

DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.2.6.9

شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفات زراعی و ریخت‌شناسی در جمعیت‌های وحشی گندم

اینکورن (*Triticum boeoticum* L.)

Identification of microsatellite markers associated with agronomic and morphological traits in wild einkorn wheat (*Triticum boeoticum* L.) populations

محمد مهدی پورسیاه‌بیدی^۱، کیانوش چقامیرزا^۲، صحبت بهرامی‌نژاد^۳ و علی اشرف مهربانی^۴

چکیده

پورسیاه‌بیدی، م. م.، ک. چقامیرزا، ص. بهرامی‌نژاد و ا. ع. مهربانی. ۱۴۰۱. شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفات زراعی و ریخت‌شناسی در جمعیت‌های وحشی گندم اینکورن (*Triticum boeoticum* L.). نشریه علوم زراعی ایران. ۲۴ (۲): ۱۹۵-۱۸۱.

این پژوهش با هدف شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفات زراعی - ریختی در جمعیت‌های وحشی گندم اینکورن جمع‌آوری شده از غرب ایران انجام شد. مواد گیاهی شامل ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن گزینش شده از ۶۶۴ نمونه جمع‌آوری شده از ۳۴ ناحیه در استان‌های ایلام، کرمانشاه و کردستان بود. صفات طول برگ، عرض برگ، ارتفاع بوته، طول پداتکل، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، روز تا گلدهی، تعداد سنبله در بوته و عملکرد دانه طی دو سال زراعی (۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵) ارزیابی شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در دو سال آزمایش برای اکثر صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. ارزیابی ژنتیکی با استفاده از ۲۱ نشانگر ریزماهواره معرفی شده روی ژنوم A گندم نان (هر کروموزوم سه جفت آغازگر) انجام شد. نتایج نشان داد که ۱۹ جفت آغازگر در ۱۶۳ ژنوتیپ منتخب، انتقال‌پذیر بوده و تکثیر شدند. بر اساس نتایج تحلیل ساختار ژنتیکی جمعیت، چهار زیرجمعیت شناسایی شدند. در تجزیه ارتباط نشانگر-صفت با در نظر گرفتن ماتریس ضرایب ساختار جمعیت مشخص شد که در هر دو مدل GLM و MLM تعداد ۸۷ ارتباط صفت - نشانگر ریزماهواره بسیار معنی‌دار بودند. در مجموع ۸۹ درصد از نشانگرها در شناسایی جایگاه‌های آللی ژنوم گندم اینکورن برای ۱۲ صفت مورد مطالعه نقش داشتند. نتایج کلی این تحقیق نشان داد که استفاده توأم از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی ریزماهواره علاوه بر شناسایی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن، برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی در برنامه‌های به نژادی نیز قابل استفاده هستند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباطی، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، نشانگر ریزماهواره و گندم اینکورن

این مقاله مستخرج از رساله دکتری نگارنده اول می باشد

۱- دانش آموخته دکتری دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: m.siahbidi@gmail.com)

۲- دانشیار دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۳- دانشیار دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۴- دانشیار بخش زیست فناوری، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

مقدمه

گندم به عنوان مهم ترین گیاه زراعی، نقش چشمگیری در تامین پروتئین و کالری مورد نیاز مردم جهان ایفا می کند (Arzani and Ashraf, 2017). بر اساس برآورد سازمان غذا و خواربار جهانی (FAO, 2020) سطح زیر کشت این گیاه در سال ۲۰۱۹ در کشور ایران ۷/۶ میلیون هکتار بوده است.

تغییر اقلیم و گرم شدن کره زمین نیاز به بهره برداری بیش از پیش از ذخایر توارثی جهت ایجاد ارقام مقاوم به تنش های محیطی از جمله گرما، خشکی و شوری را افزایش داده است. ضمن اینکه فرسایش ژنتیکی و محدود شدن تنوع ژنتیکی ارقام زراعی موجود، الزام جمع آوری و بهره برداری از ذخایر توارثی را دو چندان نموده است. با توجه به تنوع ژنتیکی بالا و پراکندگی جغرافیایی گونه های گندم اینکورن در مناطق شمال غربی و غرب ایران، جمع آوری ژرم پلاس، ارزیابی های اولیه و در نهایت بکارگیری تنوع در برنامه های به نژادی به منظور انتقال ژن های مفید به گونه های زراعی دارای اهمیت است. از طرف دیگر اکثر صفات زراعی مرتبط با عملکرد دانه در گندم توارث کمی داشته و نقشه یابی این صفات نه تنها به شناخت وضعیت ژنتیکی آنها کمک می کند، بلکه در انتخاب ژنوتیپ مورد نظر به کمک نشانگر مفید بوده و زمینه را برای همسانه سازی ژن های مهم فراهم می سازند (Yu et al., 2014).

یکی از پیشرفت های مهم که اخیراً در استفاده از نشانگرهای مولکولی پدید آمده، تشخیص نشانگرهای پیوسته با صفات مطلوب گیاهی است. نقشه یابی ارتباطی یا تجزیه ارتباطی روش مناسبی برای بررسی رابطه بین نشانگرهای مولکولی و مکان های ژنتیکی خصوصیات کمی (QTL) بر پایه عدم تعادل لینکاژی (LD) می باشد. مطالعه ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی کاربردهای فراوانی دارد.

مشخص کردن رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات مهم زراعی می تواند موجب افزایش کارایی

برنامه های به نژادی شود. در ژنوم موجودات عالی تعداد زیادی از توالی های ساده DNA یافت می شوند که با اندازه های متفاوت در کل طول ژنوم پراکنده هستند، به طوری که توالی ها با واحدهای بزرگتر، جایگاه طولانی تری را روی ژنوم به خود اختصاص می دهند. مهم ترین این توالی ها DNA ماهواره ای هستند که شامل قطعات حداقل ۱۰۰ جفت باز بوده که طول آنها گاهی به چندین مگابافت باز نیز می رسد (Chambers and Macavoy, 2000).

