان ۲	۰,۰۲۳	۰,۹۷۷
۱۲	تفتان	۰,۵۵۴	۰,۴۴۶	۶۳	زرین	۰,۰۷۳	۰,۹۲۷
۱۳	MV 17	۰,۹۶۹	۰,۰۳۱	۶۴	شیراز	۰,۱۹	۰,۸۱
۱۴	حیدری	۰,۹۷۶	۰,۰۲۴	۶۵	الموت	۰,۰۷۸	۰,۹۲۲
۱۵	نوراستار	۰,۹۱۱	۰,۰۸۹	۶۶	میمه	۰,۷۴۷	۰,۲۵۳
۱۶	پیشگام	۰,۱۵۳	۰,۸۴۷	۶۷	کاسکوژن	۰,۰۴۲	۰,۹۵۸
۱۷	رشید	۰,۰۶۸	۰,۹۳۲	۶۸	الوند	۰,۰۳۶	۰,۹۶۴
۱۸	ستاره	۰,۴۹۳	۰,۵۰۷	۶۹	بهاران	۰,۰۲۵	۰,۹۷۵
۱۹	بزوستایا	۰,۰۹۲	۰,۹۰۸	۷۰	سپاهان	۰,۰۵۲	۰,۹۴۸
۲۰	سیلان	۰,۰۶۹	۰,۹۳۱	۷۱	ارگ	۰,۰۶۳	۰,۹۳۷
۲۱	بیستون	۰,۳۵۱	۰,۶۴۹	۷۲	چمران ۲	۰,۰۶	۰,۹۴
۲۲	مارون	۰,۴۹۷	۰,۵۰۳	۷۳	استار	۰,۱۱۱	۰,۸۸۹
۲۳	صدرا	۰,۹۷۱	۰,۰۲۹	۷۴	سیوند	۰,۰۳۸	۰,۹۶۲
۲۴	رسول	۰,۸۸۳	۰,۱۱۷	۷۵	سیروان	۰,۰۳۶	۰,۹۷۴
۲۵	کریم	۰,۵۸۱	۰,۴۱۹	۷۶	تجن	۰,۰۲۲	۰,۹۷۸
۲۶	امید	۰,۹۶۸	۰,۰۳۲	۷۷	گلستان	۰,۰۲۳	۰,۹۷۷
۲۷	سرخ تخم	۰,۸۵	۰,۱۵	۷۸	پارسی	۰,۰۲۲	۰,۹۷۸
۲۸	DN11	۰,۸۷	۰,۱۳	۷۹	بهار	۰,۲۰۸	۰,۷۹۲
۲۹	گهر	۰,۹۳۲	۰,۰۶۸	۸۰	نیک نژاد	۰,۰۲۸	۰,۹۷۲
۳۰	قابوس	۰,۹۷	۰,۰۳	۸۱	مروودشت	۰,۰۳۷	۰,۹۶۳
۳۱	M-84-17	۰,۹۴۲	۰,۰۵۸	۸۲	دز	۰,۰۲۹	۰,۹۷۱
۳۲	شعله	۰,۷۷۸	۰,۲۲۲	۸۳	داراب ۲	۰,۰۷۵	۰,۹۲۵
۳۳	باران	۰,۹۶۵	۰,۰۳۵	۸۴	مغان ۳	۰,۰۲	۰,۹۸
۳۴	کراس امید	۰,۹۶۵	۰,۰۳۵	۸۵	سایسون	۰,۴۲۵	۰,۵۷۵
۳۵	نارین	۰,۹۶	۰,۰۴	۸۶	اترک	۰,۲۲۵	۰,۷۷۵
۳۶	نیشابور	۰,۶۵۹	۰,۳۴۱	۸۷	افلاک	۰,۹۰۱	۰,۰۹۹
۳۷	مهرگان	۰,۹۸۱	۰,۰۱۹	۸۸	اینیا	۰,۹۸۱	۰,۰۱۹
۳۸	بم	۰,۶۹۲	۰,۳۰۸	۸۹	هامون	۰,۷۶۸	۰,۲۳۲
۳۹	وی ناک	۰,۹۷۷	۰,۰۲۳	۹۰	سرداری	۰,۰۳۳	۰,۹۶۷
۴۰	قدس	۰,۹۸۶	۰,۰۱۴	۹۱	روشن	۰,۰۵۳	۰,۹۴۷
۴۱	آزادی	۰,۹۵۵	۰,۰۴۵	۹۲	آریا	۰,۰۴	۰,۹۶

