



University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research

Vol. 12, No. 3, Autumn 2022 (241-261)

doi: 10.22124/CR.2023.23450.1750

pISSN: 2252-0163 eISSN: 2538-6115



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Identification of microsatellite markers associated with genomic regions controlling yield and pheno-physiological traits in bread wheat accessions and cultivars under different moisture conditions

Fatemeh Bavandpouri ^{1*}, Ezatollah Farshadfar ² and Mohsen Farshadfar ³

1. Ph.D. Graduate, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran (* Corresponding author: f.bavandpori@yahoo.com)
2. Professor, Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran
3. Associate Professor, Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

Comprehensive abstract

Introduction

Wheat is one of the most stable crop in the world, and drought stress is one of the major environmental factors that reduce agricultural products. Evaluation of genetic diversity in plant breeding program is the main basis for development and achieving self-sufficiency in the agricultural product. The objective of this experiment was to investigate the association between microsatellite markers and genomic regions controlling yield, physiological, and phenological traits in 23 accessions and two cultivars of bread wheat, as well as to evaluate the genetic diversity of the studied population in term of yield, physiological and phenological traits, and microsatellite markers under rainfed and irrigation conditions.

Materials and methods

A field experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications under rainfed and irrigation conditions in the research field of Razi University, Kermanshah, Iran, in 2016-2017. Grain yield, 15 physiological traits and six phenological traits were measured. Twenty microsatellite markers were used for molecular evaluation of the studied genotypes. Genomic DNA was extracted as bulk from 2-3 weeks old seedlings by modified CTAB method. To determine the quality and quantity of the extracted DNA, electrophoresis on 0.8% agarose gel was used. Finally, the association between microsatellite markers, yield, physiological and phenological traits in rainfed and irrigated conditions was calculated using stepwise regression analysis by SPSS23 software.

Research findings

Analysis of variance showed that there was a significant difference between the accessions for most of the traits studied. Sixteen out of twenty markers had detectable polymorphisms. The XCFD168-2D, XGWM350-7D and XGWM136-1A primers were the most suitable primers for subsequent studies. Association analysis by stepwise regression showed that in rainfed and irrigation conditions, markers XGWM350 (a_3) and XGWM334 (a_1) were common for physiological traits and markers XGWM642 (a_1), XGWM350 (a_1), and XCFD168 (a_1) were common for phenological traits. The XGWM410 (a_1) marker on yield, physiological and phenological traits in both conditions; XGWM265 (a_1) marker on yield and physiological traits in irrigation conditions and phenological traits in both conditions; XGWM124 (a_2) marker on yield and some physiological traits in rainfed conditions and phenological traits in both conditions; XGWM165 (a_1) marker on physiological and phenological traits in rainfed conditions, and XGWM577 (a_2) markers on grain yield and physiological traits in irrigation conditions and some phenological traits in rainfed conditions were jointly related. In



addition, the most positive markers in rainfed conditions are related to the trait of rate of filling seed, and in irrigated conditions, respectively, they are related to grain yield, water use efficiency, rate of filling seed, relative water content, and days to physiological maturity traits.

Conclusion

According to the evaluation of the genetic diversity of primers XCFD168-2D, XGWM350-7D and XGWM136-1A, the most suitable primers for wheat were introduced in subsequent studies. Based on the association analysis, most of the markers produced by the primers used in this research had a high significant associated with the studied traits, and by using these primers, which have the ability to reproduce informative loci, plants can be screened at the seedling stage. Furthermore, The microsatellite primers linked to traits are suggested in marker assisted selection breeding programs to identify suitable parents for constructing mapping populations and producing new varieties.

Keywords: Association analysis, Phenological and physiological traits, Microsatellite primer, *Triticum aestivum* L.

Received: April 30, 2022

Accepted: October 26, 2022

Cite this article:

Bavandpouri, F., Farshadfar, E. and Farshadfar, M. 2023. Identification of microsatellite markers associated with genomic regions controlling yield and pheno-physiological traits in bread wheat accessions and cultivars under different moisture conditions. *Cereal Research*, 12(3), pp. 241-261.



شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با نواحی ژنومی کنترل کننده عملکرد و صفات فنوفیزیولوژیک در توده‌ها و ارقام گندم نان تحت شرایط متفاوت رطوبتی

فاطمه باوندپوری^{۱*}، عزت‌اله فرشادفر^۲ و محسن فرشادفر^۳

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

(* نویسنده مسئول: f.bavandpori@yahoo.com)

۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۳- دانشیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده جامع

مقدمه: گندم یکی از اصلی‌ترین گیاهان زراعی جهان است و تنش خشکی نیز از عمده‌ترین عوامل محیطی کاهش محصولات کشاورزی است. ارزیابی تنوع ژنتیکی در فعالیت‌های به‌زادگی، پایه اصلی پیشرفت و دستیابی به خودکفایی در بخش کشاورزی است. این آزمایش به‌منظور بررسی ارتباط نشانگرهای ریزماهواره، با نواحی ژنومی کنترل کننده عملکرد، صفات فنوفیزیولوژیک و فنولوژیک در ۲۳ توده و دو رقم گندم نان و همچنین ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه از نظر عملکرد، صفات فنوفیزیولوژیک، فنولوژیک و نشانگرهای ریزماهواره تحت شرایط دیم و آبیاری انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت دو شرایط دیم و آبیاری نرمال در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه رازی اجرا شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل عملکرد دانه، ۱۵ صفت فنوفیزیولوژیک و ۶ صفت فنولوژیک بودند. به‌منظور ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از ۲۰ جفت نشانگر ریزماهواره استفاده شد. DNA ژنومی از گیاهچه‌های دو تا سه هفته‌ای حاصل از کشت بذرها با روش CTAB تغییر یافته و به‌صورت بالک استخراج شد. جهت تعیین کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده از روش الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده شد. در نهایت رابطه بین نشانگرهای ریزماهواره، عملکرد، صفات فنوفیزیولوژیک و فنولوژیک در شرایط دیم و آبیاری با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام توسط نرم‌افزار SPSS23 بررسی شد.

یافته‌های تحقیق: تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین توده‌ها برای بیشتر صفات مورد مطالعه وجود داشت. در ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌ها با استفاده از ۲۰ جفت نشانگر ریزماهواره، ۱۶ ترکیب آغازگری چندشکلی مناسبی داشتند. آغازگرهای XCFD168-2D، XGWM350-7D و XGWM136-1A مناسب‌ترین آغازگرها برای گندم در مطالعات بعدی معرفی شدند. نتایج تجزیه ارتباطی به وسیله رگرسیون گام به گام نشان داد در هر دو شرایط دیم و آبیاری، نشانگرهای XGWM350 (a₃) و XGWM334 (a₁) در مورد صفات فنوفیزیولوژیک و نشانگرهای XGWM642 (a₁)، XGWM350 (a₁) و XCFD168 (a₁) در مورد صفات فنولوژیک مشترک بودند. نشانگر XGWM410 (a₁) در مورد عملکرد، صفات فنوفیزیولوژیک و فنولوژیک در هر دو شرایط؛ نشانگر XGWM265 (a₁) در مورد عملکرد و صفات فنوفیزیولوژیک در شرایط آبیاری و صفات فنولوژیک در هر دو شرایط؛ نشانگر XGWM124 (a₂) در مورد عملکرد و برخی صفات فنوفیزیولوژیک در شرایط دیم و صفات

فنولوژیک در هر دو شرایط؛ نشانگر XGWM165 (a₁) در مورد صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک در شرایط دیم و نشانگر XGWM577 (a₂) در مورد عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک در شرایط آبیاری و برخی صفات فنولوژیک در شرایط دیم به طور مشترک دارای ارتباط بودند. در ضمن بیشترین نشانگرهای مثبت در شرایط دیم مربوط به صفت سرعت پر شدن دانه و در شرایط آبیاری به ترتیب مربوط به صفات عملکرد دانه، کارایی مصرف آب، سرعت پر شدن دانه، محتوی آب نسبی برگ و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک می باشد.

نتیجه گیری: با توجه به ارزیابی تنوع ژنتیکی، آغازگرهای XCFD168-2D، XGWM350-7D و XGWM136-1A، مناسب ترین آغازگرها برای گندم در مطالعات بعدی معرفی می شوند. نتایج تجزیه ارتباطی نیز نشان داد که بیش تر نشانگرهای تولیدی توسط آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش دارای ارتباط معنی دار بالایی با صفات مورد مطالعه بودند. با استفاده از این آغازگرها که توانایی تکثیر مکان های ژنی آگاهی بخش را دارند، می توان گیاهان را در مرحله گیاهچه ای غربالگری کرد. از طرف دیگر، آغازگرهای ریزماهواره پیوسته با صفات، در برنامه های اصلاحی گزینش به کمک نشانگر به منظور شناسایی والدین مناسب جهت تهیه جمعیت های نقشه یابی و تولید ارقام جدید پیشنهاد می شوند.

واژه های کلیدی: آغازگر ریزماهواره، تجزیه ارتباطی، صفات فنولوژیک و فیزیولوژیک، *Triticum aestivum* L.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۴

نحوه استناد به این مقاله:

باوندپوری، فاطمه، فرشادفر، عزتاله و فرشادفر، محسن. ۱۴۰۱. شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با نواحی ژنومی کنترل کننده عملکرد و صفات فنوفیزیولوژیک در توده ها و ارقام گندم نان تحت شرایط متفاوت رطوبتی. *تحقیقات غلات*، ۱۲(۳): ۲۶۱-۲۴۱.

مقدمه

گندم با نام علمی (*Triticum aestivum* L.) گیاهی یک‌ساله و خودگشن، از خانواده گندمیان و دارای سه گروه ۱۴، ۲۸ و ۴۲ کروموزومی با فرمول ژنومی AA، AABB و AABBDD و می‌باشد که کروموزوم‌ها در سه ژنوم هومیولوگ A، B و D قرار گرفته‌اند. این گیاه به‌عنوان مهم‌ترین محصول زراعی در جهان و ایران و از جمله محصولات اساسی و استراتژیک است (Zergani *et al.*, 2015). تنش خشکی یکی از پیچیده‌ترین تنش‌های غیرزنده در مقیاس جهانی به‌شمار می‌رود که رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مطابق با تغییرات آب و هوایی و به‌طور شتابان در حال افزایش در مناطق خشک است (Nahas *et al.*, 2020). صفاتی که منجر به افزایش تحمل به خشکی در گیاهان می‌شوند، دارای اهمیت زیادی هستند (Tardieu, 2012). صفات فیزیولوژیک اهمیت حیاتی در بقا و سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی دارند. از این‌رو، توجه به شاخص‌های فیزیولوژیک و بررسی ارتباط آن‌ها با فرایند تحمل به خشکی در گیاه، یکی از جنبه‌های مهم مقاومت به خشکی در گیاهان و از اهداف این مطالعه به‌حساب می‌آید، زیرا تنش خشکی اثر بارز و اغلب کاهنده بر بیشتر صفات فیزیولوژیک دارد (Abdolshahi *et al.*, 2013; Soleimani *et al.*, 2014; Farshadfar, 2018; Karimi Dastgerdi *et al.*, 2020).

وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین صفات فیزیولوژیک و مرفولوژیک در جمعیت‌های مختلف، همبستگی آنها با عملکرد دانه و وراثت‌پذیری بالا سبب می‌شود که بتوان از آن‌ها به‌عنوان شاخص‌های گزینش در کنار روش‌های نوین مولکولی در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر استفاده کرد (Pireivatioum *et al.*, 2010). برای افزایش پیشرفت ژنتیکی در عملکرد گندم نان، اصلاح‌کنندگان به‌دنبال ژرم‌پلاسم با تنوع ژنتیکی بالا هستند که یکی از آنها توده‌های بومی است (Al-Naggar *et al.*, 2020). استفاده از نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بسیار شایع بوده و به ما در فهم اساس مولکولی تحمل به خشکی کمک می‌کنند (Mir *et al.*, 2012). از جمله این نشانگرها، توالی‌های ساده تکراری (Simple Sequence Repeat, SSR) هستند که به‌علت داشتن سطح بالایی از چندشکلی، وراثت هم‌بارز و توزیع یکسان در ژنوم گندم، به‌طور وسیعی در گندم مورد استفاده قرار می‌گیرند

(Mirdrikvand *et al.*, 2015). شناسایی ارتباط نشانگر- صفت نقش تأثیرگذاری در برنامه‌های اصلاحی MAS/QTL گیاهان، به‌ویژه زمانی که هیچ اطلاعات ژنتیکی دیگری مانند نقشه‌های پیوستگی و مکان صفات کمی در دسترس نباشد، ایفا می‌کند (Ruan, 2010). تجزیه ارتباط به‌منظور شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفت، ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ افراد مورد مطالعه استفاده می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2002). استفاده از پیوستگی بین نشانگرهای مولکولی و ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی، فرآیند اصلاح نباتات را تسریع کرده است، به‌طوری که به‌جای ارزیابی صفات، گزینش غیرمستقیم به‌کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (Abdollahi Mandoulakani and Azizi, 2014). استفاده از حداکثر درست‌نمایی (Maximum Likelihood) برای تشخیص جایگاه‌های صفات کمی (Quantitative Trait Locus) از طریق پیوستگی آن‌ها با نشانگرهای مولکولی توصیه شده است. با این‌حال، مدل‌های رگرسیون خطی نیز پیشنهاد شده‌اند که شبیه به ML عمل می‌کنند، در حالی که بسیاری از ویژگی‌های مفید رگرسیون را حفظ می‌کنند و می‌توانند در برخی شرایط بهتر از ML باشند و این گونه استدلال می‌شود که این رویکرد در حال حاضر روشی ارزشمند است و در آینده نیز چنین خواهد ماند (Knott, 2005). چون تهیه جمعیت‌های در حال تفرق وقت‌گیر و پرهزینه است، اگر بتوان قبل از تهیه این جمعیت‌ها، نشانگرهای دارای ارتباط مناسب با صفات مورد نظر را از طریق تجزیه رگرسیونی شناسایی کرد می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش استفاده کرد (Ranjbar *et al.*, 2009).

تجزیه رگرسیون چندمتغیره (Multiple regression analysis) بر پایه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات ریخت‌شناسی روش مناسبی برای شناسایی نشانگرهای وابسته به صفت می‌باشد. در مطالعه روی ۲۰ رقم گندم نان به کمک ۱۲ جفت آغازگر ریزماهوره و تجزیه ارتباطی برای صفات فیزیولوژیک با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام، ارتباط معنی‌دار دو نشانگر با پنج صفت فیزیولوژیک در دمای شاهد و شش نشانگر با پنج صفت تحت تنش شدید سرما گزارش شد (Mohammadi *et al.*, 2015). در بررسی ارتباط بین شاخص‌های مقاومت به خشکی و پارامترهای پایداری در

دانه تحت شرایط دیم و آبیاری ارزیابی شد. همچنین، تنوع مولکولی توده‌های گندم مورد نظر بر اساس نشانگرهای ریزماهواره (SSR) مورد مطالعه قرار گرفت. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تنوع موجود در توده‌ها و نیز بررسی رابطه بین نشانگرهای ریزماهواره با صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد و شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط با هر یک از صفات مورد بررسی تحت شرایط دیم و آبیاری جهت استفاده در برنامه‌های آینده بود.

مواد و روش‌ها آزمایش مزرعه‌ای

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل دو رقم پیش‌تاز و پیش‌گام (شاهد) و ۲۳ توده گندم نان زمستانه بود (جدول ۱)، که توده‌ها از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ تحت دو شرایط دیم و آبیاری در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه رازی کرمانشاه با طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه، عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه و با ارتفاع ۱۳۱۹ متر از سطح دریا اجرا شد. وضعیت آب و هوایی منطقه با توجه به وجود رشته کوه‌های زاگرس شمالی، سرد معتدل با متوسط بارندگی ۴۸۰-۴۵۰ میلی‌متر و متوسط دمای سالیانه ۱۳/۳ درجه سلسیوس است. بافت خاک مزرعه آزمایشی، سیلتی-رسی و میزان بارندگی در سال ۹۶-۱۳۹۵ ۴۰۱/۵۱ میلی‌متر بود. هر کرت شامل پنج خط دو متری با فاصله خطوط ۲۳ سانتی‌متر و تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع بود. تحت شرایط دیم و آبیاری، اولین آبیاری پس از کاشت (۹۵/۰۸/۲۴) به‌عنوان تاریخ کشت در نظر گرفته شد. علاوه بر این تحت شرایط آبیاری، سه مرتبه آبیاری با روش غرقابی به‌ترتیب در تاریخ ۲۵ اردیبهشت ۱۳۹۶ در مرحله ۵۰ درصد سنبله‌دهی، در تاریخ اوایل خرداد ماه بعد از مرحله سنبله‌دهی کامل و در تاریخ ۱۵ خرداد ماه در مرحله شیری شدن دانه‌ها انجام شد، اما تحت شرایط دیم در تمام طول دوره رشد هیچ‌گونه آبیاری انجام نشد. اندازه‌گیری صفات پس از آخرین آبیاری و در مرحله رشد دانه‌ها با توجه به وضعیت ظاهری توده‌های مورد بررسی در شرایط دیم و آبیاری انجام شد. برداشت در اوایل تیر ماه ۱۳۹۶ انجام شد. صفات مورد مطالعه شامل عملکرد

گندم نان با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام این نتیجه حاصل گردید که ۱۸ آغازگر مورد استفاده، ۹۲ مکان در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان تولید نمود و اکثر آغازگرهای مورد استفاده با صفات مورد مطالعه مرتبط بودند (Yaghotipoor *et al.*, 2016). در آزمایشی، ارتباط نشانگرهای ریزماهواره با برخی صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در تعداد ۳۴ رقم برنج بومی و اصلاح شده با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام، ارزیابی و با توجه به ارتباط بالای نشانگرها و صفات، پویس در نواحی کروموزومی مجاور آنها جهت شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده این صفات پیشنهاد شد (Nikzade Talebi *et al.*, 2016). در تحقیقی ارتباط نشانگرهای پیوسته با QTL‌های مرتبط با تحمل به خشکی در تعدادی از لاین‌ها و ارقام برنج با استفاده از نشانگر ریزماهواره بررسی شد. رابطه بین هر کدام از صفات ثبت شده با نشانگرهای SSR (Simple Sequence Repeat) با استفاده از تجزیه رگرسیون نشان داد که در شرایط نرمال تعداد خوشه و تعداد روز تا گلدهی و در شرایط تنش خشکی وزن خوشه با بیش‌ترین نشانگرهای مثبت ارتباط داشتند (Gholizadeh Seresti *et al.*, 2020). در ارزیابی تحمل به شوری ۱۸ ژنوتیپ گندم، ارتباط بین نشانگرهای SSR با صفات مرفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی بر اساس تجزیه رگرسیون گام به گام، بررسی شد. نتایج این آزمایش، اهمیت ماده خشک ریشه، تورژانس نسبی و نسبت ماده خشک ریشه به اندام هوایی را در اصلاح و بهبود تحمل به شوری ژنوتیپ‌های گندم در برنامه‌های اصلاحی نشان داد. همچنین از ۲۳ نشانگر SSR دارای چند شکلی، ۱۷ نشانگر تقریباً با تمام صفات بررسی شده ارتباط معنی‌داری داشتند (Al-Ashkar *et al.*, 2020). در تحقیقی به بررسی تنوع مولکولی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گندم نان و گونه‌های وحشی آن تحت شرایط تنش کمبود آب پرداخته شد. نتایج حاصل از تجزیه ارتباط نشان داد که تحت شرایط بدون تنش و تنش کمبود آب، به ترتیب ۲۸ و ۲۷ ارتباط نشانگر-صفت (MTAs) معنی‌دار شناسایی شد. علاوه بر این، ۱۰ MTA، بیان پایدار و معنی‌داری در هر دو شرایط رشد نشان دادند. از این میان، پنج نشانگر SSR، با چندین صفت مرتبط بودند (Khodadadi *et al.*, 2023).

در آزمایش حاضر نیز تنوع ژنتیکی تعدادی از توده‌های گندم نان از نظر صفات فنولوژیک، فیزیولوژیک و عملکرد

نشانه‌های ریزوماهواره پیوسته با عملکرد در توده‌های گندم نان دانه، ۱۵ صفت فیزیولوژیک و ۶ صفت فنولوژیک بودند که به شرح جدول ۲ اندازه‌گیری شدند. برای انجام یادداشت‌برداری از هر کرت، پنج نمونه به‌طور تصادفی و با رعایت اثر حاشیه‌ای از هر کرت انتخاب شد. برای تجزیه‌های آماری صفات مورد مطالعه، ابتدا آزمون نرمال

تحقیقات غلات/ دوره دوازدهم/ شماره سوم/ پاییز ۱۴۰۱
بودن و بررسی چولگی و کشیدگی داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف- اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9,3,1 انجام شد.