دودینگ و همکاران (Dodig et al., 2012) در آزمایشی تحت رژیم های مختلف آبی در ۹۶ جمعیت گندم پاییزه، نقشه یابی ارتباطی ۲۴ صفت زراعی را با استفاده از ۴۶ مکان ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق برای تیمارهای خشکی، کشت دیم و آبی ۲۹ رابطه صفت-نشانگر معنی دار شناسایی شدند. علیرغم اینکه در شرایط خشکی هیچ نشانگر مرتبطی با عملکرد دانه شناسایی نشد، ولی تعدادی از روابط صفت-نشانگر مرتبط با صفات زراعی و مورفولوژیک که همبستگی بالایی در شرایط خشکی با عملکرد دانه نشان دادند، شناسایی شدند. احمد و همکاران (Ahmad et al., 2014) به منظور شناسایی QTL هایی برای صفات تحمل به خشکی روی کروموزوم 2A گندم، در ۱۰۸ ژنوتیپ و رقم تحت شرایط بدون تنش و تنش آبی، ارتباط ۲۸ لوکوس ریزماهواره را با ۱۵ صفت زراعی مورد ارزیابی قرار دادند که در مجموع ۱۱ ارتباط نشانگر-صفت به وسیله مدل خطی مختلط شناسایی شدند. لایدو و همکاران (Laidò et al., 2014) در آزمایش روی ۲۳۰ لاین گندم تتراپلوئید (۱۲۸ رقم گندم دوروم و ۱۰۲ جمعیت اهلی و وحشی) با استفاده از ۹۹۶ نشانگر متشکل از نشانگرهای ریزماهواره و DArT، نشانگرهای معنی دار و مرتبط فراوانی را برای ارتفاع بوته، تاریخ ظهور سنبله، میزان پروتئین و وزن هزار دانه شناسایی کردند.

ارزیابی و بهره برداری از تنوع ژنتیکی گندم وحشی

دیپلوئید اینکورن به عنوان والد بخشنده ژنوم A به گندم‌های دوروم و نان از اهمیت بالایی برخوردار است (Jannik et al., 2001)، ولی تحقیقات اندکی درباره ارتباط نشانگرهای مولکولی با صفات زراعی-ریختی در گندم اینکورن انجام شده است. اخیراً ولانته و همکاران (Volante et al., 2021) با استفاده از ۱۶۰ نمونه و ۳۳۲۶۰ نشانگر DArT به مطالعه ارتباط در وسعت ژنومی بین صفات ریخت‌شناسی و نشانگر در گندم اینکورن پرداخته‌اند. ایران یکی از زیستگاه‌های اصلی این گونه گندم است. این گیاه در مناطق غربی کشور به وفور به طور خودرو رشد می‌کند (Salvi and Tuberosa, 2005). درباره تنوع ژنتیکی صفات زراعی در گندم‌های اینکورن غرب کشور اطلاعات اندکی در دسترس است، بنابراین پژوهش حاضر به منظور شناسایی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره آگاهی‌بخش مرتبط با صفات زراعی-ریختی گندم اینکورن جمع‌آوری شده از غرب ایران و تعیین سهم هر یک از نشانگرها در تبیین تنوع فنوتیپی این صفات انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ابتدا ۶۶۴ نمونه (accessions) گندم اینکورن (*Triticum boeoticum*) از ۳۴ ناحیه در مناطق مختلف غرب ایران (استان‌های ایلام، کرمانشاه و کردستان) طی دو سال ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند (Poursiahbidi et al., 2020). نمونه‌های جمع‌آوری شده در هر ناحیه به عنوان یک جمعیت در نظر گرفته شدند. اصول جمع‌آوری نمونه‌ها از لحاظ شناسایی گونه، فواصل بین مکان‌های نمونه‌برداری، در نظر گرفتن تنوع ریختی بین نمونه‌ها، مختصات جغرافیایی (GPS) مکان‌های جمع‌آوری رعایت شده و باتوجه به میزان پراکندگی، از هر ناحیه بین ۱۰ تا ۲۰ سنبله بصورت مجزا جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده همراه با سه رقم گندم نان و سه رقم گندم دوروم

به عنوان شاهد در دو ردیف سه متری در قالب طرح آگمنت با ۱۳ بلوک ناقص طی دو سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ و ۹۵-۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی زنجره شهرستان چرداول استان ایلام کشت شدند. اگرچه کلیه ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات زراعی-ریختی در مدت دو سال ارزیابی شدند، ولی تنها داده‌های ۱۶۳ ژنوتیپ برای بررسی ارتباط با نشانگر در تحقیق حاضر مورد استفاده قرار گرفتند. در طول دوره رشد و در مراحل فنولوژیک مناسب بر اساس سیستم ارزیابی استاندارد (Standard Evaluation System) (Ahmad et al., 2022)، اندازه‌گیری‌های لازم برای صفات مورفولوژیک و صفات زراعی شامل طول برگ، عرض برگ، ارتفاع بوته، طول پدانکل، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، روز تا گلدهی، تعداد سنبله در بوته، عملکرد دانه و عملکرد تک بوته روی پنج بوته تصادفی از هر کرت انجام شد. منظور از عملکرد تک بوته عملکرد بالقوه بوته بوده و عملکرد دانه مقدار عملکرد دانه واقعی استحصالی است.

ارزیابی مولکولی در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ایلام انجام شد. برای ارزیابی تنوع مولکولی و نقشه‌یابی ارتباطی، تعداد نمونه‌های مورد استفاده کاهش داده شد. برای منظور از هر کدام از ۳۴ جمعیت گندم اینکورن که مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند، پنج نمونه بر اساس نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای صفات زراعی انتخاب شدند (جمعیت با پنج زیرشاخه، از هر زیر شاخه یک نمونه انتخاب شد، جمعیتی با دو زیرشاخه سه نمونه از یک زیرشاخه و دو نمونه از زیرشاخه دوم انتخاب شدند). در مجموع ۱۶۳ نمونه منتخب برای مطالعات مولکولی، به‌ویژه بررسی تنوع ژنتیکی و نقشه‌یابی ارتباطی، مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج دی‌ان‌آ از نمونه برگ تر در ۱۶۳ ژنوتیپ به روش CTAB بر اساس روش دوویل و دوویل (Doyle and Doyle, 1990)

با تغییراتی، انجام شد. برای این کار، ۳۰۰ میکرولیتر مرکاپتواتانول در هر ۱۰۰ میلی لیتر بافر استخراج استفاده شد و در مرحله رسوب دی آن از نمک استات آمونیوم استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر اساس روش ویلیامز و همکاران (Williams *et al.*, 1990) با اندکی تغییرات انجام شد. به منظور بهینه‌سازی مقدار و

نسبت اجزای تشکیل دهنده مخلوط واکنش، مخلوط‌های مورد استفاده بر اساس مقادیر کلرور منیزیوم و دی آن آزمون شده و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به صورت تاج‌داون انجام شد. توالی و مشخصات ۱۹ جفت آغازگر ریزماهواره مورد استفاده در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده

Table 1. Characteristics of the used SSR primers

آغازگر Primer	نام اختصاری Abbreviation	رفت 5'-Forward-3'	برگشت 5'-Reverse-3'	دمای اتصال Tm (°C)
Xgwm 164-1A	SSR-1	TTG TTA ACA AAT CGC ATG CG	ACA TTT CTC CCC CAT CGT C	55
Xgwm99-1A	SSR-2	GCC ATA TTT GAT GAC GCA ATA	AAG ATG GAC GTA TGC ATC ACA	60
Xgwm33-1A	SSR-3	CAC TGC ACA CCT AAC TAC CTG C	GGA GTC ACA CTT GTT TGT GCA	60
Xgwm357-1A	SSR-4	AGG CTG CAG CTC TTC TTC AG	TAT GGT CAA AGT TGG ACC TCG	55
Xgwm497-1A	SSR-5	CCG AAA GTT GGG TGA TAT AC	GTA GTG AAG ACA AGG GCA TT	50
Xgwm312-2A	SSR-6	ACA TGC ATG CCT ACC TAA TGG	ATC GCA TGA TGC ACG TAG AG	60
Xgwm249-2A	SSR-7	CTG CCA TTT TTC TGG ATC TAC C	CAA ATG GAT CGA GAA AGG GA	55
Xgwm480-3A	SSR-8	CCG AAT TGA CCG CCA TAG	TGC TGC TAC TTG TAC AGA GGA C	55
Xgwm369-3A	SSR-9	ACC GTG GGT GTT GTG AGC	CTG CAG GCC ATG ATG ATG	55
Xgwm162-3A	SSR-10	AGA AGA AGC AAA GCC TTC CC	AGT GGA TCG ACA AGG CTC TG	55
Xgwm4-4A	SSR-11	CAC TGT CTG TAT CAC TCT GCT	GCT GAT GCA TAT AAT GCTGT	60
Xgwm610-4A	SSR-12	AAT GGC CAA AGG TTA TGA AGG	CTC CCT TCT CCA TGG TTT GT	60
Xgwm637-4A	SSR-13	TAT ACG GTT TTG TGA GGG CG	AAA GAG GTC TGC CGC TAA CA	55
Xgwm165-4A	SSR-14	CTT TTC TTT CAG ATT GCG CC	TGC AGT GGT CAG ATG TTT CC	55
Xgwm595-5A	SSR-15	GCC ACG CTT GGA CAA GAT AT	GCA TAG CAT CGC ATA TGC AT	60
Xgwm126-5A	SSR-16	GTT GAG TTG ATG CGG GAG G	CAC ACG CTC CAC CAT GAC	60
Xgwm156-5A	SSR-17	CAA TGC AGG CCC TCC TAA C	CCA ACC GTG CTA TTA GTC ATT C	60
Xgwm459-6A	SSR-18	AGC TTC TGT GAC CAA CTT CTC G	ATG GAG TGG TCA CAC TTT GAA	60
Xgwm282-7A	SSR-19	TCT CAT TCA CA CACA ACA CTA GC	TTG GCC GTG TAA GGC AG	55

گرفته شد. انتساب افراد به زیرجمعیت‌ها نیز بر اساس روش اسپاتارو و همکاران (Spataro *et al.*, 2011) انجام شد. پس از تعیین تعداد K، شناسایی نشانگرهای مرتبط و دارای ارتباط معنی‌دار با صفات مورد ارزیابی، براساس مدل خطی عمومی (GLM) وابسته به ماتریس Q (ماتریس ضرایب ساختار جمعیت) و مدل خطی مختلط (MLM) وابسته به ماتریس Q+K (ماتریس روابط خویشاوندی) جهت جلوگیری از ارتباط کاذب بین نشانگر- صفت، با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 4. 1. 32 انجام شد (Bradbury *et al.*, 2007) (جدول ۲).

امتیازدهی باندهای حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به صورت یک برای وجود باند و صفر برای عدم وجود باند انجام شد. برای تفکیک جمعیت به زیرجمعیت‌های متمایز از لحاظ ساختار ژنتیکی و تجزیه ساختار، از نرم‌افزار STRUCTURE نسخه 2.3.4 استفاده شد (Pritchard *et al.*, 2000). مقادیر اولیه K (تعداد بهینه زیرجمعیت‌های مورد مطالعه در جمعیت مورد نظر) از طریق شبیه‌سازی با طول دوره Bumin ۱۰۰۰۰ و تعداد تکرار MCMC ۱۰۰۰۰ تعیین شد. برای این منظور تعداد بهینه K بر اساس روش اوانو و همکاران (Evanno *et al.*, 2005) از ۲ تا ۱۰ در نظر

جدول ۲- مدل‌های آماری استفاده شده برای تجزیه ارتباط نشانگرها و صفات زراعی-ریختی در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 2. Statistical models used to perform association analysis of markers and agro-morphological

traits in einkorn wheat genotypes	
مدل	داده‌های مورد استفاده
Model	Data
GLM	Phenotype + SSR + Q ^b
MLM	Phenotype + SSR + K + Q
General linear model; GLM	
مدل خطی عمومی	
داده‌های ساختار جمعیت یا اصل و نسب انتساب شده از افراد: Q	
Population structure data or ancestry attributed to individuals	
Mixed linear model; MLM	
مدل خطی مختلط	
Kهای خویشاوندی حاصل از مشابهت کلی افراد از لحاظ زمینه ژنتیکی ناشی از خویشاوندی: داده	
Kinship data resulting from the general similarity of individuals in terms of genetic background due to kinship	

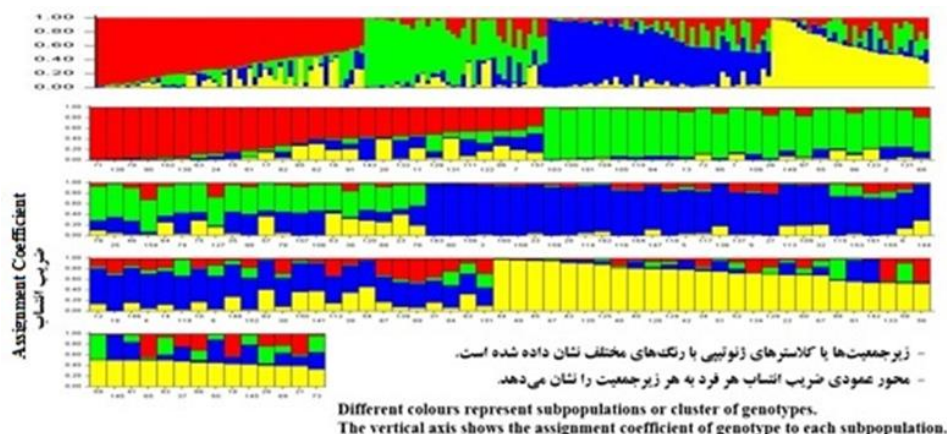
تجزیه ارتباط بین نشانگر و صفات‌های اندازه گیری شده با استفاده از مدل مختلط خطی MLM و به کمک ماتریس خویشاوندی Kinship و مقادیر بهترین تخمین نااریب خطی (Best Linear BLUP Unbiased Prediction) حاصل از تلفیق میانگین‌های تصحیح شده در هر دو محیط آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار GenStat انجام شد. برای تعیین ژن‌های متناظر نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفت مورد نظر، توالی‌های موجود در دو طرف هر یک از این نشانگرها از پایگاه اطلاعاتی آرایه K90 گندم استخراج شد (Wang et al., 2014).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه ساختار جمعیت شامل آماره‌های محاسبه شده به منظور تعیین مقدار K برای ژنوتیپ‌های گندم اینکورن در جدول ۳ و تجزیه خوشه‌ای مبنی بر مدل بیز برای ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن براساس K=۴ محاسبه شده در شکل ۱ ارائه شده است. براساس نتایج حاصل، آماره K استخراج شده و نمودار دوبعدی با توجه به این معیارها رسم شد. با توجه به این موضوع و همچنین تغییر بسیار جزئی که در منحنی رسم شده وجود داشت، تعیین زیر جمعیت‌های احتمالی در ژرم‌پلاسز ژنوتیپ‌های گندم اینکورن امکان پذیر نشد.

