

اولویت‌بندی و شناسایی ژن‌های کاندید در برخی صفات ریشه گندم نان (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری

الینا نظری خاکشور^۱، امین آزادی^{۲*}، پیمان فروزش^۳، علیرضا اطمینان^۴ و اسلام مجیدی هروان^۵

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج
- ۲- استادیار، گروه اصلاح نباتات، واحد یادگار امام خمینی (ره) شهرری، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرری
- ۳- استادیار، گروه کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج
- ۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه
- ۵- استاد، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۳۰)

چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده محیطی در تولید انواع محصولات کشاورزی از جمله گندم است، به طوری که تولید ارقام جدید متحمل به شوری می‌تواند یکی از راه‌کارهای مؤثر در کاهش اثرات تنش در نظر گرفته شود. در این راستا، شناسایی ژن‌های مؤثر و مکانیسم‌های مولکولی درگیر در ایجاد تحمل شوری گامی مهم برای برنامه‌های بهنژادی به‌شمار می‌رود. در مطالعه حاضر، یک جمعیت از لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL) F12 شامل ۱۸۶ ژنوتیپ برای شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده برخی ویژگی‌های فیزیولوژی و میزان عناصر در مرحله گیاهچه‌ای گندم در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع دوازده QTL اصلی با استفاده از آنالیز مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) برای وزن تر، وزن خشک، طول، میزان سدیم و پتاسیم ریشه شناسایی شدند. بیشترین تعداد QTL‌های شناسایی شده بر روی کروموزوم‌های B و D قرار داشتند. تجزیه هستی‌شناسی ژن‌ها (Gene ontology) انجام و ژن‌های کاندید در ناحیه QTL شناسایی شدند؛ اگرچه قابل ذکر است که ژن‌های کاندید (CG)، برای تأیید، نیازمند شناسایی به کمک نشانگر هستند. در مجموع اولویت‌بندی ژن‌ها منتهی به تعیین ۳۴۸۶ ژن کاندید در ۱۹ عبارت GO (شامل ۸ فرآیند زیستی) شد که در فرآیندهای متابولیسم گلوکاتایون، کاتابولیک ال-فنیل آلانین، ترجمه سیتوپلاسمی، مسیر پیام‌رسانی فعال‌شده با اکسین، تنظیم رونویسی، DNA-الگو، پروتوپورفیرینوزن IX، سازمان و پیدایش دیواره سلولی، متابولیسم Xyloglucan، آمینوسیلاسیون لوسیل-tRNA، گلیکوزیلاسیون پروتئین، تنظیم رونویسی، بیوسنتز رنگ‌دانه و غیره نقش دارند. این روش (Gene ontology) ممکن است برای شناسایی CG‌های جدید ارائه شود که QTL مربوطه، مسئول صفات پیچیده است.

واژگان کلیدی: تنش شوری، گندم نان، ژن کاندید، نقشه‌برداری QTL

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: amin.azadi@iausr.ac.ir

مقدمه

بررسی‌های سازمان ملل متحد نشان می‌دهد که جمعیت جهان رو به رشد بوده و از ۷/۷ میلیارد نفر در سال ۲۰۱۹ به ۸/۵ میلیارد نفر در سال ۲۰۳۰ و در سال ۲۱۰۰ میلادی به ۱۰/۹ میلیارد نفر افزایش خواهد یافت. با توجه به این افزایش جمعیت، تقاضای جهانی و مصرف محصولات کشاورزی به‌عنوان مواد غذایی، خوراک و سوخت به سرعت با افزایش روبرو خواهد شد (Saremirad and Mostafavi, 2020). تنش‌های محیطی به‌عنوان محدودیت‌های اساسی افزایش تولید در واحد سطح مطرح می‌شوند که هر ساله بخش قابل‌توجهی از محصولات کشاورزی را تحت تأثیر قرار داده و از بین می‌برند (Leonard and Szabo, 2005; Ashraf and Harris, 2005; Oerke et al., 2012). شوری در بسیاری از نقاط جهان به‌طور مداوم در حال افزایش است و به یک مشکل زیست محیطی جدی پیش روی جمعیت به‌ویژه در مناطق خشک تبدیل شده است (Jamil et al., 2011).

شوری خاک سبب کاهش عملکرد بیولوژیک، از طریق تحت تأثیر قرار دادن کلیه جنبه‌های فیزیولوژیکی گیاه، رشد و توسعه مانند پتانسیل جوانه‌زنی، رشد رویشی و رشد زایشی می‌شود. علت این کاهش عملکرد ناشی از تعاملات پیچیده بین فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌باشد (Akbari-Ghogdi et al., 2011). تنوع زیادی در میان ارقام و لاین‌های گندم نان از لحاظ تحمل به تنش شوری توسط محققین گزارش شده است که دلالت بر وجود فرصت‌های بسیاری برای افزایش تحمل به شوری در گندم نان از نظر انتخاب و اصلاح دارد. با تولید و آزادسازی ژنوتیپ‌های گندم اصلاح‌شده متحمل به تنش شوری، میزان عملکرد افزایش می‌یابد (Hassan and Gul, 2006). شناسایی منابع متنوع ژنتیکی جهت فراهم نمودن ژن‌های مطلوب برای پیشرفت ژنتیکی اساسی‌ترین پیش‌نیاز در به‌نژادی گندم (Saremirad et al., 2021) و اصلاح ارقام متحمل به شوری است. از طریق شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) و تعیین سهم هر یک از این نواحی در ایجاد تنوع مشاهده شده

صفت در جمعیت، می‌توان کارایی برنامه‌های به‌نژادی را به میزان زیادی افزایش داد و با اطمینان بیشتری جمعیت را اصلاح کرد (Mir Drikvand et al., 2015). خصوصیات منحصربه‌فرد ریشه (Wang et al., 2016) سبب شده است تا توجه به‌نژادگران به شناسایی ژن‌های مرتبط با خصوصیات ریشه گندم معطوف گردد (Voss-Fels et al., 2017) و از آن‌ها در جهت نیل به اهداف اصلاحی که یکی از این اهداف تولید ارقام متحمل به شوری است، بهره‌گیرند. در این راستا، یک آزمایش هیدروپونیک برای شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) مرتبط با تحمل شوری در گندم در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl با استفاده از جمعیت لاین اینبرد نوترکیب (Xiaoyan 54 × Jing 411) انجام شد (Ren et al., 2018). نتایج منجر به شناسایی ۱۹ QTL در مرحله گیاهچه‌ای شد که از بین آن‌ها ۱۱ و ۶ QTL به‌ترتیب به شرایط نرمال و شوری مربوط بودند و کروموزوم‌های 1A، 3A و 7A به‌عنوان کروموزوم‌های حاوی ژن‌های کاندید مرتبط با تحمل شوری در گندم پیشنهاد شدند. ما و همکاران (Ma et al., 2007)، نشان دادند که از ۴۷ QTL که روی تمام کروموزوم‌های گندم حضور داشتند، تعداد ۱۰ QTL در مرحله جوانه‌زنی و ۳۷ QTL در مرحله گیاهچه‌ای روی تمام کروموزوم‌ها جز کروموزوم‌های 1B، 1D، 4B، 5D و 7D وجود داشتند. اگرچه اطلاعات کمی در مورد ژن‌هایی که مکانیسم‌های تحمل تجمع یون‌های سدیم و کلر را در گندم نان کنترل می‌کنند، وجود دارد اما چندین ژن کاندید در مطالعات اخیر پیشنهاد شده است (Asif et al., 2018; Genc et al., 2014). در مطالعه آسیف و همکاران برای ساختن یک نقشه ژنتیکی با تراکم بالا، از ۳۲۳۶ نشانگر استفاده شد (Asif et al., 2021). در مجموع نه QTL در تنش شوری (۱۰۰ میلی‌مولار NaCl) و نرمال شناسایی شدند.

لذا مطالعه حاضر با هدف غربال ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم و شناسایی مکان‌های ژنومی (QTL) درگیر در تحمل به تنش شوری در مراحل اولیه گیاهچه‌ای و نیز ردیابی ژن‌های کاندید القاکننده تحمل به تنش شوری پایه‌ریزی و به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

شد. برای آماده‌سازی یونولیت با استفاده از هویه برقی سوراخ‌های هم‌اندازه در یونولیت‌ها ایجاد شده و سپس یک توری با سوراخ‌هایی که ریشه‌چه به‌راحتی بتواند از آن عبور کند در یک طرف آن چسبانده شد تا بذور بتواند به‌راحتی بر روی آن استقرار یابد. محلول غذایی نیز مطابق محلول غذایی هوگلند و آرنون (Hoagland and Arnon, 1950) با اندکی تغییر (اضافه کردن ۵ گرم Fe-EDTA در یک لیتر و ۱ میلی‌لیتر به ازای هر لیتر محلول غذایی) تهیه شد. جهت اعمال شوری از NaCl استفاده شد. در مرحله اول جهت جلوگیری از شوک ناگهانی گیاهچه‌های چهار روزه، نصف محلول غذایی هوگلند داده شد. در مرحله دوم، پس از سه روز محلول غذایی هوگلند کامل جایگزین محلول غذایی نیمه هوگلند شد. در مرحله سوم، محلول غذایی هوگلند کامل حاوی ۵۰ میلی‌مولار داده شد. پس از نخستین مرحله اعمال تیمار شوری (یک هفته پس از استقرار گیاهچه‌ها در گلدان‌های حاوی محلول غذایی)، هر چهار روز ۵۰ میلی‌مولار به شوری اضافه شد تا در نهایت به ۲۰۰ میلی‌مولار شوری مدنظر رسید. میزان pH محلول به‌صورت روزانه کنترل گردید تا از محدوده ۵/۵ تا ۶ تجاوز نکند. چهار هفته پس از نخستین مرحله اعمال تنش، طول ریشه و وزن تر ریشه اندازه‌گیری و یادداشت شد. به‌منظور ثبت وزن خشک ریشه و نیز استفاده از آن برای اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم، ریشه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. تعیین میزان سدیم و پتاسیم با استفاده از روش هامدا و النانی (Hamada and El-Enany, 1994) و دستگاه فلیم‌فوتومتري انجام گردید. چهارچوب اولیه نقشه شامل ۴۲۸ نشانگر دارت ۲۳ نشانگر SSR قبلاً تهیه شده بود (Azadi et al., 2015). همچنین جهت تهیه نقشه پیوستگی از نرم‌افزار JoinMap v.4 (Voorrips, 2001) با $LOD \geq 3$ و تابع کوزامبی استفاده شده بود. پس از حصول داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی، مکان‌یابی QTL ها به‌وسیله نرم‌افزار QTL Cartographer نسخه ۲/۵ بر اساس مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) انجام گرفت. حداقل فاصله پویش یک سانتی‌مورگان و اندازه پنجره ۱۰ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. برای شناسایی QTL ها سطح آستانه LOD از آزمون Permutation با ۱۰۰۰ مرتبه تکرار (Churchill and Doerge, 1994) و سطح

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق، جمعیتی شامل ۱۸۶ لاین اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی دو رقم روشن و سوپرهد بود که در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تولید شده‌اند. لاین‌های اینبرد نوترکیب با ۱۲ نسل خودباروری به خلوص کامل رسیده‌اند. رقم روشن جز توده‌های بومی منطقه اصفهان بوده و پس از انجام آزمایش‌های تکمیلی در سال ۱۳۳۷ به‌عنوان رقم معرفی شد. این رقم دارای تیپ رشد بهاره، نیمه زودرس، نیمه حساس به خوابیدگی، بدون ریشک، نسبت به سرما نیمه‌حساس، در برابر بیماری‌های زنگ کاملاً حساس و در برابر خشکی و شوری متحمل است. رقم سوپرهد ۲ که از مرکز تحقیقات بین‌المللی ذرت و گندم (CIMMYT) دریافت شد، حساس به شوری می‌باشد. تعداد ۱۸۶ لاین اینبرد به‌همراه دو والد روشن (والد مادری) و سوپرهد (والد پدری) مواد گیاهی آزمایش حاضر را تشکیل دادند. به‌منظور ارزیابی فنوتیپی، پس از آماده‌سازی مواد گیاهی، جهت بررسی خصوصیات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه نسبت به تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در لیتر (Benderradji et al., 2011; Ahmad et al., 2013; Rong et al., 2014; Oyiga et al., 2016, 2018)، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام اجرا شد. ۱۸۶ لاین اینبرد نوترکیب به‌همراه دو والد فقط در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفتند. در ابتدا به‌منظور ضدعفونی، بذور به مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۰/۵۰ درصد قرار گرفتند و پس از آن سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. به‌منظور جوانه‌زنی بذور، از هر ژنوتیپ ۱۰ بذر انتخاب و در پتری‌دیش‌های مجزا با قطر نه سانتی‌متر محتوی کاغذ کشت و آب مقطر قرار گرفته و به اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و دمای ۲۵/۸ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. پس از چهار روز، بذور جوانه‌زده به گلدان‌های مخصوص آبکشت منتقل شد. هر واحد آزمایشی عبارت از یک گلدان به قطر ۷۳ میلی‌متر حاوی محلول غذایی هوگلند بود که پنج عدد بذر جوانه‌زده داخل آن قرار گرفت. برای محل استقرار گیاهچه از یک یونولیت با قطر ۲ سانتی‌متر و هم‌سایز درب گلدان استفاده

معنی‌داری پنج درصد استفاده شد و واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTL ها توجیه شد، محاسبه گردید. از آنجا که QTL های نزدیک به هم (تقریباً ۲۰ سانتی‌مورگان و کم‌تر) معمولاً در جمعیت‌های زیر ۵۰۰ ژنوتیپ، به‌عنوان یک QTL دیده می‌شوند (Tanksley, 1993)، فاصله بین دو پیک بر روی یک کروموزوم که به‌عنوان دو QTL مجزا در نظر گرفته می‌شوند، ۲۰ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد (Ravi et al., 2011; Ungerer et al., 2002). برای تعیین فاصله اطمینان از روش Lod drop-off استفاده شد (Lander and Botstein, 1989)، به‌طوری‌که یک LOD از LOD ماکزیمم پیک کم شد و بدین ترتیب حدود اطمینان مشخص گردید. تجزیه QTL برای هر یک از صفات تحت شرایط تنش انجام شد. نقشه‌های پیوستگی گرافیکی با بهره‌گیری از نرم‌افزار MapChart 2.1 تولید شدند (Voorrips, 2002). به‌منظور شناسایی ژن‌های کاندیدای موضعی (CG)، ادغام نقشه ژنتیکی و فیزیکی بر اساس موقعیت‌های نشانگرهای تعیین‌کننده فواصل اطمینان QTL (یا نزدیک‌ترین آن‌ها) در ژنوم انجام شد. توالی‌های نشانگرهای نوکلئوتیدی به توالی ژنومی مرجع گندم در پایگاه داده Ensembl Plants، با استفاده از ابزار BLAST به‌منظور نمایش QTL ها روی نقشه فیزیکی، هم‌ردیف شد. مدل‌های ژنی موجود در فواصل فیزیکی QTL نیز با استفاده از ابزار BioMart در پایگاه داده‌های (www.ensembl.org/biomart) بازیابی شد. با توجه به‌وضوح محدود مکان‌یابی QTL که منجر به تعداد بالایی از ژن‌های کاندیدای موضعی شد، از روش غنی‌سازی (GO) (Gen Ontology) استفاده گردید تا عملکرد مرتبط با CG های موضعی پیش‌بینی شود و همچنین تعداد CG ها به ژن‌های نهفته مسئول تغییر در صفات مورد نظر کاهش یابد. به‌منظور تفسیر ژن‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی تجزیه و تحلیل غنی‌سازی با استفاده از پایگاه داده AgriGO (<http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2>) از آزمون آماری هایپرژئومتریک (Hypergeometric distribution) در سطح معنی‌داری پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث نتایج حاصل از مکان‌یابی ژنتیکی صفات مورد مطالعه در جمعیت F12 به‌دست‌آمده از تلاقی دو رقم روشن و سوپرهد در جدول ۱ و نقشه گرافیکی آن در شکل ۱ ارائه

شده است. بر اساس نتایج حاصله، تجزیه جمعیت مورد بررسی، در مجموع منجر به شناسایی ۱۲ مورد QTL مرتبط با صفات تحت مطالعه بر روی کروموزوم‌های مختلف با استفاده از روش CIM شد. برای وزن تر ریشه یک QTL با نام *QFWR-3B* بر روی کروموزوم سوم ژنوم B در فاصله نشانگری ۱۱۲/۵ سانتی‌مورگان با LOD ۲/۳ شناسایی شد که QTL مذکور ۲/۰۸ درصد از تغییرات مربوط به این صفت را تبیین نمود. در مجموع برای وزن خشک ریشه QTL های *QDWR1-2D1* و *QDWR2-2D1* واقع بر کروموزوم دوم ژنوم D به‌ترتیب در فواصل ۶۹/۲ و ۱۵۸/۴ سانتی‌مورگان با ارزش LOD ۳/۸ و ۴/۸ و درصد تبیین ۸/۵۳ و ۵/۶۶ به‌دست آمد که هر دو QTL نامبرده موجب افزایش این صفت شدند. در ارتباط با طول ریشه سه QTL با عناوین *QRL-2B1*، *QRL-3B* و *QRL-5B1* بر روی ژنوم B اما در کروموزوم‌های دوم، سوم و پنجم در فاصله‌های ۰/۱، ۴۶/۶ و ۱۷/۳ سانتی‌مورگان با LOD برابر با ۳/۸، ۲/۹ و ۳/۸ مکان‌یابی گردید که هر یک به‌ترتیب ۵/۶۳، ۴/۵۷ و ۱۷/۴۵ درصد از تغییرات فنوتیپی مربوط به صفت طول ریشه را توجیه کردند. در این میان، به‌جز *QRL-2B1* که اثر افزایشی منفی به‌همراه داشت که به‌احتمال قوی ناشی از آل‌های والد حساس سوپرهد می‌باشد، دو QTL دیگر سبب افزایش در صفت طول ریشه شدند. تیان و همکاران (Tian et al., 2017) هشت QTL را در رابطه با تأثیر تنش شوری بر طول ریشه در کروموزوم‌های 2A، 2D، 3B، 4D، 6B و 7B ردیابی کردند که تنها کروموزوم 3B در ژرم‌پلاسما تحت ارزیابی، تأیید شد. در مطالعه‌ای دیگر جهت شناسایی QTL های مرتبط با رشد ساقچه و ریشه‌چه در مراحل اولیه جوانه‌زنی گندم ۱۴۴ لاین نوترکیب حاصل از تلاقی کاز و مانانا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که دو QTL طول ریشه‌چه روی کروموزوم‌های 6B و 3D قرار داشتند. برای وزن خشک ریشه‌چه، روی کروموزوم‌های 4A و 3D شناسایی شد (Barajehfard et al., 2017).

سه QTL در رابطه با میزان غلظت سدیم و چهار QTL در رابطه با غلظت پتاسیم نقشه‌یابی شد. QTL های *QNA-3B* و *QNA-2D1* مربوط به غلظت سدیم واقع بر روی کروموزوم سوم ژنوم B و کروموزوم دوم ژنوم D با ارزش LOD برابر با

بیولوژیکی ژن یا ژن‌های گندم مرتبط با مکان‌های ژنومی در جدول ۲ گزارش شده است. از میان QTL‌های شناسایی‌شده، تنها هفت QTL با ژن یا ژن‌های هم‌جوار گندم با موقعیت کروموزومی مشابه شناسایی شدند. به‌منظور دستیابی به اطلاعات بیشتر در مورد ژن‌های هم‌جوار فراتر از موقعیت ژنتیکی QTL‌ها می‌توان از سایت Ensembl (<https://asia.ensembl.org/index.html>) بهره برد. ژن‌هایی که دارای بیشترین میزان تطابق و کمترین مقدار ارزش E با QTL‌ها بودند، گزارش شدند. میزان واریانس فنوتیپی تبیین شده توسط آن‌ها متغیر بود. QTL، *QFWR.3B* که برای وزن تر ریشه ردیابی شده بود، در نزدیک‌ترین موقعیت ژنتیکی با ژن *TraesCS3B02G085100* می‌باشد، اما تاکنون برای این ژن گندم عملکرد مولکولی و سازوکار بیولوژیکی شناسایی نشده است. ژن *TraesCS2B02G219700* گندم که با *QRL.2B1* بر روی کروموزوم دوم ژنوم B قرار گرفته است، دارای عملکرد مولکولی دخیل در فعالیت سمپورتر و مکانیسم‌های بیولوژیکی دخیل در انتقال کربوهیدرات‌ها و ماده آلی به داخل، خارج یا بین سلول‌ها، با استفاده از برخی عوامل مانند یک ناقل یا منافذ می‌باشد. ژن گندم *TraesCS3B02G342400* هم‌جوار با *QNA-3B* بر روی کروموزوم سوم ژنوم B در رابطه با سدیم شناسایی شد اما فعالیتی برای پروتئین یا پلی‌پپتید رمزگذاری شده توسط آن گزارش نشده است (جدول ۲). چهار ژن *TraesCS4A02G472500*، *TraesCS2B02G339600*، *TraesCS7D02G185900* و *TraesCS2B02G489400* گندم دارای نزدیک‌ترین موقعیت ژنتیکی با QTL‌های *QK-4A*، *QK-2B1*، *QK-2B2* و *QK-7D* که در خصوص غلظت پتاسیم ردیابی شده‌اند، بودند. بررسی‌ها مبین آن بود که پروتئین‌های حاصل از فعالیت ژن *TraesCS4A02G472500* در فتوسنتز که بخشی از متابولیسم تولید انرژی است، نقش دارد. پروتئین‌های سنتز شده توسط ژن *TraesCS2B02G339600* در مرحله دو مسیر فرعی که سنتز پروتئین (6) N - (لیپوئیل) لیزین از اکتانویل - [پروتئین حامل اسیل] است، دخالت دارد.

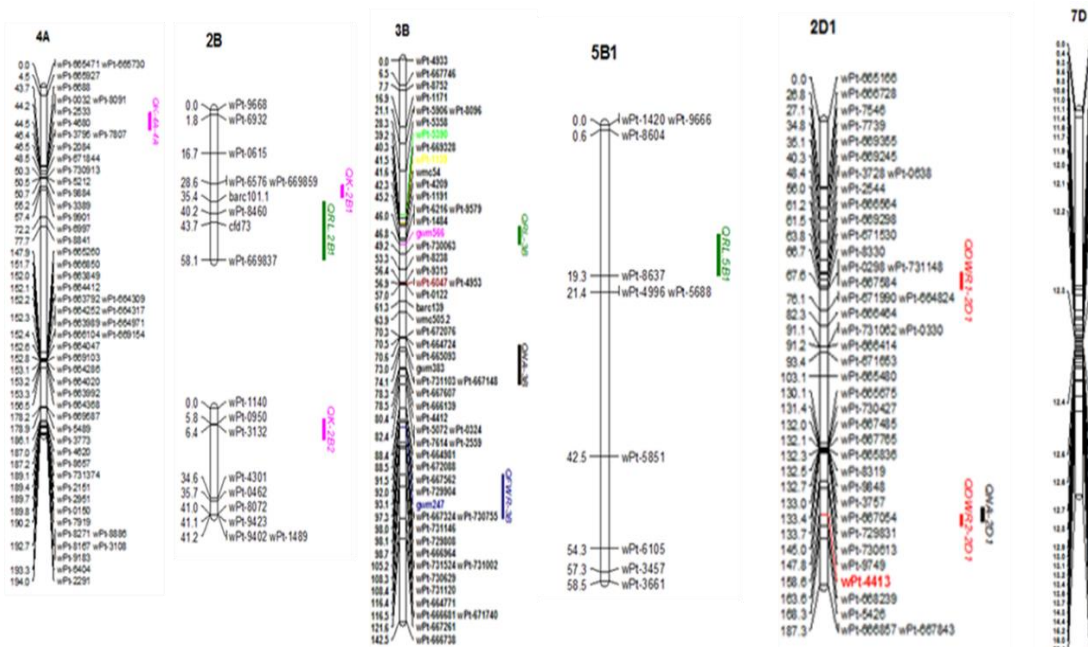
۳/۵ و ۳، توانستند به ترتیب ۵/۳۲ و ۴/۶۳ درصد تنوع مشاهده شده در این صفت را تبیین کنند، اما هر دو دارای آثار افزایشی منفی بودند که به احتمال قوی ناشی از آل‌های والد حساس سویرهد می‌باشد. آزادی و همکاران (Azadi et al., 2017) برای غلظت سدیم، سه QTL بر روی کروموزوم‌های 2B، 3B و 2D شناسایی کردند. سایر محققین نیز QTL‌هایی را در خصوص میزان سدیم بر روی کروموزوم‌های 2D، 6D، 2B، 7A و 2B نقشه‌یابی نمودند (Lindsay et al., 2004; Ogonnaya et al., 2008). QTL‌های *QK-2B1*، *QK-4A*، *QK-2B2* و *QK-7D* که در خصوص غلظت پتاسیم روی کروموزوم چهارم ژنوم A، کروموزوم دوم ژنوم B (دو عدد QTL) و کروموزوم هفتم ژنوم D ردیابی شدند، به ترتیب در فواصل نشانگری ۱۰۲/۷۱، ۲۶۷۱، ۳۳/۷۱ و ۰/۵۱ سانتی‌مورگان قرار داشتند و هر یک دارای ارزش LOD برابر با ۳/۹، ۵/۴، ۴/۸ و ۳/۹ بودند. نشانگرهای مذکور هر کدام توانستند به ترتیب ۲۸/۳۶، ۹/۷۸، ۱۱/۱۵ و ۵/۱۷ درصد تغییرات غلظت پتاسیم را توجیه کنند. سه QTL برای غلظت پتاسیم در مطالعه آزادی و همکاران (Azadi et al., 2017) نیز شناسایی شده بود که QTL مکان‌یابی شده واقع بر کروموزوم چهارم ژنوم A با مطالعه حاضر مطابقت دارد. در بین QTL‌های مکان‌یابی شده برای غلظت پتاسیم *QK-4A* و *QK-7D* اثرات افزایشی مثبت و *QK-2B1* و *QK-2B2* اثرات افزایشی منفی بر صفت نامبرده به‌همراه داشتند. به‌طور کلی بر اساس مطالعه‌های انجام‌شده (Ilyas et al., 2020; Rufo et al., 2020; Wang et al., 2014)، بیان گردیده است که بیشتر جایگاه‌های ژنومی القاکننده تحمل در برابر تنش شوری در گندم بر روی کروموزوم‌های ژنوم B و پس از آن بر روی کروموزوم‌های ژنوم D قرار دارند که این ادعا بر اساس نتایج پژوهش حاضر نیز تأیید می‌شود، زیرا همان‌طور که در نتایج (جدول ۱) مشهود است، از مجموع ۱۲ مورد QTL شناسایی‌شده، هفت QTL روی کروموزوم‌های ژنوم B، چهار QTL روی کروموزوم‌های ژنوم D و یک QTL روی کروموزوم چهارم ژنوم A قرار داشت.

بررسی فعالیت ژن‌های کاندید: مکان‌های ژنومی مکان‌یابی‌شده، موقعیت کروموزومی آن‌ها، نزدیک‌ترین ژن یا ژن‌های گندم به آن‌ها، عملکرد مولکولی و سازوکار

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل کمی صفات (QTL) توسط QTL Cartographer 2.5 در دو جمعیت روشن و سویرهد تحت تنش شوری

Table 1. Results of quantitative trait loci (QTL) analysis by QTL Cartographer 2.5 in the Roshan and SuperHead#2 mapping population under salt-stress conditions

| صفت Trait | نام QTL QTL name | کروموزوم Chromosome | موقعیت (سانتی مورگان) Position (CM) | نزدیک‌ترین نشانگر Nearest marker | درصد تغییرات R ² (%) | LOD | اثر افزایشی Additive effect |
|--------------------------------------|---------------------|------------------------|--|-------------------------------------|------------------------------------|-----|--------------------------------|
| وزن تر ریشه Fresh weight of roots | <i>QFWR-3B</i> | 3B | 112.50 | wPt-664771 | 2.08 | 2.3 | 0.060 |
| وزن خشک ریشه Dry weight of roots | <i>QDWRI-2D1</i> | 2D1 | 69.20 | wPt-667584 | 8.53 | 3.8 | 0.002 |
| وزن خشک ریشه Dry weight of roots | <i>QDWR2-2D1</i> | 2D1 | 158.40 | wPt-4413 | 5.66 | 4.8 | 0.001 |
| طول ریشه Root length | <i>QRL2B1</i> | 2B1 | 0.00 | wPt-669837 | 5.63 | 3.8 | -5.369 |
| طول ریشه Root length | <i>QRL-3B</i> | 3B | 46.60 | gwm566 | 4.57 | 2.9 | 1.230 |
| طول ریشه Root length | <i>QRL-5B1</i> | 5B1 | 17.30 | wPt-8637 | 17.45 | 3.8 | 4.990 |
| سدیم Sodium | <i>QNA-3B</i> | 3B | 80.41 | wPt-4412 | 5.32 | 3.5 | -221.964 |
| سدیم Sodium | <i>QNA-2D1</i> | 2D1 | 158.61 | wPt-4413 | 4.63 | 3 | -200.576 |
| پتاسیم Potassium | <i>QK-4A</i> | 4A | 102.71 | Wpt-665730 | 28.36 | 3.9 | 175.985 |
| پتاسیم Potassium | <i>QK-2B1</i> | 2B1 | 26.71 | Wpt-669859 | 9.78 | 5.4 | -131.133 |
| پتاسیم Potassium | <i>QK-2B2</i> | 2B2 | 33.71 | wpt-3132 | 11.15 | 4.8 | -217.785 |
| پتاسیم Potassium | <i>QK-7D</i> | 7D | 0.51 | Wpt-664438 | 5.17 | 3.9 | 77.110 |



شکل ۱- نقشه پیوند ژنتیکی ۱۲ گروه لینکازی و نقشه‌های مقایسه‌ای جایگاه صفات کمی (QTL) برای صفات ارزیابی شده برای برخی کروموزوم‌ها (طول میله‌ها نشان دهنده یک‌فاصله LOD برای QTL‌های شناسایی شده است).

Figure 1. Genetic linkage map of 12 linkage groups and comparative maps for detected quantitative trait loci (QTLs) for all evaluated traits for some chromosomes (Length of bars indicate 1 LOD interval for detected QTLs).

جدول ۲- نتایج تجزیه BLAST مکان‌های ژنومی کنترل‌کننده صفات مختلف در ژنوتیپ‌های گندم آزمایشی (حداکثر مقدار E = 1e-50، حداقل ۹۵ درصد هویت توالی (ID%))

Table 2. Results of BLAST analysis for QTLs on physical map, (maximum value E = 1e-50, minimum 95% sequence identity (ID%))

| صفت Trait | نام QTL QTL name | موقعیت (جفت‌باز) Position (bp) | ژن مجاور <i>T. aestivum</i> Adjacent <i>T. aestivum</i> gene | نام پروتئین Protein names | ژن Gene | عملکرد مولکولی Molecular function | فرآیند بیولوژیکی Biological process |
|---|---------------------|--------------------------------------|---|--|------------|---|---|
| وزن تر ریشه fresh weight of roots | QFWR.3 B | 3B: 53,573,569- 53,579,551 | <i>TraesCS3B02G085100</i> | Uncharacterized protein | N/A | - | - |
| طول ریشه Root length | QRL.2B1 | 2B: 210,259,384- 210,265,326 | <i>TraesCS2B02G219700</i> | Uncharacterized protein | N/A | symporter activity | carbohydra te transport organic substance transport |
| سدیم Sodium | QNA-3B | 3B: 549,759,764- 549,762,939 | <i>TraesCS3B02G342400</i> | Polyketide_cyc domain- containing protein | N/A | - | - |
| پتاسیم Potassium | QK-4A | 4A: 732,771,648- 732,774,321 | <i>TraesCS4A02G472500</i> | Ferredoxin- NADP reductase, chloroplatic | N/A | - | - |
| پتاسیم Potassium | QK-2B1 | 2B: 484,929,524- 484,934,611 | <i>TraesCS2B02G339600</i> | Lipoyl synthase, mitochondrial | LIP1 | - | - |
| پتاسیم Potassium | QK-2B2 | 2B: 686,809,725- 686,815,511 | <i>TraesCS2B02G489400</i> | Uncharacterized protein | N/A | ADP binding DNA binding DNA-binding transcription factor activity metal ion binding | - |
| پتاسیم Potassium | QK-7D | 7D: 138,780,971- 138,799,428 | <i>TraesCS7D02G185900</i> | Uncharacterized protein | N/A | - | - |

و تحلیل‌های مربوطه بر اساس فرآیندهای بیولوژیکی مرتبط با هر صفت انجام شد. در مجموع از بین ۳۴۸۶ مدل ژنی شناسایی شده در چهار QTL، تنها ۱۹ خانواده ژنی انتخاب شد و توالی ژنومی به فواصل فیزیکی تبدیل گردید. تعداد ژن‌ها از ۱۴۱۲ در *QNA-2D1* و *QDWRI-2D1* تا ۹۰ در *QRL.5B1* متغیر بود (جدول ۳). گزینش بر اساس تعدد مدل‌های ژنی و با توجه به خانواده‌های ژنی که در صفات ریشه، رشد و نمو و نیز مقاومت به تنش‌های غیرزیستی نقش دارند، انجام شد و در نهایت ۱۹ خانواده ژنی با مجموع ۱۳۰ مدل ژنی به دست آمد (جدول ۴) که البته به اعتبارسنجی بیشتری نیاز است تا نقش آن‌ها در میزان محصول تحت تنش شوری مشخص گردد. به منظور دستیابی به بینشی از مکانیسم‌های مولکولی پاسخ تنش شوری در گندم، توجه ویژه به ژن‌های کاندید زمینه‌ساز QTL‌های خاص پاسخ به تنش شوری شد.

ژن *TraesCS2B02G489400* نقش مولکولی فعالی در اتصال ADP، اتصال DNA، اتصال یون فلزی و نیز فعالیت عامل انتقال اتصال DNA ایفا می‌نماید، اما هنوز برای آن مکانیسم بیولوژیکی شناسایی نشده است. گاردینر و همکاران (Gardiner et al., 2020) در مطالعه‌ای بیان کردند که ۱۰ ژن با مقاومت در برابر بیماری مرتبط هستند و ژن *TraesCS2B02G489400* به‌عنوان یکی از ژن‌های کاندید مقاومت *Yr7* (مقاومت به بیماری) به‌شمار می‌رود. برای ژن *TraesCS7D02G185900* هیچ‌گونه پروتئین با عملکرد مولکولی و یا سازوکار بیولوژیکی گزارش نشده است.

شناسایی و اولویت‌بندی ژن‌های کاندیدا در نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات: ژن‌های کاندیدی که در نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه قرار داشتند، به‌منظور انجام تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن، برای بیان ویژگی ژن‌ها و محصولات ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه

جدول ۳- تعداد کل ژن‌های نامزد مکانی

Table 3. Total number of positional candidate genes

| نام QTL | گروه | فاصله اطمینان QTL در نقشه ژنتیکی (سانتی‌مرگان) | فاصله اطمینان QTL در نقشه فیزیکی (جفت‌باز) | تعداد ژن‌های نامزد مکانی |
|------------------|---------------|---|--|-----------------------------------|
| QTL name | Linkage group | QTL confidence interval on the genetic map (cM) | QTL confidence interval on the physical map (bp) | No. of positional candidate genes |
| <i>QDWR1-2D1</i> | 2D1 | wpt-9749-wpt-668239 | 550650160-605625648 | 1412 |
| <i>QDWR1-2D1</i> | 1D1 | wpt-9664-wpt-667287 | 18433982-19794573 | 90 |
| <i>QRL.5B1</i> | 5B1 | wpt-8604-wpt-4996 | 20814366-64687523 | 572 |
| <i>QNA-2D1</i> | 2D1 | wpt-9749-wpt-668239 | 550650160-605625648 | 1412 |
| کل | | | | 3486 |
| Total | | | | |

جدول ۴- نتایج هستی‌شناسی ژن‌های نامزد مکانی

Table 4. Gene ontology results of positional candidate genes

| صفت | نام QTL | مشخصه GO | توصیف کارکرد | تعداد در فهرست ورودی |
|-------------------------------------|------------------|--------------|---|----------------------|
| Trait | QTL name | GO ID | Functional description | Number in input list |
| وزن خشک ریشه Dry weight of roots | <i>QDWR1-2D1</i> | P:GO:0046148 | Pigment biosynthetic process | 5 |
| | | P:GO:0042440 | Pigment metabolic process | 5 |
| | | F:GO:0004097 | Catechol oxidase activity | 5 |
| | | F:GO:0016682 | Oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors, oxygen as acceptor | 5 |
| | | F:GO:0016679 | Oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors | 5 |
| | | P:GO:0042592 | Homeostatic process | 7 |
| | | P:GO:0045454 | Cell redox homeostasis | 6 |
| طول ریشه Root length | <i>QRL.5B1</i> | P:GO:0019725 | Cellular homeostasis | 6 |
| | | P:GO:0065008 | Regulation of biological quality | 7 |
| | | F:GO:0015036 | Disulfide oxidoreductase activity | 6 |
| | | F:GO:0015035 | Protein disulfide oxidoreductase activity | 6 |
| | | F:GO:0016667 | Oxidoreductase activity, acting on a sulfur group of donors | 6 |
| | | F:GO:0009055 | Electron carrier activity | 6 |
| | | C:GO:0005623 | Cell | 30 |
| سدیم Sodium | <i>QNA-2D1</i> | P:GO:0046148 | Pigment biosynthetic process | 5 |
| | | P:GO:0042440 | Pigment metabolic process | 5 |
| | | F:GO:0004097 | Catechol oxidase activity | 5 |
| | | F:GO:0016682 | Oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors, oxygen as acceptor | 5 |
| | | F:GO:0016679 | Oxidoreductase activity, acting on diphenols and related substances as donors | 5 |

کروموزوم‌های دوم و اول ژنوم D به ترتیب ۱۴۱۲ و ۹۰ ژن کاندید شناسایی شد که بعد از تجزیه هستی‌شناسی منجر به کاهش این تعداد به ۵ و صفر کاندید اصلی گردید.

تجزیه هستی‌شناسی ژن منجر به کاهش ژن‌های کاندید به ۳۵ ژن اصلی گردید که به طور قابل توجهی با ژنوتیپ‌های متحمل به تنش شوری در ارتباط بودند (جدول ۵). برای صفت وزن خشک ریشه در

سلولی، متابولیسم xyloglucan، آمینوسیلاسیون لوسیل- tRNA، گلیکوزیلاسیون پروتئین، تنظیم رونویسی، بیوسنتز رنگ‌دانه، فعالیت‌هایی بودند که مجموعه‌های ژنی در آن‌ها دخالت داشتند. فعالیت ژن‌های کاندید که در این مطالعه شناسایی شد (جدول ۲) با پاسخ گیاه به شوری و تنش آبی مطابقت داشت و تأییدی بر صحت این مطالعه بود. پروتئین‌های حاوی دامنه NAC انواع دیگری از مدل‌های ژنی بودند که در تعدادی از QTL شناسایی شدند. پروتئین‌های دارای دامنه NAC در سازگاری با تنش‌های غیرزیستی نقش بسیار مهمی دارند، همچنین گزارش شده است که NAC1 موجب رشد ریشه‌های جانبی می‌شود (Soriano and Alvaro, 2019).

برای میزان سدیم و وزن تر ریشه نیز بر روی کروموزوم‌های دوم ژنوم D و پنجم ژنوم B به ترتیب ۱۴۱۲ و ۵۷۲ ژن کاندید شناسایی شد که بعد از تجزیه هستی‌شناسی ژن منجر به کاهش این تعداد به ۵ و ۳۰ کاندید اصلی گردید (جدول ۵). مجموعه‌های ژنی شناسایی‌شده برای صفات مورد تجزیه تحت شرایط تنش، عملکرد آن‌ها را در فرآیندهای زیستی نشان داد که در رشد و نمو گیاه در سطح مورفولوژیکی، آناتومیکی و فیزیولوژیکی نقش دارند. فرآیندهای متابولیسم گلوکوتانیون، کاتابولیک ال-فنیل آلانین، ترجمه سیتوپلاسمی، مسیر سیگنالینگ فعال شده با اکسین، تنظیم رونویسی، DNA-الگو، پروتوپورفیرینوژن IX، سازمان و پیدایش دیواره

جدول ۵- تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌های کاندید اصلی دخیل در تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های گندم آزمایشی

Table 3. Gene ontological analysis of major candida genes involved in salinity tolerance in experimental wheat genotypes

| نام QTL | شناسه ژن | پروتئین | ژن | عملکرد مولکولی ژن | فرآیند بیولوژیکی ژن |
|----------------------|-------------------------------|--|----------|--|--|
| QTL name | Gene ID | Protein | Gene | GO- molecular function | GO-biological process |
| QDWR2-2D1 QNA-2D1 | <i>TraesCS2D02G468</i> 200 | Polyphenol oxidase | Ppo | Catechol oxidase activity Source: Interpro Metal ion binding | Pigment biosynthetic process |
| QDWR2-2D1 QNA-2D1 | <i>TraesCS2D02G468</i> 200 | Genome assembly, chromosome: II | Ppo | Catechol oxidase activity Source: Interpro Metal ion binding | Pigment biosynthetic process |
| QDWR2-2D1 QNA-2D1 | <i>TraesCS2D02G468</i> 200 | Polyphenol oxidase | SSPPO-D1 | Catechol oxidase activity Source: Interpro Metal ion binding | Pigment biosynthetic process |
| QDWR2-2D1 QNA-2D1 | <i>TraesCS2D02G468</i> 200 | Polyphenol oxidase | PPO | - | - |
| QDWR2-2D1 QNA-2D1 | <i>TraesCS2D02G468</i> 600 | Polyphenol oxidase | PPO-D2 | - | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G054</i> 200 | NAC transcription factor 6A | NAC6A | DNA binding | Regulation of transcription, DNA-templated |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G028</i> 500 | Nuclear transcription factor Y subunit | NFYA-B6 | DNA-binding transcription factor activity DNA binding | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G026</i> 600 | MBD6-5BS | N/A | DNA binding | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G057</i> 400 | Ku70 | N/A | ATP binding Damaged DNA binding DNA helicase activity Hydrolase activity Telomeric DNA binding | DNA recombination double-strand break repair via nonhomologous end joining telomere maintenance |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G054</i> 000 | 18S subunit ribosomal protein | - | - | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G052</i> 700 | ATP synthase subunit c, chloroplastic | atpH | Lipid binding Proton-transporting atp synthase activity, rotational mechanism | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G055</i> 900 | Glutathione transferase | - | Glutathione transferase activity Maleylacetoacetate isomerase activity | Glutathione metabolic process L-phenylalanine catabolic process |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G026</i> 600 | MBD domain-containing protein | - | DNA binding | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G039</i> 700 | 60S ribosomal protein L36 | - | Structural constituent of ribosome | Cytoplasmic translation |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G048</i> 300 | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |

ادامه جدول ۵-

Table 5. (Continued)

| نام QTL | شناسه ژن | پروتئین | ژن | عملکرد مولکولی ژن | فرآیند بیولوژیکی ژن |
|----------|---------------------------|---|------|--|---|
| QTL name | Gene ID | Protein | Gene | GO- molecular function | GO-biological process |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G049100</i> | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G047200</i> | Uncharacterized protein | - | DNA binding Lipid binding | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G039800</i> | Auxin response factor | - | DNA binding | Auxin-activated signaling pathway Regulation of transcription, dna-templated |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G048400</i> | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G047100</i> | Nuclear transcription factor Y subunit | - | DNA-binding transcription factor activity, RNA polymerase II-specific RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding | Regulation of transcription by RNA polymerase II |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G057800</i> | Glutathione transferase | - | Glutathione transferase activity Maleylacetoacetate isomerase activity | Glutathione metabolic process L-phenylalanine catabolic process |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G032200</i> | Uncharacterized protein | - | Large ribosomal subunit rna binding Structural constituent of ribosome | Translation |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G049800</i> | Protoporphyrinogen oxidase | - | Oxidoreductase activity Oxygen-dependent protoporphyrinogen oxidase activity | Heme biosynthetic process Protoporphyrinogen IX biosynthetic process |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G028800</i> | Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase | - | Hydrolase activity, hydrolyzing O-glycosyl compounds Xyloglucan: xyloglucosyl transferase activity | Cell wall organization Xyloglucan metabolic process Cell wall biogenesis |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G042800</i> | Leucyl-tRNA synthetase | - | Aminoacyl-tRNA editing activity ATP binding Leucine-tRNA ligase activity Carbohydrate binding | Leucyl-tRNA aminoacylation |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G039600</i> | Galectin domain-containing protein | - | Transferase activity, transferring hexosyl groups | Protein glycosylation |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G054200</i> | NAC transcription factor 6A | - | DNA binding | Regulation of transcription, DNA-templated |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G048900</i> | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G048600</i> | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G049200</i> | Glutaredoxin domain-containing protein | - | Protein disulfide oxidoreductase activity | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G054100</i> | CASP-like protein | - | 4 irons, 4 sulfur cluster binding | - |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G048000</i> | Pectinesterase | - | Aspartyl esterase activity Pectinesterase activity Pectinesterase inhibitor activity | Cell wall modification Pectin catabolic process |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G047300</i> | 30S ribosomal protein S17, chloroplastic | - | Rna binding Structural constituent of ribosome | Translation |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G043100</i> | Uncharacterized protein | - | Double-stranded telomeric DNA binding | Nucleosome assembly Photomorphogenesis Regulation of transcription, DNA-templated |
| QRL-5B1 | <i>TraesCS5B02G028500</i> | Nuclear transcription factor Y subunit | - | DNA-binding transcription factor activity, RNA polymerase II-specific RNA polymerase II cis-regulatory region sequence-specific DNA binding | Regulation of transcription by RNA polymerase II |

اصلی در اصلاح و بهبود کیفیت گندم، کمبود آل‌های پلی فنل اکسیداز اضافی است (Taranto *et al.*, 2015). در رابطه با کمپلکس NFY گزارش شده است که در تنظیم رشد گیاه و

یکی دیگر از ژن‌های شناسایی شده پلی فنل اکسیداز (PPO) بود که فعالیت آن یکی از عمده دلایل رنگ قهوه‌ای نامطلوب در دانه و آرد گندم‌های دوروم و معمولی است و از موانع

به‌طورکلی، تنش‌های ناشی از محیط سبب بروز تغییرات مهمی در سطح بیان بسیاری از این ژن‌ها در گیاهان می‌گردند (Saremirad *et al.*, 2021)، بنابراین چنین تغییرات ایجاد شده به تجمع یا کاهش متابولیت‌های مهم، تغییرات در فعالیت آنزیم‌ها و میزان سنتز پروتئین‌ها و نیز ایجاد پروتئین‌های جدید منجر می‌شود (Zhu, 2016) که به طرق مختلف به مقابله با تنش محیطی می‌پردازند (Kiani *et al.*, 2020). مطالعه حاضر رویکرد چندمرحله‌ای جامع برای روشن کردن اساس ژنتیکی مکانیسم‌های پاسخ به شوری در گندم را ارائه می‌دهد. در مرحله اول از شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای شناسایی و مکان‌یابی دقیق QTL‌های مرتبط با تحمل شوری، استفاده شد. مرحله بعد، تطابق QTL‌های خاص پاسخ شوری به توالی ژنوم مرجع، پس از ارزیابی کامل داده‌های QTL انجام شد. سرانجام، تعداد زیادی از ژن‌های کاندید شناسایی شده به ژن‌های بالقوه ایجادکننده زمینه صفات مورد بررسی، با استفاده از یک روش غنی‌سازی Gene ontology و به دنبال آن ابزارهای اولویت‌بندی ژن‌ها، کاهش یافت و تعدادی QTL دخیل در تحمل به تنش شوری شناسایی گردید که می‌توان از آن‌ها در جهت ایجاد ارقام متحمل به تنش در برنامه‌های به‌نژادی بهره جست.

ایجاد پاسخ‌های گیاه به تنش دخالت دارد. بیان NFYA5 شدیداً تحت تأثیر خشکی و به شیوه‌ی وابسته به ABA القا می‌شود و افزایش بیان NFYA5 می‌تواند افت رطوبت و حساسیت به خشکی را کاهش دهد؛ اما با افزایش بیان ژن NFYA10 گندم، حساسیت گیاه به شوری بالا می‌رود که این امر بر اساس جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه برآورد شده است (Chen *et al.*, 2020). ما و همکاران (Ma *et al.*, 2007) با تجزیه و تحلیل ژنتیکی پاسخ گندم به تنش شوری بر روی جمعیتی متشکل از ۱۱۴ لاین اینبرد نشان دادند از ۴۷ مورد QTL که روی تمام کروموزوم‌های گندم حضور داشتند، ۱۰ مورد QTL در مرحله جوانه‌زنی و ۳۷ مورد QTL در مرحله گیاهچه‌ای روی تمام کروموزوم‌ها به‌جز کروموزوم‌های 1B، 1D، 4B، 5D و 7D وجود داشتند. رن و همکاران (Ren *et al.*, 2018) در رابطه با شناسایی QTL‌های مرتبط با تحمل به شوری گندم، ۱۹ مورد QTL مربوط به مرحله گیاهچه‌ای را بررسی کردند که از بین آن‌ها، ۱۱ و شش QTL به ترتیب به شرایط غیر تنش و شوری مربوط بودند. همچنین اظهار داشتند که برخی از جایگاه‌های مربوط به تحمل در برابر تنش شوری ممکن است پلیوتروپیک باشند نتایج حاصل مؤید آن است که ژن‌های هم‌مکان با QTL‌ها، دارای نقش مهمی در مسیرهای بیوستیزی از قبیل انتقال یون، کاهش اکسیداسیون و پردازش پروتئین هستند.

References

- Ahmad, M., Shahzad, A., Iqbal, M., Asif, M. and Hirani, A.H. (2013). Morphological and molecular genetic variation in wheat for salinity tolerance at germination and early seedling stage. *Australian Journal of Crop Science*, **7**(1): 66-74.
- Akbari-Ghogdi, E., Izadi-Darbandi, A., Borzouei, A. and Majdabadi, A. (2011). Evaluation of morphological changes in some wheat genotypes under salt stress. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, **1**(4): 71-83 (In Persian).
- Ashraf, M. and Harris, P. (2005). *Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Asif, M., Garcia, M., Joanne Tilbrook, J., Brien, C., Dowling, K., Gilliam, M., Fleury, L., Roy, J. and Pearson, A. (2021). Identification of salt tolerance QTL in a wheat RIL mapping population using destructive and non-destructive phenotyping. *Functional Plant Biology*, **48**: 131-140.
- Asif, M., Schilling, R.K., Tilbrook, J., Brien, C., Dowling, K., Rabie, H., Short, L., Trittermann, C., Garcia, A., Barrett-Lennard, E.G., Berger, B., Mather, D.E., Gilliam, M., Fleury, D., Tester, M., Roy, S.J. and Pearson, A.S. (2018). Mapping of novel salt tolerance QTL in an Excalibur Kukri doubled haploid wheat population. *Theoretical and Applied Genetics*, **131**: 2179-2196.

- Azadi, A., Mardi, M., Hervan, E.M., Mohammadi, S.A., Moradi, F., Tabatabaee, M.T., Pirseyedi, S.M., Ebrahimi, M., Fayaz, F. and Kazemi M.** (2015). QTL mapping of yield and yield components under normal and salt-stress conditions in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, **33**(1): 102-120.
- Azadi, A., Mardi, M., Majidi Harvan, E, Mohammadi, S.A. and Moradi, F.** (2017). QTL Analysis for Sodium and Potassium Concentration and Potassium to Sodium Ratio in Wheat Under Salt-Stress Condition. *Crop Biotechnology*, **6**(16):61-73 (In Persian).
- Barajehfard, M., Siahpoosh, M R. and Modarresi, M.** (2017). QTLs associated with stemlet and rootlet growth in the early stages of germination of wheat. *Plant Genetic Researches*, **3**(2): 59-68 (In Persian).
- Benderradji, L., Brini, F., Amar, S.B., Kellou, K., Azaza, J., Masmoudi, K., Bouzerzour, H. and Hanin, M.** (2011). Sodium transport in the seedlings of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes showing contrasting salt stress tolerance. *Australian Journal of Crop Science*, **5**(3): 233-241.
- Chen, Y., Palta, J., Prasad, P.V. and Siddique, K.H.** (2020). Phenotypic variability in bread wheat root systems at the early vegetative stage. *BMC Plant Biology*, **20**(1): 1-16.
- Churchill, G.A. and Doerge, R.W.** (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, **138**(3): 963-971.
- Gardiner, L.J., Bansept-Basler, P., El-Soda, M., Hall A. and O'Sullivan D.M.** (2020). A framework for gene mapping in wheat demonstrated using the Yr7 yellow rust resistance gene. *Plos One*, **15**(4): e0231157.
- Genc, Y., Taylor, J., Rongala, J. and Oldach, K.** (2014). A major locus for chloride accumulation on chromosome 5A in bread wheat. *PLoS One*, **9**: e98845.
- Hamada, A. and El-Enany, A.** (1994). Effect of NaCl salinity on growth, pigment and mineral element contents, and gas exchange of broad bean and pea plants. *Biologia Plantarum*, **36**(1): 75-81.
- Hassan, G. and Gul, R.** (2006). Evaluation of the heterotic and heterobeltiotic potential of wheat genotypes for improved yield. *Pakistan Journal of Botany*, **38**(4): 1159-1167.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I.** (1950). *The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil*. California Agricultural Experiment Station, Station, California, USA.
- Ilyas, N., Amjid, M.W., Saleem, M.A., Khan, W., Wattoo, F.M., Rana, R.M., Maqsood, R.H., Zahid, A., Shah, G.A. and Anwar, A.** (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**(1): 341-351.
- Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M. and Foolad, M.** (2011). Gene expression profiling of plants under salt stress. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **30**(5): 435-458.
- Kiani, J.K., Bihamta, M., Habibi, D., Aaghsrzadeh, A. and Saremirad, A.** (2020). Effect of mycorrhizal fungus application on some biochemical characters of wheat cultivars in lead contaminated soil. *Journal of Water and Soil*, **34**(2): 393-408 (In Persian).
- Lander, E.S. and Botstein, D.** (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, **121**(1): 185-199.
- Leonard, K.J. and Szabo L.J.** (2005). Stem rust of small grains and grasses caused by *Puccinia graminis*. *Molecular Plant Pathology*, **6**(2): 99-111.
- Lindsay, M.P., Lagudah, E.S., Hare, R.A. and Munns, R.** (2004). A locus for sodium exclusion (Nax1), a trait for salt tolerance, mapped in durum wheat. *Functional Plant Biology*, **31** (11): 1105-1114.
- Ma, L., Zhou, E., Huo, N., Zhou, R., Wang, G. and Jia, J.** (2007). Genetic analysis of salt tolerance in a recombinant inbred population of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, **153**(1): 109-117.
- Mir Drikvand, R., Najafian, G., Bihamta, M. and Ebrahimi, A.** (2015). detection of qtls associated to some grain traits in bread wheat (*triticum aestivum l.*), using association mapping. *Plant Genetic Researches*, **1**(2): 43-54 (In Persian).
- Oerke, E.C., Dehne, H.W., Schönbeck, F. and Weber, A.** (2012). *Crop Production And Crop Protection. Estimated Losses in Major Food and Cash Crops*. Elsevier Science, Amsterdam, NL.
- Ogbonnaya, F., Huang, S. and Steadman, E.** (2008). Tolerance in synthetic derived backcrossed bread lines. *11th International Wheat. Genetics Symposium, Sydney, Australia.*

- Oyiga, B.C., Sharma, R., Shen, J., Baum, M., Ogonnaya, F., Léon, J. and Ballvora, A. (2016). Identification and characterization of salt tolerance of wheat germplasm using a multivariable screening approach. *Journal of Agronomy and Crop Science*, **202(6)**: 472-485.
- Oyiga, B.C., Sharma, R.C., Baum, M., Ogonnaya, F.C., Léon, J. and Ballvora, A. (2018). Allelic variations and differential expressions detected at quantitative trait loci for salt stress tolerance in wheat. *Plant, Cell & Environment*, **41(5)**: 919-935.
- Ravi, K., Vadez, V., Isobe, S., Mir, R., Guo, Y., Nigam, S., Gowda, M., Radhakrishnan, T., Bertoli, D. and Knapp, S. (2011). Identification of several small main-effect QTLs and a large number of epistatic QTLs for drought tolerance related traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **122(6)**: 1119-1132.
- Ren, Y., Xu, Y., Teng, W., Li, B. and Lin, T. (2018). QTLs for seedling traits under salinity stress in hexaploid wheat. *Ciencia Rural*, **48(3)**: e20170446.
- Rong, W., Qi, L., Wang, A., Ye, X., Du, L., Liang, H., Xin, Z. and Zhang, Z. (2014). The ERF transcription factor Ta ERF 3 promotes tolerance to salt and drought stresses in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, **12(4)**: 468-479.
- Rufo, R., Salvi, S., Royo, C. and Soriano, J.M. (2020). Exploring the genetic architecture of root-related traits in mediterranean bread wheat landraces by genome-wide association analysis. *Agronomy*, **10(5)**: 613-620.
- Saremirad, A., Bihamta, M., Malhipour, A., Mostafai, K. and Alipour, H. (2021). Association mapping of bread wheat genotypes resistance to stem rust. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University of Karaj Branch, Alborz, Karaj, Iran (In Persian).
- Saremirad, A. and Mostafavi, K. (2020). Genetic diversity study of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes for agro-morphological traits under normal and drought stress conditions. *Plant Productions*, **43(2)**: 227-240 (In Persian).
- Soriano, J.M. and Alvaro, F. (2019). Discovering consensus genomic regions in wheat for root-related traits by QTL meta-analysis. *Scientific Reports*, **9(1)**: 1-14.
- Tanksley, S.D. (1993). Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*, **27(1)**: 205-233.
- Taranto, F., Mangini, G., Pasqualone, A., Gadaleta, A. and Blanco, A. (2015). Mapping and allelic variations of Ppo-B1 and Ppo-B2 gene-related polyphenol oxidase activity in durum wheat. *Molecular Breeding*, **35(2)**: 1-10.
- Tian, T., Liu, Y., Yan, H., You, Q., Yi, X., Du, Z., Xu, W. and Su, Z. (2017). AgriGO v2.0: a GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. *Nucleic Acids Research*, **45**: W122-W129.
- Ungerer, M.C., Halldorsdottir, S.S., Modliszewski, J.L., Mackay, T.F. and Purugganan, M.D. (2002). Quantitative trait loci for inflorescence development in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, **160(3)**: 1133-1151.
- Voorrips, R. (2002). MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, **93(1)**: 77-78.
- Voss-Fels, K.P., Qian, L., Parra-Londono, S., Uptmoor, R., Frisch, M., Keeble-Gagnère, G., Appels, R. and Snowden, R.J. (2017). Linkage drag constrains the roots of modern wheat. *Plant, Cell & Environment*, **40(5)**: 717-725.
- Wang, S., Wong, D., Forrest, K., Allen, A., Chao, S., Huang, B.E., Maccaferri, M., Salvi, S., Milner, S.G. and Cattivelli, L. (2014). Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. *Plant Biotechnology Journal*, **12(6)**: 787-796.
- Wang, Y., Thorup-Kristensen, K., Jensen, L.S. and Magid, J. (2016). Vigorous root growth is a better indicator of early nutrient uptake than root hair traits in spring wheat grown under low fertility. *Frontiers in Plant Science*, **7**: 865.
- Zhu, J.K. (2016). Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, **167(2)**: 313-324.

Prioritization and Identification of Candidate Genes Associated with Root Traits Under Salinity Stress in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.)

Elina Nazari Khakshoor¹, Amin Azadi^{2,*}, Peyman Fourozesh³, Alireza Etminan⁴ and Eslam Majidi Hervan⁵

1- Ph.D. Student, Department of Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Shahre Rey, Iran

3- Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

4- Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

5- Professor, Department of Plant Breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: June 15, 2022 - Accepted: August 21, 2022)

Abstract

Salinity stress falls into the major environmental factors that limit the production of various crops, including wheat. An effective approach to reducing the impacts of stress is the production of new salinity-tolerant cultivars. Accordingly, identifying effective genes and molecular mechanisms responsible for salinity tolerance is an essential step for breeding programs. In this investigation, a population of F12 recombinant inbred lines (RIL) comprising 186 genotypes was studied to identify the loci that control some physiological traits and element concentrations in the wheat seedling stage under salinity stress. Totally, 12 quantitative traits loci (QTLs) were identified for wet weight, dry weight, length, and sodium and potassium contents using the composite interval mapping (CIM) analysis. Most of the identified QTLs were located on chromosomes B and D. A gene ontology (GO) analysis specified candidate genes in QTL regions. However, it is noteworthy that candidate genes need confirmation using marker-assisted identification. The prioritization of genes resulted in determining 3486 candidate genes in 19 GO phrases (including eight biological processes). These genes are involved in the processes of glutathione metabolism, L-phenylalanine catabolism, cytoplasmic translation, auxin-activated signaling pathway, transcriptional regulation, DNA-patterning, protoporphyrinogen IX, cell wall organization and genesis, xyloglucan tRNA metabolism, protein glycosylation, pigment biosynthesis, etc. GO may be introduced for identifying novel CGs in which the associated QTL is responsible for complicated traits.

Keywords: Salinity stress, Bread wheat, Candidate genes, QTL mapping

* Corresponding Author, E-mail: amin.azadi@iausr.ac.ir