جدول ۱- ارقام و توده‌های گندم نان مورد مطالعه

Table 1. The studied cultivars and accessions of bread wheat

Code	Accession name	Origin	Code	Accession name	Origin	Code	Accession name	Origin
1	WC-4924	Kalat	10	WC-4987	Unknown	19	Pishtaz	Pishtaz
2	WC-4582	Kermanshah	11	WC-47615	Mexico	20	Pishgam	Pishgam
3	WC-4592	Kermanshah	12	WC-4612	Kordestan Babrar	21	WC-47640	Minnesota
4	WC-47341	Montana	13	WC-5001	Unknown	22	WC-47467	Mexico
5	WC-4965	Kashan	14	WC-4994	Unknown	23	WC-4553	Kerend
6	WC-4840	Sarakhs	15	WC-47638	Peru	24	WC-4583	Kermanshah
7	WC-4958	Badranloo	16	WC-47583	Canada	25	WC-4554	Kerend
8	WC-47399	Bulgaria	17	WC-47522	Mexico			
9	WC-4600	Kermanshah	18	WC-47569	Minnesota			

آزمایش مولکولی

به‌منظور ارزیابی مولکولی توده‌های مورد مطالعه، از ۲۰ جفت نشانه‌گر ریزوماهواره (SSR) استفاده شد. DNA از گیاهچه‌های دو تا سه هفته‌ای حاصل از کشت بذرها با روش CTAB طبق دستورالعملی تغییر یافته از دوپل و دوپل (Doyle and Doyle, 1987) و به‌صورت بالک استخراج شد. جهت بررسی تعیین کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده شد. بدین ترتیب که از هر نمونه مقدار ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده با دو میکرولیتر بافر نمونه‌گذاری روی چسب یا سطح تمیز مخلوط و سپس بارگذاری (load) شدند. الکتروفورز با ولتاژ ۹۰ تا ۱۲۰ تا رسیدن رنگ آبی به انتهای ژل انجام شد، سپس ژل پس از شستشوی چند ثانیه‌ای با آب مقطر به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در داخل محلول اتیدیوم برمایید جهت رنگ آمیزی قرار گرفت و در پایان ژل درون دستگاه Gel Document قرار داده شد و وضعیت DNA بررسی گردید. جهت PCR (Polymerase Chain Reaction) ابتدا نمونه‌های DNA که در غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شده بودند با استفاده از ۲۰ جفت آغازگرهای انتخاب شده مورد استفاده و تکثیر قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با

استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio Rad در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام گردید. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز سه درصد در بافر TBE 1x صورت گرفت. جهت رنگ‌آمیزی میزان ۱۰ میکرولیتر ماده safe stain استفاده گردید. به منظور تزریق ابتدا میزان پنج میکرولیتر بافر نمونه‌گذاری به DNAهای تکثیر شده اضافه و سپس میزان ۱۵ میکرولیتر از هر نمونه به درون چاهک‌های ایجاد شده در ژل آگارز سه درصد بارگذاری و با ولتاژ ۹۰-۱۲۰ و میزان دو ساعت ران (Run) صورت گرفت و سپس از دستگاه Gel Document مدل کوانتوم ST4 جهت نمایان‌شدن باندها استفاده شد. به خاطر کیفی بودن داده‌ها، نخست جدول توافقی صفر و یک باید تشکیل می‌شد. اما چنانچه ذکر شد به دلیل اینکه همه نمونه‌ها روی یک ژل قرار نمی‌گرفتند، در این آزمایش از سایز مارکر DNA ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ Bb استفاده شد که بر روی ژل آگارز سه درصد ۱۱ نوار تولید می‌کرد. پس از ثبت اطلاعات، ژل به‌دست آمده برای هر آغازگر امتیازدهی شد. وجود نوار یک و عدم وجود آن صفر در نظر گرفته شد. با استفاده از برنامه Excel متغیرهای مربوط به هر آغازگر را در ردیف‌ها و نام توده‌ها در ستون‌ها ثبت شد. نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۲- نحوه اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه

Table 2. Measurement methods of the studied traits

Trait	Measurement method [†]
Grain yeild	The weight of grains of three middle rows of one meter in each plot
Relative water content (Barrs, 1968)	$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD}$
Water saturation deficit (Barrs, 1968)	$WSD = \frac{WT - WF}{WT - WD}$
Relative water loss (Barrs, 1968)	$RWL = \frac{(WF - W1) + (W1 - W2) + (W2 - W3)}{3WD(T2 - T1)}$
Excised leaf water retention (Clarke and McCaig, 1982)	$ELWR = 1 - \frac{WF - W3}{WF}$
Leaf water content (Clarke and McCaig., 1982)	$LWC = \frac{WF - WD}{WF}$
Initial water content (Clarke and McCaig., 1982)	$IWC = \frac{WF - WD}{WD}$
Excised leaf water loss (Manette <i>et al.</i> , 1988)	$ELWL = \frac{WF - W3}{WF - WD}$
Leaf water loss (Xing <i>et al.</i> , 2004)	$LWL = \frac{WF - W1}{WF}$
Rlative water protective (Hashemi Nasab, 2011)	$RWP = \frac{W3 - WD}{WF - WD}$
Water use efficiency (Wright <i>et al.</i> , 1998)	$WUE = \frac{GY}{WU}$
Evapo-transpiration efficiency (Wright <i>et al.</i> , 1998)	$ETE = \frac{BY}{WU}$
Days to botting	Days from planting date (first irrigation) to botting of 50% of the plants in each plot.
Days to appearance of spike	Days from planting date (first irrigation) to appearance of spike in 50% of the plants in each plot.
Days to flowering	Days from planting date (first irrigation) to flowering of 50% of the plants in each plot.
Days to physiological maturity	Days from planting date (first irrigation) to physiological maturity of the seed (the time after which seed dry weight does not increase).
Grain filling period	Days from appearance of anthers in 50% of the spikes in each plot (50% pollination) to physiological maturity of the grain.
Grain filling rate	The ratio of grain yield (g) to grain filling period.
Chlorophyll a (Lichtenthaler and Welburn, 1983)	$Chla = 12.21(A663) - 2.81(A646)$
Chlorophyll b (Lichtenthaler and Welburn, 1983)	$Chlb = 20.13(A646) - 5.1(A663)$
Total chlorophyll (Lichtenthaler & Welburn, 1983)	$ChIT = Chla - Chlb$
Carotenoid (Lichtenthaler and Welburn, 1983)	$Car = \frac{1000(A470) - 3.27(Chla) - 104(Chlb)}{227}$

[†] WF, WD and WT, leaf fresh, dry and turgor weight, respectively; W1, W2 and W3, leaf weight separated from the plant after two, four and six hours, respectively; GY, Grain yield; BY, Biological yield; WU, Water used; A663, A646 and A470, Bio Tek Powerwave (XS2) ELISA reading at wavelengths of 663, 646 and 470 nm, respectively.

(Polymorphic information content, PIC) بر اساس رابطه آندرسون و همکاران (Anderson *et al.*, 1993), شاخص نشانگری (Marker index, MI) و نسبت چندشکلی مؤثر (Effective multiplex ratio, EMR) بر اساس رابطه کومار و همکاران (Kumar *et al.*,

تجزیه و تحلیل‌های داده‌های مولکولی

جهت ارزیابی تنوع توده‌های گندم از شاخص‌های مولکولی نیز استفاده شد. درصد چند شکلی بر اساس رابطه محمدی و پراسانا (Mohammadi and Prasanna, 2003), محتوای اطلاعات چند شکلی

متغیرهای وابسته و نشانه‌های SSR به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند و نشانه‌های دارای ارتباط معنی‌دار با هر صفت، به‌عنوان نشانه‌های آگاهی‌بخش توسط نرم‌افزار SPSS23 شناسایی شد.

و قدرت تفکیک (Resolving power, RP) بر اساس رابطه آلتینتوس و همکاران (Altintus *et al.*,) (2009) به‌دست آمد. همچنین، ارتباط بین نشانه‌های SSR با صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه بر اساس رگرسیون گام به گام بررسی و صفات کمی به‌عنوان

جدول ۳- آغازگرهای ریزماهواره (SSR) مورد استفاده در این آزمایش جهت بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های گندم نان

Table 3. SSR primers used to assess the genetic diversity of bread wheat accessions in this experiment

Primer Name	Sequence (5'-3')	TM	GC%	Size (bp)
XGWM350-7D-F	5' ACCTCATCCACATGTTCTACG 3'	57	47.6	150
XGWM350-7D-R	5' GCATGGATAGGACGCCC 3'		64.7	
XGWM334-6A-F	5' AATTTCAAAAAGGAGAGAGA 3'	50	30	100
XGWM334-6A-R	5' AACATGTGTTTTAGCTATC 3'		30	
XGWM155-3A-F	5' CAATCATTTCCCCCTCCC 3'	58	55.6	100
XGWM155-3A-R	5' AATCATTGAAATCCATATGCC 3'		36.4	
XGWM577-7B-F	5' ATGGCATAATTTGGTGAATTG 3'	56	31.8	150
XGWM577-7B-R	5' TGTTTCAAGCCCAACTTCTATT 3'		36.4	
XGWM70-6B-F	5' AGTGGCTGGGAGAGTGTTCAT 3'	52.5	55	200
XGWM70-6B-R	5' GCCCATTACCGAGGACAC 3'		61.6	
XGWM642-1D-F	5' ACGGCGAGAAGGTGCTC 3'	58	45	180-200
XGWM642-1D-R	5' CATGAAAGGCAAGTTCGTCA 3'		64.7	
XGWM136-1A-F	5' GACAGCACCTTGCCCTTG 3'	52	57.9	250
XGWM136-1A-R	5' CATCGCAACATGCTCAT 3'		52.6	
XGWM124-1B-F	5' GCCATGGCTATCACCCAG 3'	57.5	61.1	200
XGWM124-1B-R	5' ACTGTTCCGGTGCAATTTGAG 3'		45	
XGWM265-2A-F	5' TGTTGCGGATGGTCACTATT 3'	58.5	45	150
XGWM265-2A-R	5' GAGTACACATTTGGCCTCTGC 3'		52.4	
XGWM410-2B-F	5' GCTTGAGACCGGCACAGT 3'	51	61.6	250
XGWM410-2B-R	5' CGAGACCTTGAGGGTCTAGA 3'		55	
XGWM165-4B-F	5' TGCAGTGGTCAGATGTTTCC 3'	50.6	50	200
XGWM165-4B-R	5' CTTTTCTTTCAGATTGCGCC 3'		45	
XGWM4-4A-F	5' GCTGATGCATATAATGCTGT 3'	52.5	40	250
XGWM4-4A-R	5' CACTGTCTGTATCACTCTGCT 3'		47.6	
XGWM192-5D-F	5' GGTTTTCTTTCAGATTGCGC 3'	50.7	45	100
XGWM192-5D-R	5' CGTTGTCTAATCTTGCTTGC 3'		47.6	
XGWM233-7A-F	5' TCAAAACATAAATGTTTCATTGGA 3'	46.7	26.1	100
XGWM233-7A-R	5' TCAACCGTGTGTAATTTGTCC 3'		40.9	
XGWM2-3D-F	5' CTGCAAGCCTGTGATCAACT 3'	49.4	50	250
XGWM2-3D-R	5' CATTCTCAAATGATCGAACA 3'		35	
XCFD5-5B-F	5' TGCCCTGTCCACAGTGAAG 3'	59.5	57.9	200
XCFD5-5B-R	5' TTGCCAGTTCCAAGGAGAAT 3'		45	
XGWM129-5A-F	5' TCAGTGGGCAAGCTACACAG 3'	50.6	55	250
XGWM129-5A-R	5' AAAACTTAGTAGCCGCGT 3'		44.4	
XCFD168-2D-F	5' CTTGCAAATCGAGGATGAT 3'	56	45	250
XCFD168-2D-R	5' TTCACGCCAGTATTAAGGC 3'		50	
XGWM234-5B-F	5' GAGTCCTGATGTGAAGCTGTTG 3'	54	50	220-230
XGWM234-5B-R	5' CTCATTGGGGTGTGTACGTG 3'		55	
XGWM33-1A-F	5' GGAGTCACACTGTTTGTGCA 3'	59	47.6	100
XGWM33-1A-R	5' CACTGCACACCTAACTACCTGC 3'		45.5	

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی توده‌های گندم نان بر اساس نشانگرهای

ریزماهواره

پس از بررسی ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره در ۲۵ توده گندم نان، ۱۶ آغازگر که چندشکلی مناسبی نشان دادند، جهت بررسی تنوع ژنتیکی انتخاب شدند. نتایج حاصل از شاخص‌های تنوع آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۵ ارایه شده است. در مجموع ۳۵ نوار تشکیل شد که ۳۳ نوار (۹۳/۷۵ درصد) چند شکل بودند و بنابراین می‌توان گفت که نشانگرها در بین توده‌های مورد بررسی چند شکلی بالایی نشان دادند. به جز دو نشانگر XGWM334 و XGWM642 که کم‌ترین میزان چند شکلی (۵۰ درصد) را نشان دادند، سایر نشانگرها صد در صد چندشکل بودند. از این‌رو تمام نشانگرهای این پژوهش برای مطالعات تنوع ژنتیکی در گندم مفید شناخته شدند. نشانگر XGWM136 با ۵ آلل بیش‌ترین و نشانگرهای XGWM155، XGWM410 و XGWM234 با دو آلل کم‌ترین تعداد آلل را نشان دادند. متوسط تعداد کل نوارها و متوسط چندشکلی نیز به ترتیب ۲/۱۸۸ و ۲/۰۶۳ بود.