در این شکل مقدار K برابر ۴ به صورت جزئی و نه بطور کاملاً واضح، نشان داد که در آن شکستگی صورت گرفته است، بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده، چهار زیر جمعیت احتمالی در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن شناسایی شد. نتایج تجزیه ساختار نشان داد که تعداد خوشه‌هایی که فراسنجه (پارامتر) ΔK را به حداکثر خود می‌رساند، برابر ۴ بوده و ۱۶۳ ژنوتیپ‌های گندم اینکورن به صورت مخلوط به چهار گروه تقسیم بندی شدند.

مقایسه نتایج تجزیه خوشه‌ای و تجزیه ساختار و همچنین تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که علیرغم مطابقت قابل توجه بین این دو تجزیه در زیر گروه‌های کوچک، مطابقت کاملی بین آنها وجود ندارد. مقایسه دو تجزیه انجام شده روی داده‌های مولکولی نشان داد که جمعیت‌های گندم اینکورن از لحاظ ساختار ژنتیکی که تفاوت‌های بین آنها ناشی از تفاوت فراوانی آللی و آماره F رایت (Wright's F-statistics) است، قابل تقسیم به زیر گروه‌های مختلف هستند. نتایج گروه‌بندی براساس ساختار ژنتیکی با گروه‌بندی بر اساس تجزیه خوشه‌ای می‌تواند متفاوت یا مشابه باشد، زیرا در تجزیه خوشه‌ای در ابتدا ماتریس شباهت بین افراد تشکیل شده و سپس از الگوریتم خاصی برای گروه‌بندی استفاده می‌شود که این کار می‌تواند به روش متفاوتی انجام



شکل ۱- بارپلات گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم اینکورن با استفاده از مدل بی‌زین و مشخص شدن چهار زیرجمعیت با رنگ‌های مختلف

Fig. 1. Barplot grouping of einkorn wheat genotypes using Bayesian model and identifying 4 subpopulations with different colors

شماره‌ها در قسمت پایین شکل نشان دهنده شماره ژنوتیپ است
Numbers at the bottom of the figure represents the genotype number

جدول ۳- آماره‌های تحلیل ساختار ژنتیکی و تشخیص تعداد زیرجمعیت‌های گندم اینکورن با استفاده از ΔK

Table 3. Genetic structure analysis statistics and detection of subpopulations of einkorn wheat using ΔK

K	$\ln[P(D)]$	$\text{var}[P(D)]$	SD	Mean $\ln[P(D)]$	Mean $\ln$	SD $\ln[P(D)]$	ΔK [$\ln(k)$]	ΔK^*
1	-0.161	0.741	0.861	-16086	-0.161	0.859	-0.187	0.187
2	-0.155	0.269	0.164	-15507	-0.155	0.155	-0.998	0.298
3	-0.150	0.328	0.181	-14976	-0.150	0.181	-0.827	0.127
4	-0.0164	0.563	0.237	-14643	-0.146	0.243	-0.603	0.603
5	-0.142	0.594	0.244	-14219	-0.142	0.244	-0.585	0.585
6	-0.139	0.590	0.243	-13865	-0.139	0.245	-0.566	0.566
7	-0.136	0.675	0.260	-13592	0.136	0.271	-0.502	0.502
8	-0.133	0.699	0.264	13294	-0.133	0.271	-0.492	0.492
9	-0.130	0.659	0.257	12970	0.130	0.266	-0.490	0.490
10	-0.126	0.958	0.309	-12853	-0.128	0.288	-0.446	0.446

$\ln$: لگاریتم طبیعی، K: تعداد زیرجمعیت بهینه، var: واریانس، $[P(D)]$: احتمال عدم تعادل لینکاژی، Mean $\ln$: میانگین لگاریتم طبیعی و SD: انحراف معیار
 $\ln$: Natural logarithm, K: number of optimal population, var: Variance, $[P(D)]$: Linkage Disequilibrium, Mean $\ln$: Mean of Natural logarithm and SD: Standard deviation

* بیشینه مقدار فراسنجه ΔK معرف تعداد بهینه زیرجمعیت متمایز از هم می‌باشد

*Maximum ΔK represents the optimum number of sub-populations

می‌گیرد (Pocovi and Mariotti, 2015). بر اساس نتایج گروه‌بندی‌ها، اکثر ژنوتیپ‌های گندم اینکورن بوسیله منشأ جغرافیایی از هم تفکیک نشدند، بنابراین هیچ دلیلی که نشان دهنده تفکیک جغرافیایی ژنوتیپ‌ها باشد، در گروه‌بندی یافت نشد. نتایج حاصل نشان داد که روابط بین ژنوتیپ‌های گندم اینکورن از تنوع

شود. در مدل پیشنهادی نرم‌افزار STRUCTURE با استفاده از روش بی‌زین (Bayesian approach) و بر اساس ژنوتیپ‌ها خوشه‌هایی از افراد در چندین مکان ژنی، تشکیل می‌شود. در روش بی‌زین نسبت به سایر روش‌های گروه‌بندی مانند تجزیه خوشه‌ای یا تجزیه به بردارهای اصلی، اطلاعات منشأ ژنوتیپ‌ها بیشتر مورد توجه قرار

برای عرض برگ در مدل GLM روی پنج کروموزوم و برای طول برگ روی شش کروموزوم متفاوت قرار داشتند، در حالی که در مدل MLM در صفت عرض برگ چهار نشانگر شناسایی شده روی چهار کروموزوم و در صفت طول برگ هفت نشانگر شناسایی شدند که باز هم روی شش کروموزوم قرار داشتند. با این پنج نشانگر در صفت عرض برگ، هفت آلل برای مدل‌های GLM و MLM شناسایی شد، اما در صفت طول برگ با هفت نشانگر معنی‌دار در هر دو مدل تعداد هشت آلل شناسایی شدند. بالاترین ضریب تبیین به نشانگر SSR15 با میزان توجیه ۶/۲۴ درصد از تغییرات عرض برگ، اختصاص داشت. در صفت طول برگ بالاترین ضریب تبیین مربوط به نشانگر SSR6 با میزان توجیه ۶/۶۰ درصد از تغییرات صفت طول برگ بود.