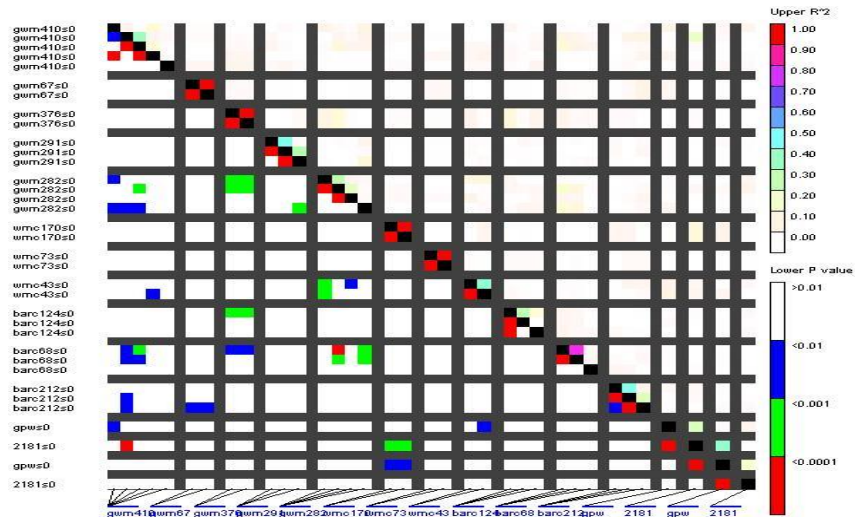
۴۲	چمران ۲	۰,۸۵۴	۰,۱۴۶	۹۳	کرخه	۰,۰۷۲	۰,۹۲۸
۴۳	شوش	۰,۹۱۴	۰,۰۸۶	۹۴	یاواروس	۰,۱۰۱	۰,۸۹۹
۴۴	آروم	۰,۸۲۷	۰,۱۷۳	۹۵	بهرنگ	۰,۰۱۶	۰,۹۸۴
۴۵	افلاک	۰,۲۱۹	۰,۷۸۱	۹۶	شبرنگ	۰,۱۰۵	۰,۸۹۵
۴۶	شیرودی	۰,۰۷۸	۰,۹۲۲	۹۷	دنا	۰,۰۴۲	۰,۹۵۸
۴۷	کویر	۰,۰۴۳	۰,۹۵۷	۹۸	۱۱۳۰۸۹	۰,۰۲۵	۰,۹۷۵
۴۸	مروارید	۰,۴۷۷	۰,۵۲۳	۹۹	۱۱۳۰۷۱	۰,۰۲۸	۰,۹۷۲
۴۹	گنبد	0.032	۰,۹۶۸	۱۰۰	۱۱۳۰۷۶	۰,۰۳۹	۰,۹۶۱
۵۰	دریا	۰,۴۰۷	۰,۵۹۳	۱۰۱	۱۱۳۲۱۹	۰,۰۸۲	۰,۹۱۸
۵۱	سیستان	۰,۰۲۵	۰,۹۷۵	۱۰۲	۱۳۱۰۸۷	۰,۰۵۳	۰,۹۴۷



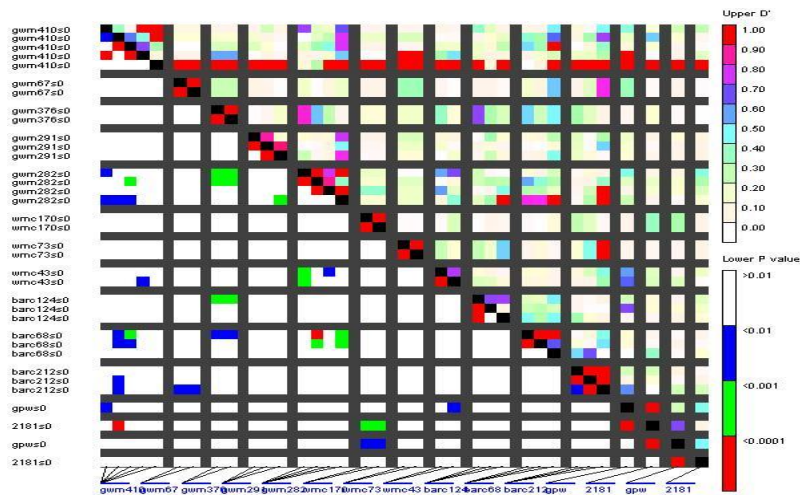
شکل ۱: خویشاوندی ژنتیکی ۱۰۲ ژنوتیپ گندم نان بر اساس نشانگرهای مولکولی SSR، تجزیه شده در نرم افزار Structure. اعداد در محور عمودی ضریب عضویت هر فرد به زیر جمعیتها و اعداد در محور افقی کد ۱۰۲ ژنوتیپ را نشان می دهد. ژنوتیپها با رنگهای یکسان متعلق به یک زیر جمعیت است.