بررسی شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نشان داد که آغازگرهای XGWM155، XGWM234، XCFD5 و XGWM642، XGWM577، XCFD168 دارای بیش‌ترین میزان PIC بودند و بنابراین این آغازگرها قدرت بیش‌تری در ایجاد چندشکلی در بین توده‌های مورد بررسی داشتند و می‌توان این آغازگرها را برای بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های گندم نان معرفی کرد. کم‌ترین میزان PIC نیز مربوط به آغازگرهای XGWM334 و XGWM4 بود. برای شاخص نشانگری (IM)، بیش‌ترین میزان متعلق به آغازگرهای XGWM136، XCFD168 و XGWM350 و کم‌ترین آن متعلق به آغازگرهای XGWM334 و XGWM642 بود. نجفی و همکاران (Najaphy *et al.*, 2012) مقادیر شاخص نشانگری را از ۰/۴۱ تا ۳/۳۶ برآورد کردند. برای شاخص نسبت چند شکلی مؤثر (EMR)، بیش‌ترین مقدار متعلق به آغازگرهای XGWM136، XGWM350، XCFD168 و XGWM165 و کم‌ترین مقدار متعلق به آغازگرهای XGWM334 و XGWM642 بود. همچنین بیش‌ترین مقدار شاخص قدرت تفکیک (RP) در آغازگرهای XGWM4، XCFD168 و XGWM350 و کم‌ترین مقدار در آغازگر XGWM334 مشاهده شد. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی زیاد و وجود آلل یا آلل‌های

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد دانه تحت هر دو شرایط دیم و آبیاری در جدول ۴ ارایه شده است. تجزیه واریانس داده‌ها تحت شرایط دیم نشان داد که برای صفات WUE،RWP،GY، DB،DAS،DF،DPM،SFP و RFS اختلاف معنی‌داری بین توده‌های گندم مورد مطالعه در سطح احتمال پنج و یک درصد وجود داشت. در شرایط آبیاری نیز همه صفات به جز LWC،LWL،ELWL،ELWR،Chl a،Chl b،Chl T و Car اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد نشان دادند. بر اساس وجود تفاوت معنی‌دار از نظر عملکرد، صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک می‌توان نتیجه گرفت که توده‌های مورد بررسی دارای تنوع ژنتیکی مناسبی بودند و امکان انتخاب توده‌های برتر بر اساس این صفات در شرایط دیم و آبیاری وجود دارد.

در تحقیقی که روی گندم وحشی انجام شد، یکی از ژنوتیپ‌ها دارای عملکرد، اجزای عملکرد و WUE و ژنوتیپ دیگر دارای سطوح بالاتری از کارایی مصرف آب و ویژگی‌های مربوط به ریشه بود (Moosavi *et al.*, 2020). در پژوهشی که روی توده‌های بومی گندم نان انجام شد، نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورفولوژی، فنولوژی و فیزیولوژی نشان داد که اثر ژنوتیپ برای بیش‌تر صفات معنی‌دار بود (Naderi *et al.*, 2020) که با نتایج این پژوهش از نظر وجود تنوع در توده‌های گندم نان مطابقت داشت. در مطالعه دیگری که روی صفات فیزیولوژیک گندم نان انجام شد، مشخص شد که شاخص محتوای آب نسبی برگ، محتوای کلروفیل، محتوای آب از دست رفته از برگ‌های بریده شده و کمبود آب اشباع روند کاهشی قابل توجهی در تیمار تنش خشکی نسبت به گیاهان خوب آبیاری شده از خود نشان دادند (Ahmed *et al.*, 2020) که این نتایج از نظر محتوای آب نسبی برگ و محتوای کلروفیل با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت. در آزمایش دیگری صفات فنولوژیک ۳۰ ژنوتیپ گندم بررسی شد که همانند تحقیق حاضر تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، دوره پرشدن دانه، روز تا گلدهی و روز تا کامل شدن سنبله تحت هر دو شرایط دیم و آبیاری گزارش شد (Ashrafi Parchin *et al.*, 2011).

محتوای اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آن‌ها است. در تحقیقی با هدف شناسایی نشانگرهای SSR پیوسته با صفات زراعی در گندم دوروم، گزارش شد که تنوع کافی در بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ داده‌های صفات زراعی و نشانگر مولکولی وجود داشت و میزان شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای ۱۶ آغازگر مورد مطالعه از ۰/۳۹ تا ۰/۴۹ متغیر بود (Kouhestani *et al.*, 2016). در آزمایش دیگری از ۲۲ نشانگر ریزماهواره جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۲ رقم گندم نان استفاده شد که ۱۱ نشانگر چندشکلی مطلوبی را نشان دادند (Ghasemi *et al.*, 2019). در مجموع بر اساس نتایج این آزمایش، نشانگرهای XCFD168، XGWM350 و XGWM136 با ۱۰۰ در صد چندشکلی، بیش‌ترین تعداد آلل‌ها، مقادیر بالای محتوای اطلاعات چندشکلی، نسبت چندشکلی مؤثر، شاخص نشانگری و شاخص قدرت تفکیک، مناسب‌ترین نشانگرها بودند و به‌منظور تعیین فاصله ژنتیکی و تمایز توده‌های گندم در مطالعات بعدی معرفی می‌شوند. شکل ۱ الگوی نواریندی نشانگر XGWM350 را در توده‌های گندم نان مورد بررسی در این پژوهش نشان می‌دهد.

نادر در یک جایگاه نشانگری است و بیانگر قدرت تفکیک و تمایز بالای آن نشانگر می‌باشد (Shiri *et al.*, 2014). در مطالعه رامیا و همکاران (Ramya *et al.*, 2010) نیز نشانگر XCFD168 به‌عنوان نشانگر برتر معرفی شد که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. در تحقیق محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2015) نیز از دو نشانگر XGWM2 و XGWM165 به‌عنوان نشانگرهای برتر جهت بررسی تنوع ژنتیکی و ارتباط بین نشانگرها با صفات فیزیولوژیک استفاده کردند که همسو با نتایج این پژوهش بود. بنابراین آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه کارایی لازم جهت بررسی روابط بین ژنوتیپ‌ها و ساختارهای ژنتیکی را دارند. همچنین تعداد زیاد مکان‌های تکثیر شده در این آزمایش نشان می‌دهد که تعداد کمی از آغازگرهای SSR با میزان اطلاعات چندشکل بالا، می‌تواند تعداد زیادی نمونه و جمعیت‌های مختلف نمونه را تفکیک کند. قبلاً نیز در تحقیقات مختلفی کارایی بالای نشانگرهای SSR در مطالعات مرتبط با تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی در گونه‌های گیاهی مختلف گزارش شده است (Chavez-Ontiveros *et al.*, 2020; Gholizadeh Seresti *et al.*, 2020; Khodadadi *et al.*, 2020; Zali *et al.*, 2020).

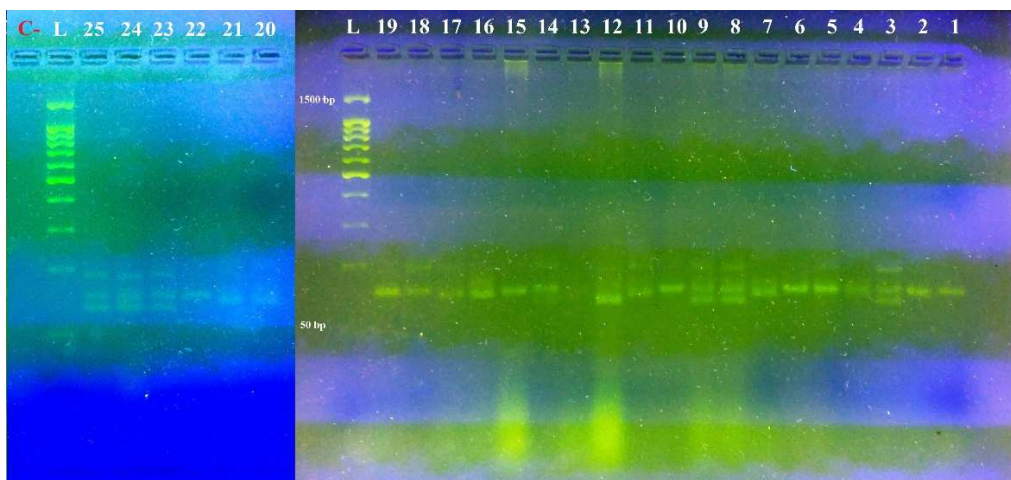
جدول ۴- میانگین مربعات و ضریب تغییرات جدول تجزیه واریانس صفات مختلف در توده‌های گندم نان تحت دو شرایط دیم و آبیاری
Table 4. Mean squares (MS) and coefficient of variation (CV) derived from analysis of variance of different traits in bread wheat accessions under rainfed and irrigation conditions

Trait	Irrigation		Rainfed	
	MS	CV%	MS	CV%
Grain yield	24612.73**	16.78	9874.99**	23.85
Relative water content	69.47*	9.50	89.84 ^{ns}	15.38
Water saturation defici	69.48*	16.27	89.84 ^{ns}	18.21
Relative water loss	45.12*	20.28	30.76 ^{ns}	29.90
Excised leaf water retention	93.02 ^{ns}	17.71	113.37 ^{ns}	16.75
Excised leaf water loss	191.03 ^{ns}	21.44	250.59 ^{ns}	22.94
Leaf water loss	63.16 ^{ns}	24.32	38.14 ^{ns}	30.30
Rlative water protective	188.98**	13.24	250.71**	12.62
Leaf water content	14.59 ^{ns}	4.92	7.50 ^{ns}	3.72
Initial water content	1091.79 ^{ns}	13.39	537.30 ^{ns}	10.72
Water use efficiency	0.31**	16.79	0.93*	23.40
Evapo-transpiration efficiency	0.87 ^{ns}	18.80	6.95 ^{ns}	20.81
Chlorophyll a	2.92 ^{ns}	10.83	5.17 ^{ns}	13.60
Chlorophyll b	0.21 ^{ns}	11.71	0.23 ^{ns}	13.46
Chlorophyll total	4.62 ^{ns}	10.98	7.56 ^{ns}	13.43
Carotenoid	0.25 ^{ns}	11.05	0.39 ^{ns}	14.88
Days to botting	12.27**	0.97	24.27**	0.96
Days to appearance of spike	23.98**	1.02	26.01**	1.02
Days to flowering	15.08**	1.04	26.39**	1.11
Days to physiological maturity	3.49**	0.42	12.35**	0.50
Grain filling period	13.75**	5.49	10.95**	8.72
Grain filing rate	12.62**	20.74	12.11**	18.62