درونی موجود در هر منطقه جغرافیایی نشأت گرفته و در نتیجه در مناطقی که تنوع نسبتاً بالایی وجود داشت، به دلیل فاصله ژنتیکی زیاد ژنوتیپ‌ها، گروه‌بندی به آسانی انجام نشد. نتایج این پژوهش با نتایج سایر محققان روی ژنوتیپ‌های گندم دوروم مطابقت داشت (Ren et al., 2013).

تجزیه ارتباط با استفاده از دو مدل آماری GLM و MLM با نرم‌افزار TASSEL انجام شد. نشانگرهای دارای ارتباط معنی‌دار با هر صفت در دو مدل GLM و MLM به تفکیک هر صفت در جدول‌های ۴ تا ۱۵ ارائه شده‌اند.

برای صفات عرض و طول برگ به ترتیب پنج و هفت نشانگر ارتباط معنی‌داری داشتند (جدول‌های ۴ و ۵) که می‌تواند نشان دهنده پیچیدگی و توارث کمی این صفات باشد. در این صفات نشانگرهای معنی‌دار

جدول ۴- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و عرض برگ در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 4. Analysis of the relationship between SSR markers and leaf width in einkorn wheat genotypes

نشانگر Markers	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	آلل Allele	لوکوس Locus	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.013	M24	Xgwm497-1A	0.019	0.061
SSR-5	M30	Xgwm497-1A		M30	Xgwm497-1A		0.041
SSR-6	-	-		M34	Xgwm312-2A	0.017	0.053
SSR-6	-	-		M79	Xgwm312-2A		0.024
SSR-9	M58	Xgwm369-3A	0.032	M82	Xgwm369-3A	0.020	0.029
SSR-11	M79	Xgwm4-4A	0.049	M116	Xgwm4-4A	0.009	0.032
SSR-11	M82	Xgwm4-4A		M138	Xgwm4-4A		0.033
SSR-15	M116	Xgwm595-5A	0.001		Xgwm595-5A		0.062
SSR-18	M138	Xgwm459-6A	0.004		Xgwm459-6A		0.050

R²=0.3856

جدول ۵- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و طول برگ در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 5. Analysis of the relationship between SSR markers and leaf length in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.013	0.018	0.061
SSR-5	M30	Xgwm497-1A			0.041
SSR-6	M34	Xgwm312-2A	0.0009	0.001	0.066
SSR-9	M58	Xgwm369-3A	0.013	0.024	0.037
SSR-11	M82	Xgwm4-4A	0.017	0.03	0.038
SSR-15	M116	Xgwm595-5A	0.007	0.019	0.045
SSR-16	M118	Xgwm126-5A	0.049	0.006	0.026
SSR-18	M138	Xgwm459-6A	0.008	0.016	0.043

R²=0.356

برای صفات تعداد روز تا گلدهی و رسیدگی، به ترتیب نه و هفت نشانگر ارتباط معنی داری را داشتند (جدولهای ۶ و ۷). بالاترین ضریب تبیین با میزان توجیه ۵/۱ درصد از تغییرات صفت تعداد روز تا گلدهی به نشانگر SSR8 روی کروموزوم 3A اختصاص داشت و در صفت تعداد روز تا رسیدگی نشانگر SSR18 روی کروموزوم 6A با توجیه ۴/۱ درصد از تغییرات صفت، بالاترین ضریب تبیین را دارا بود. در صفات مذکور در هر دو مدل GLM و MLM به ترتیب و به طور مشترک ۱۰ و ۸ آلل شناسایی شدند.

جدول ۶- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و تعداد روز تا گلدهی در ژنوتیپهای گندم اینکورن

Table 6. Analysis of the relationship between SSR markers and days to flowering in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-1	M7	Xgwm 164-1A	0.030	0.030	0.029
SSR-2	M9	Xgwm99-1A	0.034	0.034	0.028
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.053	0.053	0.028
SSR-5	M25	Xgwm497-1A			0.036
SSR-8	M53	Xgwm480-3A	0.004	0.004	0.051
SSR-12	M87	Xgwm610-4A	0.046	0.046	0.025
SSR-13	M96	Xgwm637-4A	0.040	0.040	0.027
SSR-14	M102	Xgwm165-4A	0.034	0.034	0.029
SSR-15	M116	Xgwm595-5A	0.021	0.021	0.033
SSR-18	M136	Xgwm459-6A	0.018	0.018	0.034

R²=0.318

جدول ۷- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و تعداد روز تا رسیدگی در ژنوتیپهای گندم اینکورن

Table 7. Analysis of the relationship between SSR markers and days to maturity in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-1	M6	Xgwm 164-1A	0.017	0.017	0.035
SSR-2	M9	Xgwm 99-1A	0.014	0.014	0.037
SSR-8	M53	Xgwm 480-3A	0.014	0.014	0.037
SSR-9	M61	Xgwm 369-3A	0.010	0.010	0.040
SSR-12	M85	Xgwm 610-4A	0.076	0.077	0.028
SSR-12	M91	Xgwm 610-4A			0.026
SSR-18	M136	Xgwm 459-6A	0.009	0.009	0.041
SSR-19	M149	Xgwm 282-7A	0.046	0.046	0.024

R²=0.268

صفات ارتفاع بوته و طول پدانکل به ترتیب با پنج و چهار نشانگر ارتباط معنی داری را در دو مدل خطی و مختلط داشتند. بالاترین ضرایب تبیین برای صفات یاد شده به ترتیب مربوط به نشانگر SSR14 با توجیه به میزان ۳/۷۰ درصد و نشانگر SSR6 با توجیه ۵/۳۰ درصد از تغییرات صفات بودند (جدولهای ۸ و ۹). برای هر دو صفت فوق در هر دو مدل GLM و MLM به ترتیب پنج و چهار آلل مشترک شناسایی شدند. نتایج تجزیه ارتباط نشان داد که برای صفات تعداد سنبله در بوته، طول سنبله و تعداد دانه در سنبله به ترتیب هشت، هشت و پنج نشانگر ارتباط معنی داری داشتند. این نشانگرها در دو صفت تعداد سنبله در بوته و طول