شکل ۲: زیر جمعیتهای شناسایی شده با نشانگرهای SSR با استفاده از نرم افزار Structure (هر رنگ بیانگر یک زیر جمعیت می باشد)



شکل ۳: پلات عدم تعادل پیوستگی (LD PLOT) بر اساس نشانگرهای SSR در شرایط شوری در ژنوتیپ‌های گندم نان. قسمت بالا قطری نشان دهنده میزان عدم تعادل پیوستگی بر اساس آماره  $r^2$  و قسمت پائین قطری، سطح احتمال (P-value) برای جفت نشانگرها را نشان می‌دهد.



شکل ۴: پلات عدم تعادل پیوستگی (LD PLOT) بر اساس نشانگرهای SSR در شرایط شوری در ژنوتیپ‌های گندم نان. قسمت بالا قطری نشان دهنده میزان عدم تعادل پیوستگی بر اساس آماره  $D'$  و قسمت پائین قطری، سطح احتمال (P-value) برای جفت نشانگرها را نشان می‌دهد.

### بحث

صفات فیزیولوژیک: وقوع تنش شوری در برخی گونه‌های مورد مطالعه گندم نان (گونه‌های اصلاح شده و مقاوم به شوری)، سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد، ولی میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز گونه‌های مورد بررسی، در شرایط بدون تنش نسبت

رنگ قرمز عناصر بالای قطر اصلی به معنی عدم تعادل پیوستگی مطلق و رنگ سفید به معنی تعادل پیوستگی است. رنگ قرمز در پایین قطر اصلی معنی داری عدم تعادل پیوستگی در سطح کمتر از ۰,۰۰۰۱ و رنگ سفید معنی داری را در سطح ۰,۰۱ نشان می‌دهد (Darvishzadeh et al., 2016).

گزارش دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش تنش شوری کاهش یافته است. همچنین، اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ده رقم گندم دوروم توسط Kahrizi و همکاران (۲۰۱۲) بررسی شد و نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز تحت تنش شوری، در مقایسه با شاهد کاهش یافته است.

در بررسی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ژنوتیپ‌های تحت آبیاری نرمال با میانگین متفاوتی نسبت به شرایط شوری، اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، ۱۰۲ ژنوتیپ گندم مورد استفاده شامل ارقام مقاوم به شوری، حساس به شوری، ارقام اصلاح شده و بومی بوده و واکنش‌های متفاوتی را نسبت به فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط تنش نشان داده‌اند.

جدول مقایسه میانگین اثر شوری بر محتوای پروتئین برگ‌ها در واریته‌های گندم نشان داد که در شرایط تنش، میزان پروتئین اندوخته سلولی در گونه‌ها افزایش یافته ولی اختلاف معنی‌داری با میانگین پروتئین در شرایط نرمال نداشته است و همسو با نتایج این تحقیق، محققان افزایش میزان پروتئین‌های گندم در شرایط تنش شوری ( Heidari and Mesri, 2008) را گزارش داده‌اند و مغایر با نتیجه این تحقیق در رابطه با ارزیابی پروتئین کل، Ghorbanli و همکاران (۲۰۰۸) کاهش محتوای پروتئین‌های محلول در گیاهان تحت تنش شوری را بر روی گندم سیاه گزارش کردند.

در این مطالعه، برخی گونه‌ها در شرایط شوری میزان پروتئین کمتری را نشان دادند و Dolatshah و همکاران (۲۰۱۵) اعلان کردند که از دلایل کاهش میزان پروتئین در شرایط تنش شوری، کاتابولیسیم شدید و تجمع زیاد پروتئین‌هایی است که وزن مولکولی کم دارند.

به شرایط تنش، بالاتر بود (جدول ۱). احتمال می‌رود با ادامه رشد گونه‌ها در شرایط شوری، اغلب ژنوتیپ‌ها نتوانسته‌اند خسارات ناشی از آن را در حد بالا تحمل کنند و به دلیل ورود به مرحله مرگ سلولی و افت شدید فعالیت آنزیم‌های حیاتی، سرعت فعالیت کاتالاز کاهش یافته است (Navabpour et al., 2004).