^{ns}, * and ** Not significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۵- شاخص‌های تنوع نشانگرهای ریزماهواره در توده‌های گندم نان مطالعه شده در این آزمایش

Marker	Chromosome	No. of total bands	No. of polymorphic bands	Polymorphic percentage	Marker index	Effective multiplex ratio	Resolving power	Polymorphic information content
XGWM350	7D	3	3	100	1.011	3	3.12	0.337
XGWM334	6A	2	1	50	0.074	0.5	0.16	0.147
XGWM155	3A	1	1	100	0.499	1	0.96	0.499
XGWM577	7B	2	2	100	0.934	2	1.60	0.467
XGWM70	6B	2	2	100	0.557	2	1.28	0.278
XGWM642	1D	2	1	50	0.23	0.5	0.72	0.461
XGWM136	1A	5	5	100	1.76	5	2.32	0.352
XGWM124	1B	2	2	100	0.768	2	1.92	0.384
XGWM265	2A	2	2	100	0.614	2	1.68	0.307
XGWM410	2B	1	1	100	0.365	1	0.48	0.365
XGWM165	4B	3	3	100	0.973	3	2.96	0.324
XGWM4	4A	2	2	100	0.422	2	3.52	0.211
XGWM2	3D	2	2	100	0.755	2	2.24	0.378
XCFD5	5B	2	2	100	0.883	2	1.76	0.442
XCFD168	2D	3	3	100	1.466	3	3.20	0.489
XGWM234	5B	1	1	100	0.493	1	0.88	0.493
Total	-	35	33	-	-	-	-	-
Mean	-	2.188	2.063	93.75	0.738	2	1.8	0.371



شکل ۱- الگوی نواریندی نشانگرهای SSR با استفاده از آغازگر XGWM350 در توده‌های گندم نان مورد بررسی

Figure 1. The banding pattern of SSR markers using XGWM350 primer in bread wheat accessions

محدودیت‌ها، شناسایی نشانگرهای وابسته به صفت از طریق رگرسیون مناسب به‌نظر می‌رسد. در این مطالعه، ارتباط بین صفات مورد مطالعه در ۲۳ توده و دو رقم (شاهد) گندم نان با نشانگرهای SSR با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام با هدف شناسایی نواحی ژنومی دخیل در کنترل صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد دانه تحت دو شرایط دیم و آبیاری با استفاده از نرم‌افزار SPSS بررسی و نتایج در جدول‌های ۶ و ۷ ارائه شد. لازم

ارتباط صفات مورد مطالعه با نشانگرهای ریزماهواره

در اصلاح تحمل به خشکی، شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات سازگار با تحمل به خشکی، برای فهم نحوه کنترل و بیان این صفات ضروری است (Sallam *et al.*, 2019). اگرچه نقشه‌یابی بر پایه مکان‌های صفات کمی (QTL) برای ردیابی ژن‌های وابسته به صفات مناسب می‌است، اما این عمل وقت‌گیر و پر زحمت می‌باشد (Rakshit *et al.*, 2010). برای غلبه بر این

نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با عملکرد در توده‌های گندم نان به ذکر است که تنها صفاتی که در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار شدند، ارتباط آن‌ها با نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار گرفت.

ارتباط بین نشانگرها با صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد دانه تحت شرایط دیم

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام جهت شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط با صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد تحت شرایط دیم در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که نشانگرهای XGWM124 (a₂) و XGWM410 (a₁) با صفت عملکرد دانه در شرایط دیم ارتباط معنی‌داری داشتند و ۳۴ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند، اما با توجه به ضریب رگرسیون مشخص شد که نشانگر XGWM124 (a₂) دارای ارتباط منفی و نشانگر XGWM410 (a₁) دارای ارتباط مثبت با عملکرد بودند. صفت آب حفظ شده برگ با سه نشانگر XGWM350 (a₃)، XGWM334 (a₁) و XGWM165 (a₁) ارتباط معنی‌داری داشت و این نشانگرها توانستند ۴۵ درصد تغییرات را توجیه کنند. راندمان مصرف آب با نشانگرهای XGWM165 (a₁)، XGWM124 (a₂) و XGWM410 (a₁) ارتباط معنی‌داری داشت و آغازگرهای مرتبط با این صفت ۴۷ درصد از تغییرات آن را توجیه کردند و بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به مکان XGWM410 (a₁) بود. نشانگر XCFD168 (a₁) با صفت روز تا بوتینگ ارتباط معنی‌داری داشت و ۲۰ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد. برای صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، نشانگر XGWM265 (a₁) دارای ارتباط معنی‌داری بود و ۲۱ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد. دوازده نشانگر شامل XGWM124 (a₂)، XGWM350 (a₁)، XGWM642 (a₁)، XGWM410 (a₁)، XGWM136 (a₄)، XGWM2 (a₂)، XGWM165 (a₁)، XGWM577 (a₁)، XCFD168 (a₁)، XCFD168 (a₂)، XCFD168 (a₃) و XGWM136 (a₂) با صفت سرعت پر شدن دانه دارای ارتباط معنی‌دار بودند و بیش‌ترین تنوع یعنی ۹۸ درصد از تغییرات را توجیه کردند. بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت متعلق به مکان‌های XGWM350 (a₁)، XGWM410 (a₁)، XGWM577 (a₁)، XCFD168 (a₂) و XGWM136 (a₂) بود. در مجموع ۲۲ مکان ژنی برای صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد در شرایط دیم شناسایی شدند که از بین آنها،

نشانگرهای XGWM124 (a₂)، XGWM410 (a₁) و XGWM165 (a₁) بیش‌ترین تکرار را داشتند و بنابراین می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

ارتباط بین نشانگرها با صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد دانه تحت شرایط آبیاری

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام جهت شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط با صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد تحت شرایط آبیاری در جدول ۷ ارائه شده است. نشانگرهای XGWM577 (a₁)، XGWM136 (a₃)، XGWM136 (a₄)، XGWM265 (a₁)، XGWM410 (a₁) و XGWM2 (a₂) با صفت عملکرد دانه همبستگی معنی‌داری داشتند و ۸۴ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. بررسی ضریب رگرسیون نشان داد که بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به سه مکان XGWM136 (a₃)، XGWM577 (a₂) و XGWM410 (a₁) بود. نشانگرهای XGWM165 (a₃)، XGWM155 (a₁)، XGWM70 (a₂)، XGWM577 (a₂) و XGWM234 (a₁) به‌طور مشترک با صفات محتوای آب نسبی برگ و کمبود آب اشباع در شرایط آبیاری آخر فصل ارتباط معنی‌داری داشتند و ۷۵ درصد از تغییرات کل هر یک از صفات را توجیه کردند. در مورد صفت محتوای آب نسبی برگ، بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به مکان‌های XGWM165 (a₃)، XGWM155 (a₁) و XGWM577 (a₂) بود، در حالی‌که برای صفت کمبود آب اشباع، مکان‌های XGWM70 (a₂) و XGWM234 (a₁) بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت را داشتند. برای صفت میزان آب نسبی از دست رفته برگ، نشانگر XGWM334 (a₁) ارتباط معنی‌دار داشت و ۲۱ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد، اما برای صفت آب حفظ شده برگ، نشانگرهای XGWM265 (a₁) و XGWM350 (a₁) دارای ارتباط معنی‌دار بودند و این دو نشانگر ۴۲ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. صفت کارایی مصرف آب با نشانگرهای XGWM577 (a₁)، XGWM136 (a₃)، XGWM136 (a₄)، XGWM265 (a₁)، XGWM410 (a₁) و XGWM2 (a₂) ارتباط معنی‌داری داشت و این نشانگرها ۸۴ درصد از تغییرات صفت را توجیه کردند و بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به مکان‌های XGWM136 (a₃)، XGWM136 (a₄)، XGWM577 (a₂) و XGWM410 (a₁) بودند.

جدول ۶- نشانگرهای دارای ارتباط معنی‌دار با عملکرد و صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک توده‌های گندم نان تحت شرایط دیم
Table 6. Markers with significant relationship with yield and physiological and phenological traits of bread wheat accessions under rainfed conditions

Trait	Marker [†]	Regression coefficient (b)	Standard error	t-value	Significant level	R ²	Adjusted R ²
Grain yeild	Constant	320.44	17.871	17.931	**	0.397	0.342
	XGWM124 (a ₂)	-68.482	20.944	-3.27	**		
	XGWM410 (a ₁)	52.57	22.02	2.39	*		
Rlative water protective	Constant	41.73	1.73	24.12	**	0.515	0.446
	XGWM350 (a ₃)	-9.96	3.11	-3.202	**		
	XGWM334 (a ₁)	-12.96	5.08	-2.552	*		
	XGWM165 (a ₁)	-12.971	5.113	-2.54	*		
Water use efficiency	Constant	3.31	0.156	21.201	**	0.533	0.466
	XGWM165 (a ₁)	-0.711	0.31	-2.291	*		
	XGWM124 (a ₂)	-0.553	0.187	-2.96	**		
	XGWM410 (a ₁)	0.483	0.196	2.47	*		
Days to botting	Constant	167.36	0.678	246.752	**	0.237	0.204
	XCFD168 (a ₁)	2.734	1.022	2.674	*		
Days to physiological maturity	Constant	205.14	0.384	534.03	**	0.244	0.212
	XGWM265 (a ₁)	-3.03	1.11	-2.73	*		
Grain filing rate	Constant	12.621	0.224	56.47	**	0.991	0.983
	XGWM124 (a ₂)	-3.24	0.247	-13.13	**		
	XGWM350 (a ₁)	1.87	0.212	8.84	**		
	XGWM642 (a ₁)	-0.825	0.17	-4.851	**		
	XGWM410 (a ₁)	1.60	0.148	10.77	**		
	XGWM136 (a ₄)	-2.04	0.194	-10.52	**		
	XGWM2 (a ₂)	-1.16	0.162	-7.144	**		
	XGWM165 (a ₁)	-1.782	0.224	-7.972	**		
	XGWM577 (a ₂)	1.52	0.176	8.624	**		
	XGWM577 (a ₁)	-1.30	0.165	-7.843	**		
	XCFD168 (a ₂)	1.354	0.263	5.15	**		
	XGWM136 (a ₂)	0.824	0.255	3.231	**		
	XCFD168 (a ₃)	-0.713	0.257	-2.78	*		

* and ** Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

[†] a₁, a₂, a₃, a₄, and a₅ are the average alleles 1, 2, 3, 4, and 5, respectively.

درصد از تغییرات را توجیه کردند. بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت هم به مکان‌های XGWM70 (a₂)، XGWM410 (a₁) و XGWM350 (a₁) مربوط بودند. در مجموع ۴۰ مکان ژنی برای عملکرد، صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک در شرایط آبیاری شناسایی شدند که نشانگرهای XGWM265 (a₁)، XGWM577 (a₂)، XGWM410 (a₁)، XGWM70 (a₂) و XGWM155 (a₁) بیش‌ترین تکرار را داشتند و از این نشانگرها می‌توان در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

بررسی ارتباط نشانگرها با صفات مورد مطالعه تحت دو شرایط آزمایشی نشان داد که نشانگر XGWM410 (a₁) با صفات GY، WUE و RFS در شرایط دیم و آبیاری؛ نشانگر XGWM124 (a₂) با صفات GY، WUE و RFS در شرایط دیم و با صفت RFS در شرایط آبیاری؛ نشانگر XGWM265 (a₁) با صفات GY، RWP، WUE و

نشانگر XCFD168 (a₁) با صفت روز تا بوتینگ در شرایط آبیاری ارتباط معنی‌داری داشت که ۲۰ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود. برای صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیک نشانگرهای XGWM124 (a₁)، XGWM136 (a₅)، XGWM155 (a₁) و XGWM334 (a₁) آگاهی‌بخش می‌باشند و ۶۴ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند و بیش‌ترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به مکان‌های XGWM136 (a₅)، XGWM155 (a₁) و XGWM124 (a₁) بودند. صفت دوره پر شدن دانه با نشانگرهای XGWM265 (a₁) و XGWM70 (a₁) ارتباط معنی‌داری داشت و توانستند ۲۸ درصد از تغییرات کل را توجیه کنند. شش نشانگر XGWM124 (a₁، a₂)، XGWM410 (a₁)، XGWM350 (a₁)، XGWM642 (a₁) و XGWM70 (a₂) با صفت سرعت پر شدن دانه دارای ارتباط معنی‌دار بودند و بیش‌ترین درصد یعنی ۸۶

SFP در شرایط آبیاری و با صفت DPM در شرایط دیم؛ نشانگر XGWM334 (a_1) با صفت RWP در شرایط دیم و با صفات RWL و DPM در شرایط آبیاری؛ نشانگر XGWM350 (a_3) با صفت RWP در شرایط دیم و آبیاری؛ نشانگر XGWM165 (a_1) با صفات RWP، WUE و RFS در شرایط دیم؛ نشانگر XGWM165 (a_3) با صفات RWC و WSD در شرایط آبیاری؛ نشانگر XGWM577 (a_2) با صفات RWC، GY و WSD در شرایط آبیاری؛ نشانگرهای XGWM70 (a_2)، XGWM234 (a_1) و XGWM155 (a_1) با صفات RWC و WSD در شرایط آبیاری؛ نشانگرهای XGWM642 (a_1) و XGWM350 (a_1) با صفت RFS در شرایط دیم و آبیاری؛ نشانگر XCFD168 (a_1) با صفت DB در شرایط دیم و آبیاری؛ نشانگر XGWM124 (a_1) با صفات DPM و RFS در شرایط آبیاری و نشانگرهای XGWM136 (a_3, a_4)، XGWM577 (a_1) و XGWM2 (a_2) با صفات GY و WUE در شرایط آبیاری پیوستگی داشتند. بنابراین می‌توان گفت که ضمن اینکه این ژن‌ها دارای اثر پلئوتروپی هستند، وجود ارتباط معنی‌دار چند نشانگر با یک صفت نیز ماهیت کمی و چند ژنی این صفات را نشان می‌دهد. در تحقیقی در رابطه با تجزیه ارتباط نشانگرهای پیوسته با QTL‌های مرتبط با تحمل به خشکی در تعدادی از لاین‌ها و ارقام برنج با استفاده از ۹ نشانگر ریزماهواره بر اساس تجزیه رگرسیون، نتایج نشان داد که در شرایط نرمال تعداد خوشه و تعداد روز تا گلدهی و در شرایط تنش خشکی وزن خوشه با بیشترین نشانگرهای مثبت را شناسایی کردند. در صفات مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد برای تعداد خوشه سه آلل با ارتباط منفی و چهار آلل با ضریب رگرسیون مثبت وجود داشتند، برای تعداد دانه در خوشه یک آلل حاوی اطلاعات مثبت وجود داشت، برای وزن هزار دانه سه آلل حاوی اطلاعات مثبت و یک آلل حاوی اطلاعات منفی ردیابی شد، برای صفت عملکرد نیز تنها یک آلل با ضریب رگرسیون مثبت وجود داشت، بنابراین از نشانگرها و آلل‌های دارای اطلاعات مثبت و منفی می‌توان در پروژه‌های انتخاب بر اساس نشانگر در جهات مثبت و منفی برای افزایش یا کاهش ارزش صفات مورد بررسی استفاده نمود (Gholizadeh Seresti *et al.*, 2020).

بر اساس نتایج به‌دست آمده از محققین، بین صفت عملکرد دانه با نشانگرهای XGWM124 (Jlassi *et al.*,

2021)؛ XGWM410 (Maccaferri *et al.*, 2011) و XGWM577 (Barakat *et al.*, 2011)؛ Rahmati *et al.*, 2018) ارتباط معنی‌داری وجود داشت که همسو با نتایج این پژوهش بود. مطابق با نظر علی و همکاران (Ali *et al.*, 2011) نشانگر XGWM155 با صفات زراعی و فنولوژیک تعداد روز تا گلدهی دارای ارتباط بود و براساس نتایج این پژوهش این نشانگر با صفات فیزیولوژیک محتوی آب نسبی برگ و کمبود آب اشباع دارای ارتباط معنی‌داری بود. نوری (Noori, 2013) به‌منظور بررسی ارتباط صفات مورفولوژیک با نشانگرهای مولکولی SSR از روش رگرسیون گام به گام استفاده کرد که یک نشانگر با صفت زمان رسیدگی فیزیولوژیک و هفت نشانگر از جمله نشانگرهای XGWM410 و XGWM2 با صفت عملکرد دانه ارتباط داشتند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم گندم نان به‌کمک ۱۲ نشانگر ریزماهواره و تجزیه ارتباطی برای صفات فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره نشان داد که نشانگر XGWM165 با صفت کاروتنوئید دارای ارتباط معنی‌دار بود (Mohammadi *et al.*, 2015). نتایج بررسی ارتباط بین شاخص‌های مقاومت به خشکی و پارامترهای پایداری ۲۰ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از نشانگر ISSR نشان داد که اکثر آغازگرهای مورد استفاده با صفات مورد مطالعه مرتبط بودند (Yaghotipoor *et al.*, 2016). در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه ارتباط صفات وابسته به سازگاری به خشکی توسط دژستان و همکاران (Dezhestan *et al.*, 2016)، گزارش شد که یک نشانگر در دو صفت روز تا سنبله‌دهی و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک دارای ضریب رگرسیون منفی بود و منجر به کاهش این دو صفت شد، نشانگر دیگر دارای ضریب مثبت در صفت روز تا سنبله‌دهی و ضریب منفی در صفات روز تا پرشدن دانه و وزن هزار دانه بود، که منجر به افزایش تعداد روز تا سنبله‌دهی و کاهش تعداد روز تا پر شدن دانه و وزن هزار دانه شد و یک نشانگر هم دارای ضریب مثبت در روز تا سنبله‌دهی و ضریب منفی در عملکرد بود. بنابراین از ارتباط معنی‌دار و مثبت نشانگرهای مولکولی با صفات می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی برای گزینش غیرمستقیم جهت بهبود و اصلاح صفات ارزیابی شده در ارتباط با سازگاری به خشکی تحت شرایط دیم بهره‌مند شد.

جدول ۶- نشانگرهای دارای ارتباط معنی‌دار با عملکرد و صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک توده‌های گندم نان تحت شرایط آبیاری
 Table 6. Markers with significant relationship with yield and physiological and phenological traits of bread wheat accessions under irrigation conditions

Trait	Marker [†]	Regression coefficient (b)	Standard error	t-value	Significant level	R ²	Adjusted R ²
Grain yeild	Constant	374.72	12.76	29.371	**	0.885	0.838
	XGWM577 (a ₂)	145.70	19.04	7.653	**		
	XGWM136 (a ₃)	171.744	33.40	5.143	**		
	XGWM265 (a ₁)	-122.541	26.084	-4.70	**		
	XGWM410 (a ₁)	89.64	18.29	4.902	**		
	XGWM2 (a ₂)	-62.80	18.43	-3.41	**		
	XGWM577 (a ₁)	-58.85	16.294	-3.612	**		
	XGWM136 (a ₄)	-79.04	29.13	-2.713	*		
Rlative water content	Constant	56.65	1.072	52.87	**	0.800	0.747
	XGWM165 (a ₃)	5.88	1.212	4.851	**		
	XGWM155 (a ₁)	4.741	1.01	4.72	**		
	XGWM70 (a ₂)	-12.01	2.68	-4.483	**		
	XGWM577 (a ₂)	4.12	1.12	3.682	**		
	XGWM234 (a ₁)	-2.50	1.064	-2.35	*		
Water saturation deficit	Constant	43.352	1.072	4.46	**	0.800	0.747
	XGWM165 (a ₃)	-5.88	1.212	-4.851	**		
	XGWM155 (a ₁)	-4.741	1.01	-4.72	**		
	XGWM70 (a ₂)	12.01	2.68	4.483	**		
	XGWM577 (a ₂)	-4.12	1.12	-3.682	**		
	XGWM234 (a ₁)	2.50	1.064	2.374	*		
Relative water loss	Constant	23.983	0.72	33.36	**	0.242	0.209
	XGWM334 (a ₁)	6.90	2.542	2.712	*		
Rlative water protective	Constant	32.82	1.563	20.994	**	0.467	0.418
	XGWM265 (a ₁)	-13.95	3.83	-3.643	**		
	XGWM350 (a ₃)	-8.922	2.771	-3.22	**		
Water use efficiency	Constant	1.32	0.045	29.352	**	0.885	0.838
	XGWM577 (a ₂)	0.514	0.067	7.652	**		
	XGWM136 (a ₃)	0.605	0.118	5.141	**		
	XGWM265 (a ₁)	-0.432	0.092	-4.694	**		
	XGWM410 (a ₁)	0.316	0.064	4.902	**		
	XGWM2 (a ₂)	-0.221	0.065	-3.41	**		
	XGWM577 (a ₁)	-0.207	0.057	-3.61	**		
	XGWM136 (a ₄)	-0.279	0.103	-2.714	*		
Days to boting	Constant	168.714	0.484	348.65	**	0.232	0.198
	XGWM168 (a ₁)	1.922	0.730	2.64	*		
Days to physiological maturity	Constant	215.31	0.191	1.13	**	0.700	0.640
	XGWM124 (a ₁)	0.687	0.328	2.091	*		
	XGWM136 (a ₅)	1.30	0.341	3.81	**		
	XGWM155 (a ₁)	1.022	0.283	3.61	**		
	XGWM334 (a ₁)	-1.481	0.534	-2.78	*		
Grain filling period	Constant	36.22	0.584	61.99	**	0.342	0.283
	XGWM265 (a ₁)	2.84	1.12	2.541	*		
	XGWM70 (a ₁)	-1.75	0.741	-2.361	*		
Grain filling rate	Constant	16.78	0.575	29.194	**	0.893	0.858
	XGWM124 (a ₂)	-6.511	0.615	-10.59	**		
	XGWM410 (a ₁)	2.12	0.406	5.22	**		
	XGWM124 (a ₁)	-4.163	0.662	-6.29	**		
	XGWM350 (a ₁)	1.391	0.414	3.36	**		
	XGWM642 (a ₁)	-1.25	0.354	-3.52	**		
	XGWM70 (a ₂)	3.732	1.13	3.31	**		

نتایج آزمایش حق‌پناه و همکاران (Haghpanah *et al.*, 2020) حاکی از ارتباط بالای (بالاترین ضریب تبیین) برخی از نشانه‌ها با صفات مورد مطالعه بود. الیاس و همکاران (Ilyas *et al.*, 2020) ارتباط نشانه‌گر XGWM70 را با صفات فیزیولوژیک پتانسیل آب و کلروفیل کل معنی‌دار گزارش کردند که برطبق نتایج تحقیق حاضر نیز این نشانه‌گر با صفات فیزیولوژیک محتوای آب نسبی برگ، کمبود آب اشباع و صفت فنولوژیک دوره پر شدن دانه ارتباط معنی‌داری داشت. احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2021) ارتباط معنی‌دار نشانه‌گر XGWM410 را با صفت وزن دانه در سنبله گزارش کردند که طبق نتایج پژوهش حاضر همین نشانه‌گر با صفات عملکرد دانه، راندمان مصرف آب و سرعت پر شدن دانه دارای ارتباط معنی‌داری بود. در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت گندم نان و تجزیه ارتباط تعدادی از صفات مورفو-فیزیولوژیک تحت تنش شوری با استفاده از نشانه‌های ریزماهواره، گزارش شد که نشانه‌گر XGWM410 با صفات آسکوربات‌پراکسیداز و پروتئین کل دارای ارتباط معنی‌دار بود (Farhangian-Kashani *et al.*, 2022). در بررسی وجود ارتباط بین نشانه‌های SSR با صفات مرتبط با عملکرد در گندم نان، از بین ۴۲ نشانه‌گر معنی‌دار، ۲۵ نشانه‌گر دارای اثر مثبت در جهت افزایش صفت و ۱۷ نشانه‌گر دارای اثر منفی در جهت کاهش صفت بودند (Zaynali Nezhad *et al.*, 2021). در مطالعه‌ای به منظور بررسی تجزیه تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) با استفاده از نشانه‌های فنولوژیک، مولکولی و DNA، ۱۶ ژنوتیپ گندم با استفاده از نشانه‌های مورد سنجش، تنوع ژنتیکی معنی‌داری را نشان دادند. ترکیب پارامترهای فنولوژیک مطلوب با نشانه‌های مولکولی برای ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم نان مصری مناسب تشخیص داده شد (El-Esawi *et al.*, 2023). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیش‌تر صفاتی که با همدیگر همبستگی داشتند در تجزیه ارتباط نیز با نشانه‌های یکسانی ارتباط داشتند که این می‌تواند نتیجه پیوستگی ژنتیکی صفات و یا وجود نشانه‌های مشترک پیوسته با این صفات باشند. برخی از نشانه‌ها با بیش از یک صفت ارتباط و پیوستگی نشان دادند که ارتباط یک نشانه‌گر با بیش از یک صفت می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپیک و یا پیوستگی QTL‌های مرتبط با هم در صفات مختلف باشد (Ebrahimi *et al.*,)

2011). اکثر نشانه‌های مورد استفاده در این پژوهش بر روی صفات مورد مطالعه مؤثر بودند، محل قرارگیری این نشانه‌ها در داخل ژنوم احتمالاً مناطقی از ژنوم می‌باشد که کنترل کننده ژن‌های مربوط به صفات مورد نظر است (Virk *et al.*, 1996). تجزیه رگرسیونی چند متغیره نیز یک روش مناسب و سریع برای یافتن رابطه بین صفات و نشانه‌هاست و می‌تواند مکان‌های صفات کمی (QTL) را ردیابی کند. نشانه‌های پیوسته با صفات شناسایی شده در این مطالعه، می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی گزینش به-کمک نشانه‌گر به کار برده شوند.

نتیجه‌گیری کلی

نشانه‌های XCFD168-2D، XGWM350-7D و XGWM136-1A به‌عنوان مناسب‌ترین آغازگرهای SSR برای گندم در مطالعات بعدی شناسایی شدند. همچنین نشانه‌گر XGWM350-7D با صفات آب حفظ شده برگ (اثر منفی) و سرعت پر شدن دانه (اثر مثبت) در هر دو شرایط، نشانه‌گر XCFD168-2D با صفات روز تا بوتینگ (اثر مثبت) در هر دو شرایط و سرعت پر شدن دانه (آلل ۲ اثر مثبت و آلل ۳ اثر منفی) در شرایط دیم و نشانه‌گر XGWM136-1A با صفات عملکرد دانه (آلل ۳ اثر مثبت و آلل ۴ اثر منفی)، راندمان مصرف آب (آلل ۳ اثر مثبت و آلل ۴ اثر منفی) و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک (اثر مثبت) در شرایط آبیاری و صفت سرعت پر شدن دانه (آلل ۲ اثر مثبت و آلل ۴ اثر منفی) در شرایط دیم دارای ارتباط بالایی بودند. نتایج تجزیه ارتباطی نشان داد که در هر دو شرایط دیم و آبیاری، نشانه‌های XGWM350 (a₁)، XGWM334 (a₁) و XGWM410 (a₁) در مورد صفات فیزیولوژیک و نشانه‌های XGWM265 (a₁)، XGWM410 (a₁)، XGWM124 (a₂)، XGWM642 (a₁)، XGWM350 (a₁) و XCFD168 (a₁) در مورد صفات فنولوژیک مشترک بودند. در این بین، نشانه‌گر XGWM410 (a₁) برای عملکرد، صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک در هر دو شرایط دیم و آبیاری (اثر مثبت)؛ نشانه‌گر XGWM265 (a₁) برای عملکرد و صفات فیزیولوژیک در شرایط آبیاری (اثر منفی) و صفات فنولوژیک در هر دو شرایط دیم (اثر منفی) و آبیاری (اثر مثبت)؛ نشانه‌گر XGWM124 (a₂) برای عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیک در شرایط دیم و صفات فنولوژیک در هر دو شرایط دیم و آبیاری (اثر منفی)؛ نشانه‌گر

تضاد منافع

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

رعایت اخلاق در نشر

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

اجازه انتشار مقاله

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

XGWM165 (a₁) برای صفات فیزیولوژیک و فنولوژیک در شرایط دیم (اثر منفی) و نشانگر XGWM577 (a₂) برای عملکرد دانه و صفات فیزیولوژیک در شرایط آبیاری و برخی صفات فنولوژیک در شرایط دیم (اثر مثبت) به‌طور مشترک دارای ارتباط بودند. ضمناً بیش‌ترین نشانگرهای مثبت در شرایط دیم مربوط به صفت سرعت پر شدن دانه و در شرایط آبیاری به‌ترتیب مربوط به صفات عملکرد دانه، کارایی مصرف آب، سرعت پر شدن دانه، محتوی آب نسبی برگ و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک بود. به هر حال، از نشانگرهای آگاهی‌بخش دارای اثر معنی‌دار مثبت و منفی می‌توان برای غربال گیاهان در مرحله گیاهچه‌ای استفاده و ضمن افزایش یا کاهش ارزش صفات فیزیولوژیک، فنولوژیک و عملکرد، به به‌نژادگران در کوتاه کردن زمان و کاهش هزینه‌ها کمک شایانی کرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج جهت در اختیار قرار دادن بذره‌های این پژوهش تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

- Abdollahi Mandoulakani, B. and Azizi, H. 2014.** Identification of ISSR markers associated with morphological traits in cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations. *Journal of Cellular and Molecular Research*, 27(2), pp. 260-268. [In Persian]. <https://doi.net/dor/20.1001.1.23832738.1393.27.2.10.0>.
- Abdolshahi, R., Safarian, A., Nazari, M., Pourseyedi, S. and Mohamadi-Nejad, G. 2013.** Screening drought-tolerant genotypes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using different multivariate methods. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 59, pp. 685-704. <https://doi.org/10.1080/03650340.2012.667080>.
- Ahmadi, Gh., Siosemarde, A., Sohrabi, Y. and Jalal Kamali, M. 2021.** Relationship between developmental traits and grain yield in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) under terminal drought stress condition. *Applied Research in Field Crops*, 33(4), pp. 84-107. [In Persian]. <https://doi.org/10.22092/AJ.2021.343422.1484>.
- Ahmed, K., Shabbir, Gh., Ahmed, M. and Nawaz Shah, K. 2020.** Phenotyping for drought resistance in bread wheat using physiological and biochemical traits. *Science of the Total Environment*, 729, pp. 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139082>.
- 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(287), pp. 1-21. <https://doi.org/10.3390/plants9030287>.
- Ali, M.L., Baenziger, P.S., Ajlouni, Z.A.I., Campbell, B.T., Gill, K.S., Eskridge, K.M., Mujeeb-Kazi, A. and Dweikat, I. 2011.** Mapping QTL for agronomic traits on wheat chromosome 3A and a comparison of recombinant inbred chromosome line populations. *Crop Science*, 51, pp. 553-566. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.06.0359>.
- Al-Naggar, A.M.M., El-Shafi, M.A. E.M.A., El-Shal, M.H. and Anany, A.H. 2020.** Molecular assessment of genetic diversity among egyptian landraces of wheat (*Triticum aestivum* L.) using microsatellite markers. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 3(4), pp. 46-58. <https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2020/v3i430094>.
- Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D. and Sorrells, M.E. 1993.** Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36(1), pp. 181-186. <https://doi.org/10.1139/g93-024>.

- Ashrafi Parchin, R., Najaphi, A., Farshadfar, E. and Hokmalipour, S. 2011.** Evaluation of wheat Genotypes under drought stress based on phenological traits. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 3 (1), pp. 12-19. <https://doi.org/IJACS/2011/3-1/12-19>.
- Barrs, H.D. 1968.** Determination of water deficits in plant tissues. In: Kozolovski, T.T. (Ed.), *Water Deficits and Plant Growth*. Academic Press, pp. 235-368. <http://hdl.handle.net/102.100.100/323274?index=1>.
- Chavez-Ontiveros, J., Quintero-Soto, M.F., Pineda-Hidalgo, K.V., Lopez-Moreno, H.S., Reyes-Moreno, C., Garzon-Tiznado, J.A. and Lopez-Valenzuela, J.A. 2020.** Microsatellite-based genetic diversity and grain quality variation in chickpea genotypes from Mexico and international collections. *Agrociencia*, 54(1), pp. 57-73.
- Clarke, C.M., and McCaig, T.N. 1982.** Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. *Crop Science*, 22, pp. 503-506. <https://doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183X002200030015x>.
- Dezhestan, S., Izadi Dogunchi, M., Asghari, E. and Sadeghzadeh, B. 2016.** Genetic diversity of barley (*Hordeum vulgare*) genotypes using microsatellite markers and association analysis of traits related to drought compatibility. *Journal of Seedling and Seed Breeding*, 1-32(3), pp. 67-82. [In Persian]. <https://doi.org/10.22092/spij.2017.111289>.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin*, 19, pp. 11-15.
- Ebrahimi, A., Naghavi, M., Sabokdast, M. and Moradis, S.A. 2011.** Association analysis of agronomic traits with microsatellite markers in Iranian barley landraces barley. *Modern Genetics Journal*, 6 (1), pp. 35-43. [In Persian]. <https://dori.net/dor/20.1001.1.20084439.1390.6.1.5.3>.
- El-Esawi, M.A., Elashtokhy, M.M.A., Shamseldin, S.A.M., El-Ballat, E.M., Zayed, E.M. and Heikal, Y.M. 2023.** Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using phenological, molecular and DNA barcoding markers. *Genes*, 14(34), pp. 1-29. <https://doi.org/10.3390/genes14010034>.
- Farhangian-Kashani, S., Khaghani, Sh., Azadi, A., Changizi, M. and Gomarian, M. 2022.** Genetic structure of population and association analysis of some morpho-physiological traits of bread wheat using Simple Sequence Repeats (SSR) under salinity stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 65(2), 40-56. [In Persian]. <https://doi.org/10.30495/iper.2022.690249>.
- Farshadfar, A. 2018.** Genetic Modification of Environmental Stresses. First Edition. Vosough Publications. 844 p. [In Persian].
- Ghasemi, N., Mirfarkhai, R.H. and Abbasi, A.S. 2019.** Genetic diversity of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using microsatellite markers. *Journal Crop Breed Research*, 29, pp. 9-16 [In Persian]. <https://doi.org/10.29252/jcb.11.29.9>.
- Gholizadeh Seresti, R., Sabouri, H., Rahemi Karizaki, A., Fallahi, H.A. and Rezaei, M. 2020.** Identification of alleles related to rice traits using association analysis and haplotyping under normal and drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(4), pp. 1003-1016. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/escs.2019.1665.1373>.
- Haghpanah, K., Mirfakhraee, R., Khodadadi, M. and Shamsifar, S. 2020.** Study on genetic diversity of some barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars using SSR marker and physiological traits plant pigments and proline under late cold stress. *Journal of Crop Breeding*, 12(34), pp. 199-209. [In Persian]. <https://doi.org/10.29252/jcb.12.34.199>.
- Hashemi Nasab, H. 2011.** Study of several biochemical criteria of drought resistance in wheat cultivars and their relationship with yield. M.Sc. Dissertation in Plant Breeding. Shiraz University. [In Persian].
- Ilyas, N., Amjid, M.W., Saleem, M.A., Khan, W., Wattoo, F.M., Rana, R.M., Maqsood, R.H., Zahid, A., Shah, G.A., Anwar, A., Ahmad, M.Q., Shaheen, M., Riaz, H. and Ansari, M.J. 2020.** Quantitative trait loci (QTL) mapping for physiological and biochemical attributes in a Pasban90/Frontana recombinant inbred lines (RILs) population of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress condition. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, pp. 341-351. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.10.003>.
- Karimi Dastgerdi, Z., Mohammadi, Sh., Hooshmand, S. and Rabiei, M. 2020.** The Study of different irrigation regimes influences on heritability and some physiological characteristics in wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Production*, 13(4), 111-134. [In Persian]. <https://doi.org/10.22069/ejcp.2021.18421.2365>.

- Khodadadi, Z., Omidi, M., Etmnan, A. and Ebrahimi, A. 2020.** Analysis of genetic diversity and relationships among different genotypes of *Triticum aestivum* and *Aegilops tauschii* using SSR markers. *Modern Genetics Journal*, 15(4), pp. 287-296. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.20084439.1399.15.4.10.7>.
- Khodadadi, Z., Omidi, M., Etmnan, A. Ebrahimi, A. and Pour-Aboughadareh, A. 2023.** Molecular and physiological variability in bread wheat and its wild relative (*Aegilops tauschii* Coss.) species under water-deficit stress conditions. *BioTech (Basel)*, 12(3), pp. 1-14. <https://doi.org/10.3390/biotech12010003>.
- Knott, S. A. 2005.** Regression-based quantitative trait loci mapping: Robust, efficient and effective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360, pp. 1435-1442. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1671>.
- Kouhestani, M., Sadeghzadeh, S., Ebrahimi, M.A. and Yousefi, A. 2016.** Identification of SSR markers associated with agronomic traits in durum wheat. Proceedings of the 2nd International and 14th Iranian Genetics Congress. 21-23 May, 2016, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.
- Kumar, p., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R. and Pandey, B.K. 2009.** Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics Journals*, 2(4), pp. 141-162. <https://doi.org/10.3316/informit.090706285698938>.
- Lichtenthaler, H., and Wellburn, A.R. 1983.** Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11, pp. 591-592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
- Manette, A.S., Richard, C.J., Carver, B.F. and Mornhinweg, D.W. 1988.** Water relations in winter wheat as drought reistance indicators. *Crop Science*, 28, pp. 526-531. <https://doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800030021x>.
- Mirdrikvand, R., Khyrolahi, A., Ebrahimi, A. and Rezvani, M. 2015.** Study of genetic diversity among some rainfed bread and durum wheat genotypes, using SSR markers. *Journal of Plant Genetic Research*, 2(1), pp. 35-44. [In Persian]. <https://doi.org/10.29252/pgr.2.1.35>.
- Mir, R.R., Zaman-Allah, M., Sreenivasulu, N., Trethowan, R.M. and Varshney, R.K. 2012.** Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theoretical and Applied Genetics*, 125, pp. 625-645. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1904-9>.
- Mohammadi, M., Mirfakhraee, S.R.G. and Abbasi, A.R. 2015.** Genetic diversity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) as revealed by microsatellite markers and association analysis of physiological traits related to spring cold stress. *Modern Genetics Journal*, 9(3), pp. 279-288. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7>.
- Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M. 2003.** Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, pp. 1235-1248. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1235>.
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M. Cudan, C. and Singh, N.N. 2002.** A microsatellite marker based study of chromosomal regions and gene effects on yield and yield components in maize. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 7, pp. 599-606.
- Moosavi, S.S., Abdi, F., Abdollahi, M.R., Tahmasebi-Enferadi, S. and Maleki, M. 2020.** Phenological, morpho-physiological and proteomic responses of *Triticum boeoticum* to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, pp. 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.016>.
- Naderi, F., Bavandpori, F., Farshadfar, E. and Farshadfar, M. 2020.** Screening and identification of drought tolerant bread wheat landraces (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, 14(2), pp. 275-292. [In Persian]. <https://doi.org/10.30495/jcep.2020.676143>.
- Nahas, L.D., Alsamman, A.M., Hamwieh, A., Al-Husein, N. and Lababidi, Gh. 2020.** Characterization of EST-SSR markers in bread wheat EST related to drought tolerance and functional analysis of SSR-containing unigenes. *Highlights in Bioscience*, 3, pp. 1-12. <https://doi.org/10.36462/H.BioSci.20203>.
- Najaphy, A., Ashrafi, R. and Farshadfar, E. 2012.** Evaluation of genetic diversity in wheat cultivars and breeding lines using inter simple sequence repeat markers. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 25, pp. 2634-2638. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2011.0093>.
- Nikzade Talebi, S., Aalami, E., Esfahani, M. and Ebadi, E.A. 2016.** Evaluation of allelic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to pre-harvest sprouting

- in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 18(1), pp. 49-62. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3>.
- Noori, A. 2013.** Investigation of the genetic diversity structure of wild wheatgrass *Aegilops lindrica* populations in Iran using genomic, cytogenetic and morphological microsatellite markers. M.Sc. Dissertation in Plant Breeding, Ilam University. [In Persian].
- Pireivatioum, J., Qasimov, N. and Maralian, H. 2010.** Effect of soil water stress on yield and prolin content of four wheat lines. *African Journal of Biotechnology*, 9, pp. 036-040. <https://doi.org/10.4314/AJB.V9I1>.
- Rakshit A., Rakshit, S., Singh, J., Chopra, S.K., Balyan, H.S., Gupta, P.K. and Bhat, S.R. 2010.** Association of AFLP and SSR markers with agronomic and fibre quality traits in *Gossypium hirsutum* L. *Journal of Genetics*, 89, pp. 155-162. <https://doi.org/10.1007/s12041-010-0055-5>.
- Ramya, P., Chaubal, A., Kulkarni, K., Gipta, L., Kadoo, N., Dhaliwal, H.S., Chhuneja, P., Lagu, M. and Gupta, V. 2010.** QTL mapping of 1000-kernel weight, kernel length, and kernel width in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Applied Genetics*, 51, pp. 421-429. <https://doi.org/10.1007/BF03208872>.
- Ranjbar, M., Naghavi, M.R., Zali, A., Aghaei, M.J. and Mardi, M. 2009.** Identification of informative markers of SSR in *Aegilops crassa* accessions of Iran. *Journal of Agriculture*, 11, pp. 47-56. [In Persian].
- Ruan, Ch. 2010.** Germplasm-regression-combined marker-trait association identification in plants. *African Journal of Biotechnology*, 9(5), pp. 573-580. <https://doi.org/10.5897/AJB09.001>.
- Sallam, A., Alqudah, A.M., Dawood, M., Baenziger, P.S. and Borner, A. 2019.** Drought stress tolerance in wheat and barley: Advances in physiology, breeding and genetics research. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, pp. 1-36. <https://doi.org/10.3390/ijms20133137>.
- Shiri, A., Ramezanpour, S.S., Soltanloo, H., Kalateh Arabi, M. and Kia, Sh. 2014.** Evaluation of genetic diversity of some cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.) lines by AFLP markers. *Modern Genetics Journal*, 9(4), pp. 429-438. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.20084439.1393.9.4.5.0>.
- Soleimani, Z., Ramshini, H., Mortazavian, S.M.M., Fazelnajafabadi, M. and Foughi, B. 2014.** Screening for drought tolerance in Iranian wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) using physiological traits evaluated under drought stress and normal condition. *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), pp. 200-207. <https://doi.org/10.3316/informit.198674556160794>.
- Tardieu, F. 2012.** Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right scenario. *Journal of Experimental Botany*, 63, pp. 25-31. <https://doi.org/10.1093/jxb/err269>.
- Virk, P.S., Ford-Lloyd, B.V., Jackson, M.T., Pooni, H.S., Clemeno, T.P. and Newbury, H.J. 1996.** Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. In: IRRI, Rice genetics III. Proceedings of The 3rd International Rice Genetics Symposium. 16-20 Oct. 1995, Manila, Philippines. Pp. 307-316. https://doi.org/10.1142/9789812814289_0026.
- Wright, P.R., Morgan, J., Jessop, R. and Cass, A. 1995.** Comparative adaptation of canola (*Brassica napus*) and Indian mustard (*B. juncea*) to soil water deficits: yield and yield components. *Field Crops Research*, 42, pp. 1-13. [https://doi.org/10.1016/0378-4290\(95\)00013-G](https://doi.org/10.1016/0378-4290(95)00013-G).
- Xing, H., Tan, L., An, L., Zhao, Z., Wang, S. and Zhang, C. 2004.** Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: Inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss. *Plant Growth Regulation*, 42, pp. 61-68. <https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000014894.48683.1b>.
- Yaghotipoor, A. 2016.** Association analysis of drought resistance indices and stability parameters in bread wheat. Ph.D. Dissertation in Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, Iran. [In Persian].
- Zali, H., Sofalian, O., Hasanloo, T., Zeinalabedini, M. and Asghari, Ali. 2020.** Evaluation of association among canola physiologic and morphologic traits with SSR molecular marker in drought stress condition. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(4), pp. 1017-1029. [In Persian]. <https://doi.org/10.22077/escs.2019.1705.1385>.
- Zergani, M., Ranjbar, Gh. A. and Ebrahimnezhad, Sh. 2015.** Molecular assessment of genetic diversity among bread wheat (*Triticum aestivum* L.) doubled haploid lines using ssr markers. *Journal of Crop Breeding*, 7(15), pp. 88-95. [In Persian]. <https://dorl.net/dor/20.1001.1.22286128.1394.7.15.12.2>.