جدول ۸- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 8. Analysis of the relationship between SSR markers and plant height in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-2	M9	Xgwm99-1A	0.044	0.044	0.025
SSR-8	M54	Xgwm480-3A	0.030	0.030	0.029
SSR-13	M93	Xgwm637-4A	0.033	0.033	0.029
SSR-14	M106	Xgwm165-4A	0.015	0.013	0.037
SSR-17	M129	Xgwm156-5A	0.067	0.058	0.025
SSR-17	M131	Xgwm156-5A			0.031

R²=0.177

جدول ۹- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و طول پدانکل در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 9. Analysis of the relationship between SSR markers and peduncle length in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-4	M18	Xgwm357-1A	0.030	0.031	0.031
SSR-6	M34	Xgwm312-2A	0.049	0.049	0.053
SSR-6	M36	Xgwm312-2A			0.024
SSR-8	M49	Xgwm480-3A	0.007	0.006	0.044
SSR-11	M76	Xgwm4-4A	0.008	0.008	0.044

R²=0.197

۴/۸۰ درصد و نشانگر SSR18 با توجیه ۵/۶۰ درصد از تغییرات بود. برای صفات تعداد سنبله در بوته و طول سنبله در هر دو مدل GLM و MLM به ترتیب تعداد ده و نه آلل مشترک شناسایی شدند، اما در صفت تعداد دانه در سنبله در مدل GLM هفت و در مدل MLM هشت آلل شناسایی شدند.

سنبله برای هر دو مدل GLM و MLM روی چهار کروموزم و در صفت تعداد دانه در سنبله در مدل های GLM و MLM به ترتیب روی سه و چهار کروموزم قرار داشتند (جدول های ۱۰، ۱۱ و ۱۲). بالاترین ضرایب تبیین برای صفات فوق به ترتیب مربوط به نشانگر SSR5 با ۴/۶۰ درصد، نشانگر SSR8 با توجیه

جدول ۱۰- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و تعداد سنبله در بوته در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 10. Analysis of the relationship between SSR markers and number of spike.plant⁻¹ in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-1	M2	Xgwm 164-1A	0.036	0.036	0.028
SSR-4	M18	Xgwm357-1A	0.032	0.032	0.031
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.007	0.007	0.046
SSR-6	M34	Xgwm312-2A	0.096	0.097	0.028
SSR-6	M35	Xgwm312-2A			0.024
SSR-6	M38	Xgwm312-2A			0.037
SSR-7	M41	Xgwm249-2A	0.044	0.010	0.025
SSR-11	M79	Xgwm4-4A	0.012	0.009	0.041
SSR-12	M87	Xgwm610-4A	0.009	0.025	0.044
SSR-15	M116	Xgwm595-5A	0.024	0.043	0.032

R²=0.3353

جدول ۱۱- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و طول سنبله در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 11. Analysis of the relationship between SSR markers and spike length in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-5	M28	Xgwm497-1A	0.040	0.0409	0.026
SSR-8	M49	Xgwm480-3A	0.049	0.0497	0.025
SSR-8	M50	Xgwm480-3A			0.048
SSR-11	M74	Xgwm4-4A	0.015	0.0153	0.037
SSR-12	M85	Xgwm610-4A	0.014	0.0149	0.037
SSR-13	M101	Xgwm637-4A	0.036	0.0365	0.028
SSR-14	M109	Xgwm165-4A	0.029	0.0297	0.030
SSR-15	M110	Xgwm595-5A	0.029	0.0296	0.029
SSR-17	M131	Xgwm156-5A	0.035	0.0356	0.027

R²=0.263

جدول ۱۲- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و تعداد دانه در سنبله در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 12. Analysis of the relationship between SSR markers and number of seed.spike⁻¹ in einkorn

wheat genotypes							
نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	آلل Allele	لوکوس Locus	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.075	M24	Xgwm497-1A	0.071	0.031
SSR-5	M82	Xgwm497-1A		M25	Xgwm497-1A		0.025
SSR-11	M86	Xgwm4-4A	0.006	M82	Xgwm4-4A	0.049	0.047
SSR-12	M91	Xgwm610-4A	0.049	M86	Xgwm610-4A	0.021	0.038
SSR-12	M136	Xgwm610-4A		M91	Xgwm610-4A		0.028
SSR-18	M138	Xgwm459-6A	0.031	M136	Xgwm459-6A	0.037	0.056
SSR-18	M143	Xgwm459-6A		M138	Xgwm459-6A		0.029
SSR-19				M143	Xgwm282-7A	0.029	

R²=0.254

نشانگر SSR5 با میزان توجیه ۷/۰۰ درصد از تغییرات بودند.

کوهستانی و همکاران (Kouhestani et al., 2016) در آزمایش مکان‌یابی ارتباطی، صفات وزن سنبله با شش مکان و عملکرد دانه با پنج مکان، دارای بیشترین مکان‌های مرتبط ژنومی در ارقام گندم دوروم بودند. دودینگ و همکاران (Dodig et al., 2012) در نقشه‌یابی ارتباطی ۲۴ صفت زراعی در ۹۶ جمعیت گندم پاییزه با استفاده از ۴۶ مکان ریزماهواره در تیمارهای آبیاری، ۲۹ رابطه صفت-نشانگر معنی‌دار در تیمارهای خشکی، دیم و آبیاری شناسایی کردند. هرچند که هیچ نشانگر مرتبط با عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی شناسایی نشد، اما تعدادی رابطه صفت-نشانگر مرتبط با صفات

برای صفات وزن هزار دانه، عملکرد تک بوته و عملکرد دانه به ترتیب پنج، دو و هشت نشانگر دارای ارتباط معنی‌دار بوده و روی پنج، دو و پنج کروموزوم از هفت کروموزوم قرار داشتند بودند. در صفت وزن هزار دانه برای این پنج نشانگر در مدل GLM هفت آلل و در مدل MLM شش آلل شناسایی شدند که در مدل MLM یک آلل ناشناخته ماند. عملکرد تک بوته در هر دو مدل GLM و MLM هر دو آلل درگیر بودند و در صفت عملکرد دانه با هشت نشانگر با مدل GLM و MLM هشت آلل شناسایی شدند (جدول‌های ۱۳ و ۱۴). بالاترین ضریب تبیین برای صفات فوق به ترتیب مربوط به نشانگر SSR9 با میزان توجیه ۷/۷۰ درصد، نشانگر SSR8 با میزان توجیه ۳/۴۰ درصد و