در گزارشی دیگر، از کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش گزارش شده است (Prasad et al., 2009) که با نتایج این تحقیق، همسو می‌باشد. از طرفی به دلیل اینکه افزایش گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS) در غلظت‌های بالا برای سلول، زیان آور هستند و تولید این ترکیبات سبب خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشای سلولی می‌شوند، در نتیجه تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز باعث حذف و غیر فعال کردن ROS می‌شود (Bailey, 2004). جدول مقایسه میانگین اثر شوری بر صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه در ارقام گندم (جدول ۲) نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز ژنوتیپ‌های گندم در سطوح شاهد و تنش، اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ داشته و ژنوتیپ‌های تحت آبیاری نرمال یا تنش شوری را از لحاظ میزان فعالیت کاتالاز، در گروه‌های جداگانه ای قرار داد. این نتایج با نتایج تحقیقات kim در مورد ارزیابی کاتالاز تحت تنش شوری جو سازگار است (Kim et al., 2005).

اثرات کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه تحت شوری، در گزارشات متعددی آمده که در مطابقت با نتایج مطالعه حاضر است. به‌طوری‌که Amjad و همکاران (۲۰۰۸) گزارش دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم گندم تحت شوری در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش یافت و اینکه، افزایش غلظت نمک به ۱۵۰ دسی‌زیمنس بر متر اثر کاهشی شدیدتری بر فعالیت آنزیم نشان داده است. Farhoudi و همکاران (۲۰۱۵) نیز، در مطالعه‌ای بر روی چهار رقم کلزا،

## 1. Reactive oxygen species

شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم فیزیولوژیکی در گندم، یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای تسریع در انتقال صفات مطلوب به ارقام دیگر و ردیابی آن‌هاست. قبل از تهیه جمعیت‌های در حال تفرق جهت ردیابی صفات کیفی و صرف وقت و هزینه بالا، می‌توان نشانگرهای دارای ارتباط مناسب با صفات مورد نظر را از طریق تجزیه رگرسیونی شناسایی و از آن نشانگرها به‌عنوان نشانگرهای آگاهی بخش در برنامه‌های اصلاحی گندم استفاده نمود. از طرفی بررسی ارتباط نشانگرها و صفات فیزیولوژیک، نه تنها نقشه یابی ژن‌ها را تسهیل می‌کند، بلکه شناسایی ژن‌هایی را که در نقشه یابی‌های مبتنی بر لینکاژ قابل ردیابی نیستند، را مقدور می‌سازد ( Roy et al., 2006).

نتایج تجزیه رگرسیون چند متغیره (جدول ۳) بین مارکرهای SSR و فعالیت آنزیم کاتالاز ژنوتیپ‌های تحت تنش، نشان داد که از بین نشانگرهای مورد استفاده در این تحقیق، نشانگرهای gwm67 و gwm282 با پارامتر فعالیت کاتالاز همراه بوده و با سطح احتمال ۰,۰۱ درصد، ارتباط معنی داری را با فعالیت کاتالاز در گونه‌های تحت شوری گندم نان نشان دادند که می‌توانند بعنوان شاخص‌های مهم برای توصیف تنوع ژنتیکی تحمل به شوری در نظر گرفته شوند. علاوه بر این، نشانگر gwm که برای تشخیص Nax1 gene استفاده می‌شود و بدنبال حذف سدیم می‌باشد ( Lindsay et al., 2004; Byrt et al., 2007)، ارتباط معنی داری با فعالیت کاتالاز در گونه‌های تحت شوری نشان داد که می‌تواند به دلیل ارتباط این نشانگر با قطعات DNA و ژن‌های خاص تاثیرگذار بر تحمل شوری در گندم نان باشد و این نتایج تایید می‌کند که حذف یون‌های سمی  $Na^+$  و  $Cl^-$  از سلول‌های گیاه، سبب جلوگیری از اثرات منفی آنها بر روی فرایندهای فیزیولوژیک گیاه می‌شود (Al-Ashkar et al., 2020).

تجزیه ارتباط: با در نظر گرفتن مقدار آستانه احتمال عضویت ۰,۲، از کل ۱۰۲ ژنوتیپ گندم نان، ۵۱ ژنوتیپ به ساختار اول (۸۱/۴۱ درصد) و ۵۱ ژنوتیپ به ساختار دوم (۱۸/۶۰ درصد) تعلق داشتند و این نشان دهنده اینست که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، قرابت ژنتیکی تقریباً متوازی بین زیر جمعیت‌ها دارند. نکته‌ای که باید در نظر داشت، اینست که اگر بدون شناسایی ساختار ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه، تجزیه ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات انجام گیرد، منجر به شناسایی روابط کاذب بین نشانگر و QTL خواهد شد. از این رو، تعیین ساختار ژنتیکی در جمعیت‌ها و مجموعه ژرم پلاسماها از اهمیت قابل توجهی برخوردار می‌باشد (Falush et al., 2003). لذا، از نتایج حاصل می‌توان به عنوان اطلاعات مورد نیاز قبل از انجام تجزیه ارتباط برای شناسایی نشانگرهای پیوسته به مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی با استفاده از این مجموعه ژرم پلاسما گندم نان استفاده نمود تا از شناسایی بخشی از پیوستگی‌های کاذب که ممکن است به دلیل تفاوت در ساختار جمعیت باشد، ممانعت به عمل آید.

عضویت ژنوتیپ‌های گندم در دو گروه خویشاوندی ژنتیکی نشان داد که ارقام هشترو، البرز، توس، برات، هیرمند، صدرا، حیدری، بم، وی ناک، امید، نارین، کراس امید، قابوس و MV17 با ۹۷٪ عضویت در گروه اول و ارقام اینیا و قدس نیز با ۹۸٪ سهم عضویت در گروه اول با بیشترین میزان خویشاوندی قرار گرفته‌اند. همچنین ارقام گنبد، سیستان، پیشتاز، گلستان، زارع، افق، زرین، سیروان، سپاهان، تجن، رسول، پارس، نیک نژاد، مرودشت، دز، سرداری و آریا با ۹۷٪ عضویت در گروه دوم و ارقام مغان و بهرنگ نیز با ۹۸٪ سهم در گروه دوم با بیشترین میزان خویشاوندی قرار گرفتند. درواقع این نرم افزار جهت شناسایی زیرجمعیت‌ها با ساختار ژنتیکی متمایز از هم طراحی گردیده و ارقامی که در

شاهد و شوری به طور مجزا بدست آمد. Sahranvard و همکاران (۲۰۱۶) نیز گزارش دادند که در تجزیه ساختار و تنوع ژنتیکی آفتابگردان روغنی براساس نشانگرهای ریزماهوره، ۳۰ مکان ژنی بدست آمد. لازم به ذکر است، کلیه صفات مورد بررسی در این تحقیق، دارای نشانگر مشترک در شرایط نرمال و تنش بوده و شناسایی نشانگرهای مشترک برای صفات بررسی شده در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات باشد (Jun et al., 2007). همچنین شناسایی نشانگرهای مشترک، اهمیت زیادی در به نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش همزمان چند صفت را امکان پذیر می‌سازند (Hittalmani et al., 2003).

#### نتیجه‌گیری کلی

در واقع می‌توان از مجموع اطلاعات صفات مورد مطالعه، به کمک روش‌های آماری چند متغیره و با استفاده از تکنیک تجزیه ارتباطی نشانگر-صفت، در جهت بهبود عملکرد دانه در گندم نان گام‌های محکمی را برداشت و تنوع ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این مطالعه، لازم‌ه انتخاب به نژادگران در برنامه‌های آتی می‌باشد و از آنجائیکه ژنوتایپینگ با تعیین توالی ژن، رشد فزاینده‌ای داشته و به احتمال زیاد دقت تمایز ژنتیکی را افزایش می‌دهد، می‌تواند به انتخاب ژنومی و یا توسعه مارکرهای مربوط به پارامترهای فیزیولوژیکی تحمل شوری کمک شایانی کند.

میزان فعالیت آنزیم‌های کانالاز و آسکوربات پراکسیداز تحت شرایط شوری ۱۲۰ میلی مولار نشان داد که ارقام گندم توس، آذر۲، تفتان، MV17، حیدری، رشید، رسول، گهر، قابوس، مهرگان، بم، شیرودی، زرین، مرودشت، دز، روشن و کویر میزان کاتالاز بیشتری را نسبت به شرایط شاهد نشان داده و

یک گروه قرار می‌گیرند، از لحاظ محتوای ژنتیکی قرابت زیادی با هم داشته و در انتخاب ژرم پلاسما و گزینش ژنوتیپ‌ها با اهداف خاص، بسیار کارآمد هستند.

همگروهی ارقام اصلاحی با ارقام خارجی و نیز حالت اختلاط آنها با ارقام بومی ایرانی می‌تواند به دلیل وجود زمینه ژنتیکی مشترک بین ارقام و نیز جریان ژنی طی انجام برنامه‌های اصلاحی باشد. از آنجاکه تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها به گروه ژنوتیپ‌های مخلوط منتسب شده اند، نشان دهنده وجود اختلاط در جمعیت است. اختلاط در جمعیت‌های گندم می‌تواند ناشی از تلفیق در نمونه‌های بومی از آللهایی از بیش از یک خزانه ژنی منفرد باشد که این امر به دلیل پراکنش گندم از بیش از یک جمعیت اجدادی تکی است (Oliveira et al., 2012) و دلیل دیگر می‌تواند جریان ژنی بین ارقام مختلف باشد که ممکن است در گذشته، از طریق معرفی ژنوتیپ‌های جدید به مزارع اتفاق افتاده باشد؛ همچنین تبادل ژرمپلاسما بین نواحی مختلف مدیترانه‌ای به دلیل توسعه امپراطوری‌های قدیم، دلیل احتمالی دیگر اختلاط مطرح می‌شود (Moragues et al., 2007). با توجه به گروه‌بندی به دست آمده از نرم‌افزار STRUCTURE، اغلب ژنوتیپ‌ها به وسیله منشاء جغرافیایی‌شان از هم تفکیک نشدند و بنابراین هیچ سندی مبنی بر تفکیک جغرافیایی ژنوتیپ‌ها در گروه بندی یافت نشد. این نتایج نشان می‌دهد که روابط بین ژنوتیپ‌ها به شدت به وسیله تنوع درونی هر منطقه جغرافیایی متاثر می‌شود؛ در نتیجه کشورها یا مناطقی که تنوع نسبتاً زیادی دارند، به آسانی گروه‌بندی نمی‌شوند، چون فاصله ژنتیکی‌شان زیاد است.

در پلات عدم تعادل پیوستگی، مکان‌های ژنی متفاوتی بر اساس داده‌های ژنوتیپی تحت شرایط شاهد و شوری بدست آمد و ماتریس عدم تعادل پیوستگی نیز بر اساس نشانگرهای SSR در شرایط

از آنجایی که تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما مورد مطالعه، یکی از عوامل مؤثر بر درجه وضوح و قدرت تکنیک مکان یابی ارتباطی در کالبد شکافی اساس ژنتیکی صفات می باشد (Dixit et al., 2012)، لازم است نشانگرهای شناسایی شده در چنین مطالعاتی در جمعیت‌های بزرگ با تنوع ژنتیکی بالا نیز مورد بررسی قرار گیرند تا از ارتباط آنها با صفات مورد مطالعه اطمینان حاصل شود و نقشه یابی دقیق آنها می‌توانند برای انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های اصلاح گندم نان استفاده شوند و از این طریق منجر به تسریع و کارایی بیشتر اصلاحی شوند.

می‌توان گفت که متحمل‌تر بوده‌اند. از طرفی ارقام استار، افلاک، صدرا و نیک نژاد نیز حساسیت بالایی را نسبت به شوری نشان داده و میانگین کاتالاز کمتری نسبت به شاهد نشان دادند. همچنین تحت شرایط شوری، میزان فعالیت آنزیم APX در ارقام اترک، مهدوی، تفتان، امید، کراس امید، چمران ۲، شیرودی نسبت به شاهد عدد بزرگتری را در مقایسه با ارقام کوهدشت، هشترو، البرز، افلاک، برات، خزر، بیستون و الوند، نشان داد. در این میان، جهت پژوهش‌های آتی می‌توان از برتری این ارقام در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.

## References

1. Acosta-Motos, J.R., Ortuño, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J. and Hernandez, J.A. (2017). Plant Responses to Salt Stress: Adaptive Mechanisms. *Agronomy*, 7:18.
2. Aebi, H. (1983). In "Methods of Enzymatic Analysis" (H.U. Bergmeyer, ed.), 3rd Ed. Verlag Chemic, Weinheim, F. R. G., in preparation.
3. Ahmad, M., Shahzad, A., Iqbal, M., Asif, M. and Hirani, A.H. (2013). Morphological and molecular genetic variation in wheat for salinity tolerance at germination and early seedling stage. *Australian Journal of Crop Science*. 7(1): 66-74.
4. Al-Ashkar, I., Alderfasi, A., Ben Romdhane, W., Seleiman, M.F., El-Said, R.A. and Al-Doss, A. (2020). "Morphological and Genetic Diversity within Salt Tolerance Detection in Eighteen Wheat Genotypes" *Plants* 9, 3: 287. <https://doi.org/10.3390/plants9030287>
5. Al-jebory, E.I. (2012). Effect of water stress on carbohydrate metabolism during *Pisum sativum* seedlings growth. *Euphrates Journal of Agriculture Science*. 4: 1-12.
6. Anderson, T.W. and Darling, D.A. (1952). Asymptotic theory of certain goodness of fit criteria based on stochastic processes. *Ann. Math. Statist.*, 23. 193-212.
7. Anwar, J., Ali, M.A., Hussain, M., Sabir, W., Khan, M.A., Zulkiffal, A. and Abdullah, M. (2009). Assessment of yield criteria in bread wheat through correlation and path analysis; *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 19(4): 185-188.
8. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*. 14: 93- 107.
9. Bradbury, P., Zhang, Zh., Kroon, D., Casstevens, T., Ramdoss, Y. and Buckler, E. (2007). TASSEL: Software for Association Mapping of Complex Traits in Diverse Samples. *Bioinformatics* (Oxford, England). 23. 2633-5. 10.1093/bioinformatics/btm308.
10. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254. 1976.
11. Byrt, C.S., Platten, J.D., Spielmeier, W., James, R.A., Lagudah, E.S., Dennis, E.S., Tester, M. and Munns, R. (2007). HKT1; 5-like cation transporters linked to Na<sup>+</sup> exclusion loci in wheat, Nax2 and Kna1. *Plant Physiology*. 143: 1918-1928.
12. Caldwell, K.S., Russell, J., Langridge, P and Powell, W. (2006). Extreme population-dependent linkage

- disequilibrium detected in an inbreeding plant species, *Hordeum vulgare*. *Genetics*. 172: 557-567.
13. **Darvishzadeh, R., Jannatdoust, M. and Azizi, H. (2016)**. Association Mapping of Quantitative Traits. Urmia University.
  14. **Dixit, S. Swamy, B.P.M. Vikram, P. Ahmed, H.U. Sta Cruz, M.T. Amante, M. Atri, D. Leung, H. and Kumar, A. (2012)**. Fine mapping of QTLs for rice grain yield under drought reveals sub-QTLs conferring a response to variable drought severities. *Theoretical and Applied Genetics*, 125: 155-169.
  15. **Dresselhaus, T., Hückelhoven, R. (2018)**. Biotic and Abiotic Stress Responses in Crop Plants. *Agronomy*. 8:267.
  16. **Falush, D., Stephens, M. and Pritchard, J.K. (2003)**. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*. 164: 1567-1587.
  17. **Farhangian-kashani, S., Azadi, A., Khaghani, Sh., Changizi, M. and Gomarian, M. (2021)**. Association analysis and evaluation of genetic diversity in wheat genotypes using SSR markers. *Biologia futura*, 88:1-12. <https://doi.org/10.1007/s42977-021-00088-y>.
  18. **Ghorbanli, M., Hasheminiya, A. and Peyvandi, M. (2008)**. The effects of ascorbic acid on salt stress on some physiological responses nigella. *Medicinal Plant Research*. 26(3): 370-388. (In Persian).
  19. **Heidari, M. and Mesri, F. (2010)**. Studying the effects of different salinity levels on physiological reactions and sodium and potassium uptake in wheat. *Environmental Stresses in Crop Sciences (ESCS)*. 3(1): 83-94.
  20. **Hittalmani, S., Huang, N., Courtois, B., Venuprasad, R., McLaren, G. and Khush, G. (2003)**. Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 679-690.
  21. **Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. (1950)**. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. California Agricultural Experiment Station, Circular-347.
  22. **Jun, T.H., Van, K., Kim, M.Y., Lee, S.H. and Walker, D.R. (2008)**. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. *Euphytica*. 62: 179-191.
  23. **Kabiri, R. and Nasibi, F. (2014)**. Farahbakhsh, H. Effect of Exogenous Salicylic Acid on Some Physiological Parameters and Alleviation of Drought Stress in *Nigella sativa* Plant under Hydroponic Culture. *Plant Protection*. 50: 43-51. [CrossRef].
  24. **Kahrizi, S., Sedghi, M. and Sofalian, O. (2012)**. Effect of salt stress on proline and activity of antioxidant enzymes in ten durum wheat cultivars. *Scholars Research Library*. 3 (8): 3870-3874.
  25. **Kim, S.Y., Lim, J.H., Park, M.R., Kim, Y.J., Park, T., Seo, Y.W., Choi, K.G. and Yun, S.J. (2005)**. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 38(2): 218-22.
  26. **Kolmogorov, A. (1933a)**. Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione, 1st. *Ital. Attuari. G.* 4: 1-11.
  27. **Lindsay, M.P., Lagudah, E.S., Hare, R.A., Munns, R. (2004)**. A locus for sodium exclusion (Nax1), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. *Funct. Plant Biology*. 31: 1105-1114.
  28. **Mba, C., Afza, R., Jain, S.M., Gregorio, G.B. and Zapata-Arias, F.J. (2007)**. Induced mutations for enhancing salinity tolerance in rice. In *Advances in Molecular Breeding toward Drought and Salt Tolerant Crops*, pp. 413-454.
  29. **Meng, H.B., Jiang, S.S., Hua, S.J., Lin, X.Y., Li, Y.L., Guo, W.L. and Jiang, L.X. (2011)**. Comparison Between a Tetraploid Turnip and Its Diploid Progenitor (*Brassica rapa* L.): The Adaptation to Salinity Stress. *Journal of Agricultural Science*. 10: 363-375.
  30. **Moragues, M., Moralejo, M. A., Sorrells, M. E and Royo, C. (2007)**. Dispersal of durum wheat landraces across the Mediterranean basin assessed by AFLPs and microsatellites. *Genetic*



- Resources and Crop Evolution. 54:1133–1144.
31. **Nakano, Y. and Asada, K. (1981).** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867–880.
  32. **Navabpour, S., Morris, K., Allen, R., Harrison, E., Mackerness, A.H., Buchanan, S. and Wollaston, V. (2004).** Molecular and biochemical analyses of oxidative stress and leaf senescence. *Imperial College of Science, Technology and Medicine at Wye University of London*. 55-56.
  33. **Noman, A., Ali, Q., Naseem, J., Javed, M.T., Kanwal, H., Islam, W., Aqeel, M., Khalid, N. and Zafar, S. Tayyeb, M. (2018).** Sugar beet extract acts as a natural bio-stimulant for physio-biochemical attributes in water stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiology Plant*. 40, 110. [CrossRef].
  34. **Oliveira, A.M., Hemstedt, T.J. and Bading, H. (2012).** Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nature Neuroscience*. 15: 1111–1113.
  35. **Oyiga, B.C., Sharma, R.C., Shen, J., Baum, M., Ogbonnaya, F.C., Léon, J. and Ballvora, A. (2016).** Identification and Characterization of Salt Tolerance of Wheat Germplasm Using a Multivariable Screening Approach. *J. Agron. Sci*. 202: 472–485.
  36. **Parida, K.P. and Das, A.B. (2005).** Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60:324–349.
  37. **Prasad, M., Varshney, R.K., Roy, J.K., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. (2009).** The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 584-592.
  38. **Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P. (2000).** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 155: 945–959.
  39. **Randhawa, H.S., Asif, M., Pozniak, C., Clarke, J.M., Graf, R.J., Fox, S.L., Humphreys, D.G., Knox, R.E., DePauw, R.M., Singh, A.K. and Cuthbert, R.D. (2013).** Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breed*. 132:458–71.
  40. **Roy, J.K., Bandopadhyay, R., Rustgi, S., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. (2006).** Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*. 90: 5-10.
  41. **Sara, K., Abbaspour, H., Sinaki, J.M. and Makarian, H. (2012).** Effects of Water Deficit and Chitosan Spraying on Osmotic Adjustment and Soluble Protein of Cultivars Castor Bean (*Ricinus communis* L.) *J. Stress Physiology Biochemistry*. 8: 160–169.
  42. **Saeed, M., Wangzhen, G., and Tianzhen, Z. (2014).** Association mapping for salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) germplasm from US and diverse regions of China. *Australian Journal of Crop Science*. 8(3): 338–346.
  43. **Szegletes, Z., Erdei, L., Tari, I. and Cseuz, L. (2000).** Accumulation of osmoprotectants in wheat cultivars of different drought tolerance. *Cereal Research Communications*. 28, 403–410. <https://doi.org/10.1007/BF03543622>
  44. **Varshney, R.K., Graner, A. and Sorrells, M.E. (2005).** Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnology*. 23(1):48-55. doi: 10.1016/j.tibtech.2004.11.005
  45. **Von Mises, R. (1931).** Vorlesungen aus dem Gebiete der Angewandten Mathematik; 1. Bd.: Wahrscheinlichkeitsrechnung und ihre Anwendung in der Statistik und theoretischen Physik. Deuticke, Leipzig-Wien.
  46. **Yu, L.X., Lorenz, A., Rutkoski, J., Singh, R.P., Bhavani, S., Huerta-Espino, J., Sorrells, M.E. (2011).** Association mapping and gene-gene interaction for stem rust resistance in CIMMYT spring wheat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*. 123:1257–1268.