جدول ۱۳- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و وزن هزار دانه در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 13. Analysis of the relationship between SSR markers and 1000 grain weight in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	آلل Allele	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-4	M23	Xgwm357-1A	0.047	M23	0.0436	0.027
SSR-9	M58	Xgwm369-3A	0.021	M58	0.0552	0.033
SSR-9	M61	Xgwm369-3A		M61		0.077
SSR-13	M98	Xgwm637-4A	0.033	M127	0.0423	0.029
SSR-17	M127	Xgwm156-5A	0.025	M138	0.0046	0.031
SSR-18	M138	Xgwm459-6A	0.005	M140	0.0033	0.053
SSR-18	M140	Xgwm459-6A				0.057

R²=0.306

جدول ۱۴- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و عملکرد تک بوته در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 14. Analysis of the relationship between SSR markers and single plant yield in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-1	M2	Xgwm 164-1A	0.022	0.022	0.032
SSR-8	M51	Xgwm480-3A	0.019	0.019	0.034

R²=0.066

جدول ۱۵- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 15. Analysis of the relationship between SSR markers and grain yield in einkorn wheat genotypes

نشانگر Marker	آلل Allele	لوکوس Locus	GLM (G+P+Q)	MLM (G+P+Q+K)	R ²
SSR-1	M2	Xgwm 164-1A	0.042	0.042	0.026
SSR-4	M20	Xgwm357-1A	0.028	0.033	0.032
SSR-5	M24	Xgwm497-1A	0.0007	0.0006	0.070
SSR-6	M35	Xgwm312-2A	0.018	0.018	0.034
SSR-11	M82	Xgwm4-4A	0.016	0.014	0.037
SSR-15	M116	Xgwm595-5A	0.017	0.018	0.035
SSR-16	M117	Xgwm126-5A	0.044	0.037	0.026
SSR-18	M138	Xgwm459-6A	0.001	0.001	0.061

R²=0.32

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات مرتبط با عملکرد با استفاده از روش‌های GLM و MLM نشان داد که نشانگرهای SSR1، SSR2، SSR4، SSR5، SSR6، SSR7، SSR8، SSR9، SSR11، SSR12، SSR13، SSR14، SSR15، SSR16، SSR17، SSR18 و SSR19 نشانگرهای تأثیرگذاری در ژنوم گندم اینکورن هستند و بیشترین تأثیر مربوط به دو نشانگر SSR11 و SSR18 بود و فقط

زراعی و نموی که دارای همبستگی بالایی با عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی بودند، شناسایی شدند. مک‌آفری و همکاران (Maccaferri et al., 2011) در آزمایش نقشه‌یابی ارتباطی روی ۱۸۹ جمعیت گندم دوروم در ۱۵ منطقه متفاوت از نظر آبیاری با استفاده از ۱۹۱ نشانگر ریزماهواره نتیجه گرفتند که تعداد زیادی از نشانگرها ارتباط بسیار معنی‌داری با صفات مورد بررسی داشتند.

دو نشانگر SSR3 و SSR10 با صفات اندازه گیری شده هیچ گونه ارتباطی نداشتند. با استفاده از ۱۹ نشانگر مولکولی ریزماهواره در عین عدم پوشش ژنومی مناسب (Poursiahbidi *et al.*, 2020)، تنوع و ارتباط صفت-نشانگر قابل ملاحظه‌ای در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن شناسایی شد. از اطلاعات به دست آمده می‌توان به عنوان نقطه شروعی جهت گزینش به کمک نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی، برنامه‌ریزی حفاظت ژرم پلاسما و ایجاد کلکسیون از جمعیت‌های گندم اینکورن استفاده کرد. البته پیشنهاد می‌شود جهت افزایش کارایی شناسایی نشانگرهای مرتبط، از تعداد نشانگرهای ریزماهواره بیشتر و مؤثرتر مانند نشانگرهای SNP در پروژه‌های تجزیه ارتباط در گندم اینکورن استفاده شود. به علاوه لازم است نشانگرهای شناسایی شده در جمعیت‌های دیگری با تنوع ژنتیکی کافی مورد ارزیابی قرار گیرند تا از ارتباط آنها با صفات مورد بررسی اطمینان بیشتری حاصل شده و کارایی این نشانگرها در برنامه‌های به‌نژادی گندم افزایش یابد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان اظهار کرد که ۱- نشانگرهای ریزماهواره قابلیت انتقال پذیری از

گونه زراعی گندم نان به گونه وحشی گندم اینکورن را دارند ۲- می‌توان از آنها در گزینش ژنومی صفات زراعی-ریختی استفاده کرد و ۳- برای هر صفت، نشانگرهای خاص همراه با ضریب تبیین تغییرات فنوتیپی هر صفت شناسایی کرد. در عین حال باید به محدودیت این تحقیق نیز اذعان نمود، بدین ترتیب که اگرچه اندازه جمعیت گیاهی در تحقیق حاضر نسبتاً بزرگ بوده است، ولی استفاده از تعداد زیادتر نشانگر چندشکل در تحقیقات آتی، اطلاعات کامل‌تری را از روابط نشانگر با صفات مورد ارزیابی ارائه خواهد نمود.

سپاسگزاری

از آقای دکتر ژونخوا پنگ استاد آکادمی علوم چین که ضمن حضور در ایران، نگارندگان را در نحوه جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی راهنمایی کردند و همچنین از همکاری کارکنان آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، خصوصاً جناب آقای مهندس محسن مظفری که کمک‌های شایانی در انجام این تحقیق داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

References

- Ahmad, A., Z. Aslam, T. Javed, S. Hussain, A. Raza, R. Shabbir, F. Mora-Poblete, T. Saeed, F. Zulfiqar, M.M. Ali, M. Nawaz, M. Rafiq, H.S. Osman, M. Albaqami, M.A. Ahmed and M. Tauseef. 2022. Screening of Wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought tolerance through agronomic and physiological response. *Agronomy*, 12: 287:1-17.
- Ahmad M. Q., S.H. Khan, A. S. Kazi and S. M. A. Basra. 2014. Identification of QTLs for drought tolerance traits on wheat chromosome 2A using association mapping. *Int. J. Agric. Biol.* 16: 862-870.
- Arzani, A. and M. Ashraf. 2017. Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.): A potential source of health-beneficial food products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*. 16: 477-488.
- Bradbury, P., J. Zhang, Z. Kroon, D. E. Casstevens, T. M. Ramdoss and E. S. Buckler. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19): 2633-2635.
- Chambers, G. K. and E. S. Macavoy. 2000. Microsatellites: consensus and controversy. *Compar. Biochem. Physiol. Part B. Biochem. Mol. Biol.* 126: 455-476.

منابع مورد استفاده

- Dodig, D., M. Zoric, B. Kobiljski, J. Savic., V. Kandic, S. Quarrie and B. Barnes. 2012.** Genetic and association mapping study of wheat agronomic traits under contrasting water regimes. *Int. J. Mol. Sci.* 13(5): 6167-6188.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990.** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12(7): 13-15.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005.** Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* 14(3): 2611-2620.
- FAO. 2020.** Food agriculture organization statistics on line. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- Jannik, J. L., M. C. Bink and R. C. Jansen. 2001.** Using complex plant pedigrees to map valuable genes. *Trends Plant Sci.* 6: 337-42.
- Kouhestani, M., S. Sadeghzadeh, M. A. Ebrahimi and A. Yousefi. 2016.** Identification of SSR markers associated with agronomic traits in durum wheat. International & Iranian Genetics Congress, 22 – 24 May, Shahid Beheshti University, Tehran, IR Iran. (In Persian with English abstract).
- Laidò, G., D. Marone, M. A. Russo, S. A. Colecchia, A. M. Mastrangelo, A. M. De Vita. and R. Papa. 2014.** Linkage disequilibrium and genome-wide association mapping in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *PLoS One.* 9 (4): e95211.
- Maccaferri, M., M. C. Sanguineti, A. Demontis, A. El-Ahmed, L. G. Del Moral, F. Maalouf, M. Nachit, N. Nserallah, H. Ouabbou, S. Rhouma, C. Royo, D. Villegas and R. Tuberosa. 2011.** Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. *J. Exp. Bot.* 62(2): 409-438.
- Pocovi, M. I. and J. A. Mariotti. 2015.** A bayesian approach to inferring the genetic population structure of sugarcane accessions from INTA (Argentina). *Chilean J. Agri. Res.* 75: 152-159.
- Poursiahbidi, M. M., K. Cheghamirza, S. Bahraminezhad., A. Arzani and A. A. Mehrabi. 2020.** Evaluation of genetic variation in einkorn wheat originated from west Iran using microsatellite markers. *Agric. Biotechnol. J.* 12 (2): 183- 208.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155 (2): 945-59.
- Ren, J., D. Sun, L. Chen, F. M. You, J. Wang, Y. Peng, E. Nevo, D. Sun, M. C. Luo and J. Peng. 2013.** Genetic diversity revealed by single nucleotide polymorphism markers in a worldwide germplasm collection of durum wheat. *Int. J. Mol. Sci.* 14(5): 7061-7088.
- Salvi, S. and R. Tuberosa. 2005.** To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. *Trends Plant Sci.* 10 (6): 297-304.
- Spataro, G., B. Tiranti, P. Arcaleni, E. Bellucci, G. Attene, R. Papa, P. Spagnoletti, A. Zeuli. and V. Negri. 2011.** Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. *Theor. Appl. Genet.* 122: 1281-1291.

- Volante A., D. Barabaschi, R. Marino, A. Brandolini. 2021.** Genome-wide association study for morphological, phenological, quality and yield traits in einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*), G3 Genes|Genomes|Genetics. 11(11): 1-12.
- Wang, S., D. Wong, K. Forrest, A. Allen, S. Chao, B. E. Huang, M. Maccaferri, S. Salvi, S. G. Milner, L. Cattivelli, A. Mastrangelo, A. M. Whan, A. Stephen, S. Barker, G. Wieseke, R. J. Plieske, M. Mather, D. Appels, R. Dolferus, R. Brown-Guedira, G. Korol, A. Akhunova, A. R. Feuillet, C. Salse, J. Morgante, M. Pozniak, C. Luo, M. C. Dvorak, J. Morell, M. Dubcovsky, J. Ganal, M. Tuberosa, R. Lawley, C. Mikoulitch, I. Cavanagh, C. Edwards, K. J. Hayden and E. Akhunov. 2014.** Characterization of polyploidy wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array. Plant Biotechnol. J. 12 (6): 787-796.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik. and K. J. Livak. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res. 18: 6531-6535.
- Yu, H., Z. Deng, C. Xiang and J. Tian. 2014.** Analysis of diversity and linkage disequilibrium mapping of agronomic traits on B-genome of wheat. J. Genomics. 2: 20-30.

Identification of microsatellite markers associated with agronomic and morphological traits in wild einkorn wheat (*Triticum boeoticum* L.) populations

Poursiahbidi, M. M.¹, K. Cheghamirza², S. Bahraminezhad³ and A. A. Mehrabi⁴

ABSTRACT

Poursiahbidi, M. M., K. Cheghamirza, S. Bahraminezhad and A. A. Mehrabi. 2022. Identification of microsatellite markers associated with agronomic and morphological traits in wild einkorn wheat (*Triticum boeoticum* L.) populations. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 24(2): 181-195. (In Persian).

This study was carried out to investigate the relationship between microsatellite markers and some agronomic and morphological traits in wild einkorn wheat populations collected from western parts of Iran. Plant materials included 163 wild einkorn wheat accessions selected from 664 samples collected from 34 regions in of Ilam, Kermanshah and Kurdistan provinces. Seeds of selected accessions were grown in the field and the following agronomic and morphological traits were evaluated and scored in 2014-15 and 2015-16 cropping seasons: leaf length, leaf width, plant height, peduncle length, spike length, number of spikes.plant⁻¹, number of grains.spike⁻¹, 1000 grain weight, days to flowering, days to physiological maturity, grain yield and weight.plant⁻¹. Analysis of variance showed significant differences among genotypes across two cropping seasons for most of the measured phenotypic traits. The genotypic evaluation was performed using 19 microsatellites (SSR) markers on the selected 163 accessions. According to the results of K statistics and two-dimensional graphics based on SSR markers, four possible sub-populations in the germplasm of wild einkorn wheat were identified. Eventually, association analysis was performed using the population structure matrix and statistical models of GLM and MLM. The results showed that based on the GLM and MLM models 87 SSR marker-trait relationships were highly significant. Also 89% markers played roles in identifying allelic locations on the chromosomes for 12 studied traits. In conclusion, the results of this study revealed that integrated uses of agronomic and morphological traits with SSR markers could be useful in evaluating of genetic diversity of wild einkorn wheat and is beneficial for identifying markers associated with important agronomic traits in breeding programs.

Key words: Association analysis, Genetic diversity, Population structure, SSR marker and Wild einkorn

Received: February, 2022 Accepted: April, 2022

1. Former PhD Student, Razi University, Kermanshah, Iran (Corresponding author) (Email: m.siahbidi@gmail.com)

2. Associate Prof, Razi University, Kermanshah, Iran

3. Associate Prof., Razi University Kermanshah, Iran

4. Associate Prof., Biotechnology Department, Forests and Rangelands Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran