

Evaluation of genetic diversity and investigation of population structure using SNP markers under late spring cold stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L)

Shokoofeh Khandani 

Ph.D. Student, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail address: shokoofekhhandani@yahoo.com

Seyed Reza Gholi Mirfakhraei 

*Corresponding author. Assistant Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. E-mail address: abdhorz@modares.ac.ir

Ghasem Mohammadi-Nejad 

Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding and Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mohamadinejad@gmail.com

Somayeh Sardouei-Nasab 

Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: sarduoie@gmail.com

Abstract

Objective

Late spring cold stress in the early reproductive growth of wheat causes damage due to a sudden drop in temperature. The genetic diversity of plants determines their potential to increase efficiency and, as a result, their use in breeding programs. This study was conducted with the aim of evaluating population structure, diversity of wheat genotypes, and selection of superior genotypes under cold and normal stress conditions.

Materials and methods

Sixty-seven bread wheat genotypes were evaluated through pot cultivation in the field under two normal conditions and late spring cold stress. The experiment followed a randomized complete block design with two replications. Stress was applied by transferring the pots to a growth room with a temperature of -3°C at the beginning of the reproductive stage. Phenotypic traits, including performance and performance components, were measured. Genotyping was done using a single

nucleotide polymorphism (SNP) array with 9K density. A total of 17,093 SNP markers were used in this study.

Results

The polymorphic information content for SNP markers ranged from 0.03 to 0.38, with an average of 0.26. Population structure analysis grouped the genotypes into five subpopulations. Molecular variance analysis showed that 75% of the observed variance in the population was related to intra-population differences. The studied genotypes were divided into four groups based on SNP markers and five and six groups based on phenotypic traits under normal and stress conditions, respectively. The genotypes in the first group, which exhibited higher average traits than other groups under stress conditions, were identified as tolerant to late spring cold.

Conclusions

The results indicated that main spike weight, seed yield per plant, seed weight in main spike, and weight of 100 seeds were the most important factors for grouping under late spring cold stress conditions. The calculated molecular indices, including marker indices and diversity indices, demonstrated that the SNP markers used performed relatively well in calculating genetic diversity within the studied population. In cluster analysis based on the genotypic matrix, cold-tolerant genotypes formed separate groups, indicating different tolerance mechanisms among these genotypes. These findings provide useful information for wheat breeders regarding the selection of diverse genetic resources to improve cold tolerance

Keywords: Molecular variance analysis, Analysis into principal components, Clustering, Molecular index of diversity

Paper Type: Research Paper.

Citation: Khandani Sh, Mirfakhraei R, Mohammadi nejad Gh, Sardouei nasab S (2024) Evaluation of genetic diversity and investigation of population structure using SNP markers under late spring cold stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L). *Agricultural Biotechnology Journal* 16 (1), 19-44.

Agricultural Biotechnology Journal 16 (1), 19-44.

DOI: 10.22103/jab.2023.21960.1501

Received: August 25, 2023.

Received in revised form: October 15, 2023.

Accepted: October 16, 2023.

Published online: February 20, 2024.


Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.




© the authors

ارزیابی تنوع ژنتیکی و بررسی ساختار جمعیت با استفاده از نشانگر SNP در شرایط تنش


سرماي ديررس بهاره در گندم نان (*Triticum aestivum* L)

شکوفه خاندانی 


دانشجوی دکترای رشته ژنتیک و به نژادی گیاهی، گروه ژنتیک و به نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: shokoofekhbandani@yahoo.com

سیدرضاقلی میرفخرایی 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه ژنتیک و به نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. رایانامه: abdhorz@modares.ac.ir

قاسم محمدی نژاد 

استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mohamadinejad@gmail.com

سمیه ساردوئی نسب 

استادیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: sarduoie@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۰۳ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۴

چکیده

هدف: تنش سرماي ديررس بهاره در اوایل رشد زایشی گندم با افت ناگهانی دما در فصل بهار باعث خسارت می‌شود. تنوع ژنتیکی گیاهان، تعیین کننده پتانسیل آن‌ها برای افزایش کارایی و در نتیجه استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی است. این مطالعه با هدف ارزیابی ساختار جمعیت، تنوع ژنوتیپ‌های گندم و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در شرایط تنش سرما و نرمال انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۶۷ ژنوتیپ گندم نان به صورت کشت گلدانی در مزرعه در دو شرایط نرمال و تنش سرماي ديررس بهاره در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. اعمال تنش با انتقال گلدان‌ها در ابتدای مرحله زایشی به اتاق رشد با دمای 3°C - صورت گرفت. صفات فنوتیپی شامل عملکرد و اجزای عملکرد اندازه‌گیری شدند. ژنوتیپ‌یابی با استفاده از آرایه چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) با تراکم ۹ K صورت گرفت. تعداد ۱۷۰۹۳ نشانگر SNP در مطالعه حاضر استفاده شدند.

نتایج: محتوای اطلاعات چندشکلی برای نشانگرهای SNP در محدوده ۰/۰۳ تا ۰/۳۸ با میانگین ۰/۲۶ محاسبه محاسبه شد. تجزیه و تحلیل ساختار جمعیت، ژنوتیپ‌ها را در پنج زیرجمعیت گروه‌بندی کرد. تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی نشان داد که ۷۵ درصد از واریانس مشاهده شده در جمعیت، مربوط به تفاوت‌های درون جمعیتی بود. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه براساس نشانگر SNP به ۴ گروه و بر اساس صفات فنوتیپی در شرایط نرمال و تنش به ترتیب به ۵ و ۶ گروه تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های گروه اول که میانگین صفات بالاتری نسبت به سایر گروه‌ها در شرایط تنش داشتند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای دیررس بهاره معرفی گردیدند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که صفات وزن سنبله اصلی، عملکرد دانه در بوته، وزن دانه در سنبله اصلی و وزن ۱۰۰ دانه در شرایط تنش سرمای دیررس بهاره بیشترین اهمیت در گروه‌بندی را داشتند. نتایج حاصل از شاخص‌های مولکولی محاسبه شده شامل شاخص‌های نشانگری و شاخص‌های تنوع، نشان داد که نشانگرهای SNP مورد استفاده کارایی نسبتاً خوبی برای محاسبه تنوع ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه داشتند. در تجزیه خوشه‌ای بر مبنای ماتریس ژنوتیپی، ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در گروه‌های جداگانه گروه بندی شدند که نشان دهنده‌ی متفاوت بودن سازوکارهای تحمل در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. این نتایج اطلاعات مفیدی در خصوص انتخاب منابع ژنتیکی متنوع در جهت بهبود تحمل به سرما در اختیار به‌زادگران گندم قرار می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: تجزیه واریانس مولکولی، تجزیه به مولفه‌های اصلی، خوشه‌بندی، شاخص مولکولی تنوع.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: خاندانی شکوفه، میرفخرایی سیدرضاقلی، محمدی‌نژاد قاسم، ساردوئی‌نسب سمیه (۱۴۰۳) ارزیابی تنوع ژنتیکی و بررسی ساختار جمعیت با استفاده از نشانگر SNP در شرایط تنش سرمای دیررس بهاره در گندم نان (*Triticum aestivum* L). *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۶(۱)، ۱۹-۴۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.

© the authors

مقدمه

مسیر فعلی تولید گندم برای تغذیه جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ بازده کافی ندارد (Bailey-Serres et al. 2019) همچنین با توجه به اهمیت گندم در الگوی غذایی کشور ایران و خسارات تنش‌های غیرزیستی بر محصولات کشاورزی، اصلاح ارقام مقاوم به تنش‌های غیرزیستی در گندم ضروری می‌باشد. هر ساله ۸۵ درصد از سطح زیر کشت گندم در جهان تحت تأثیر سرمازدگی بهاره قرار می‌گیرد که معمولاً در ماه‌های فروردین و اردیبهشت در مرحله اولیه زایشی اتفاق می‌افتد (Yue et al. 2016). از آنجا که فاز

رشد زایشی نسبت به مرحله رویشی در گندم به تنش سرما حساس تر است (Thakur et al. 2010) در فصل بهار، زمانی که دمای کانوپی گندم صفر درجه سانتیگراد یا کمتر می شود، خسارت سرما بیشتر رخ می دهد (Frederiks et al. 2015). در تحقیقی که Cheong et al. (2019) روی دو رقم گندم استرالیایی Wyalkatchem (رقم حساس به سرما) و Young (رقم مقاوم به سرما) انجام دادند، دو رقم را در سرمای 3°C - در مراحل مختلف تولید مثلی قرار دادند و نشان دادند که حساسیت به سرما در رقم Wyalkatchem به عنوان رقم حساس در مراحل مقیاس زادوکس (Zadoks et al. 1974) ۴۱ تا ۴۷ (مرحله توسعه گرده) و از ۵۷ تا ۶۵ (مرحله گلدهی) بود. در مطالعه Fuller et al (2007) دو رقم گندم در اتاق انجماد با تیمارهای مختلف تنش سرما به مدت دو ساعت تحت تنش سرما قرار گرفتند. در نتیجه صدمات شدیدی به برگ پرچم و سنبله ها مشاهده شد و با کاهش دما میزان خسارت افزایش یافت. همچنین منجر به کاهش جزئی تا کامل عملکرد دانه شد. کاهش عملکرد ناشی از تنش سرما با کاهش تعداد پنجه بارور، تعداد سنبله و دانه در سنبله مشخص می شود که از نظر بیولوژیکی با کوتاه شدن ساقه ها، کاهش سطح برگ و کاهش ظرفیت فتوسنتزی در اثر سرما مرتبط است (Valluru et al. 2012; Li et al. 2015). استفاده از تکنیک های مولکولی در سال های اخیر جهت مطالعه موجودات بومی و حفاظت شده، کاربرد گسترده ای یافته است (Askari et al. 2010; Mohammadabadi et al. 2017). میزان اطلاعات به دست آمده از این تکنیک های ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت های مختلف و درک تفاوت های ژنتیکی بین جمعیت ها است (Rohallah et al. 2007; Mohammadifar et al. 2018). همچنین، مطالعه نژادهای مختلف با استفاده از تکنیک های مولکولی بسیار مهم و برای طبقه بندی آنها مفید است (Gholamhoseinzadeh Gooki et al. 2018). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای مختلف بسیار اهمیت دارد (Ghasemi et al. 2019; Gooki et al. 2010). تنوع ژنتیکی یک عنصر اساسی برای پیشرفت ژنتیکی، حفظ جمعیت ها، تکامل و سازگاری به شرایط محیطی متغیر و مختلف می باشد (Mohammadabadi 2012; Askari et al. 2008; Mohammadifar & Askari et al. 2008). مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت برای توضیح روابط افراد در درون و بین جمعیت ها و ارائه چشم اندازی از روابط تکاملی افراد در یک جمعیت استفاده می شود. از طرفی در مطالعات پویس ژنومی، وجود ساختار در جمعیت مورد مطالعه، می تواند عامل بازدارنده در جهت دستیابی به نتایج قابل اعتماد باشد و در صورتی که اثر عوامل ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در این نوع تجزیه ها در نظر گرفته نشوند، نتایج مثبت کاذب بدست خواهد آمد (Bressegello & Sorrells 2006). وجود زیر گروه ها در جمعیت های بزرگ می تواند به دلیل انتخاب و رانش ژنتیکی باشد (Buckler IV & Thornsberry 2002; Bressegello & Sorrells 2006). تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی گیاه جنبه مهمی از اصلاح، وراثت، حفاظت و تکامل گیاهان است (Peterson et al. 2014). اما در حال حاضر به دلیل سازگاری محدود، انتخاب کشاورز، کشت مکرر توده های منتخب، تولید یکنواخت بذر واریته ها توسط صنایع و غیره در حال کاهش است (Khan et al. 2015) بنابراین، شناسایی ژرم پلاسماهای متنوع پیش نیاز اساسی برای اصلاح کنندگان گیاه برای انتخاب لاین های مناسب والدین و استفاده از آنها در برنامه های اصلاحی است. اصلاح کارآمد مستلزم استراتژی های انتخاب

مبتنی بر دانشی است که به‌طور موثر از اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی موجود در محصول مورد نظر بهره‌برداری کند. تکنیک‌های اصلاحی کلاسیک مبتنی بر صفات مورفولوژیکی قادر به شناسایی ژنوتیپ‌ها براساس خصوصیات فنوتیپی آنها هستند، اما این نشانگرها از نظر تعداد محدود هستند، تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند و اغلب با سایر صفات برهم‌کنش اپیستاتیکی دارند. نشانگرهای مولکولی منعکس کننده تنوع ژنتیکی در سطح DNA هستند و قادر به شناسایی تنوع ژنتیکی دقیق بین ژنوتیپ‌ها هستند (Farahani et al. 2019). نشانگرهای DNA مانند چندشکلی طولی قطعات حاصل از برش (RFLP) (Parker et al. 2002)، چندشکلی طولی قطعات تکثیر شده (AFLP) (Saremi Rad et al. 2016)، نواحی بین توالی‌های تکراری ساده (ISSR) (Goli et al. 2016)، توالی‌های تکراری ساده (SSR) (Nazari & Abdolshahi 2014)، فناوری آرایه‌های تنوع (Dart) (Nielsen et al. 2014) و غیره به‌خوبی برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی در گندم هگزاپلوید استفاده شده‌اند. چندشکلی تک نوکلئوتیدی (SNPs) بهترین انتخاب برای مطالعاتی هستند که به‌تعداد زیادی نشانگر با پوشش کل ژنوم نیاز دارند. توزیع یکنواخت، وراثت‌پذیری و قابلیت اعتماد بالا و ماهیت دو آلی نشانگر SNP را به‌عنوان نشانگر مولکولی با توان عملیاتی بالا تبدیل کرده است (Verma et al. 2015). از این نشانگر به‌طور گسترده‌ای در مطالعات ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی استفاده شده است (Cavanagh et al. 2013; Chen et al. 2014; Elbasyoni et al. 2018; You et al. 2018). مطالعات زیادی با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی، تنوع ژنتیکی در گندم را بررسی کرده‌اند (Khodadadi et al. 2011; Baranwal et al. 2013; Poudel et al. 2017). علی‌رغم مطالعات زیاد تنوع ژنتیکی در گندم، مطالعات محدودی در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی تحت شرایط تنش سرمای دیررس بهاره در مرحله رشدی زایشی انجام شده است. بنابراین، هدف ما از این مطالعه، ارزیابی ساختار جمعیت، ارزیابی تنوع فنوتیپی و ژنتیکی در لاین‌های مختلف گندم نان با استفاده از صفات زراعی و نشانگر SNP برای انتخاب منابع ژنتیکی متنوع به منظور بهبود تحمل به تنش سرمای دیررس بهاره در گندم نان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمار سرما: تعداد ۶۷ ژنوتیپ گندم نان تهیه شده از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی (IPK^۱) واقع در کشور آلمان (جدول ۱) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار و در دو شرایط نرمال و تنش سرمای دیررس بهاره مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. آزمایش‌ها به‌صورت گلدانی (در هر گلدان پنج بوته از هر ژنوتیپ کاشته شد) و در مزرعه‌ی واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ اجرا گردیدند.

¹. Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK)

جدول ۱. کد و منشأ جغرافیایی مربوط به ۶۷ ژنوتیپ گندم نان مورد مطالعه

Table 1. The code and geographical origin of the 67 studied bread wheat genotypes

منشاء Origin	نام ژنوتیپ variety name	کد ژنوتیپی Genotype code	منشاء Origin	نام ژنوتیپ variety name	کد ژنوتیپی Genotype code
صربستان SRB	NS 66/92	187	آلمان GER	Flair	2
سوئد SWE	Peking 11	190	آلمان GER	Mulan	4
صربستان SRB	Sofija	205	ناشناخته unknown	Sakura	9
مجارستان HUN	Szegedi 768	208	قزاقستان KAZ	Karabalikskaya Osimaya	11
استرالیا AUS	Triple Dirk B (GK 775)	215	بلغارستان BUL	Neda	15
کرواسی HRV	ZG K 3/82	226	بلغارستان BUL	Zlatica	17
کرواسی HRV	ZG K T 159/82	227	آمریکا USA	Roughrider	18
روسیه RUS	Kulundinka	230	اکراین UKR	Powaga	21
روسیه RUS	Irkutskaya ozimaya	231	اکراین UKR	Podoljanka	23
روسیه RUS	M-31*/Jo3088	238	اکراین UKR	Liona	24
روسیه RUS	Bezenchukskaya 790	245	لهستان PL	Almari	28
روسیه RUS	Guberniya	247	لهستان PL	Kobra plus	32
روسیه RUS	Santa	257	لهستان PL	Kohelia	33
روسیه RUS	Saratovskaya 17	258	لهستان PL	Tonacja	45
روسیه RUS	Svetoch	259	روسیه RUS	Skipetr	55
روسیه RUS	Severodonetskay a Yubileinaya	260	unknown ناشناخته	Äring II	60
روسیه RUS	Rannyaya 12	262	unknown ناشناخته	HOLME	71
فرانسه FRA	GSA 5 (P96QH529)	286	unknown ناشناخته	WALDE	72
ناشناخته unknown	GSA 11 (SUR. 99934)	300	unknown ناشناخته	S01-350-6	90
آلمان GER	SW MAXI	308	کانادا CAN	DH01-32-13	92
آلمان GER	TIGER	311	کانادا CAN	DH01-29-167	93

Table 1. Continued

المان GER	DISCUS	315	کانادا CAN	DH01-29-125	101
روسیه RUS	Bezenchukskaya 380	317	کانادا CAN	DH01-25-199*R	103
روسیه RUS	Smuglyanka	321	قزاقستان KAZ	KARABALYKSKAYA OSTISTAYA	107
ناشناخته unknown	Saratovskaya 90	322	روسیه RUS	UMKA	113
روسیه RUS	Kalach 60	324	روسیه RUS	Al'bina 45	114
روسیه RUS	Moskovskaya 56	329	اکراین UKR	ST.ERYHTR 1334-07	123
روسیه RUS	Nemchinovskaya a 24	330	امریکا USA	Wesley/SD97049	124
المان GER	ARKTIS	332	امریکا USA	NI9814	128
امریکا USA	Goldfield	335	ژاپن JPN	Ai-bian	133
امریکا USA	CHEYENNE	345	مالدیو MDA	BCD 1302/83	138
اتریش AUT	Wagrein	347	روسیه RUS	Donska polupat.	147
روسیه RUS	Biruzza	352	صربستان SRB	Nova banatka	179
			صربستان SRB	NS 46/90	182

جهت اعمال تیمار سرمایی با الگوبرداری از شرایط سرمای دیررس بهاره در طبیعت، بوته‌ها در مرحله زایشی (مقیاس زادوکس ۴۱-۴۷) به اتاق رشد سرما منتقل شدند دمای اتاق سرما در روز ۲۴°C و در شب ۱۸°C و طول روز ۱۳ ساعت و شب ۱۱ ساعت تنظیم گردید. نحوه اعمال تنش نیز بدین صورت بود که با رسیدن دمای محیط اتاق رشد از دمای ۲۴°C به تیمار دمایی ۳°C-، گیاهان به مدت هشت ساعت در آن سطح دمایی و در شرایط تاریکی متوقف شده و پس از پایان اعمال تنش، مجدداً دما به تدریج به ۲۴°C افزایش داده شد (Cheong et al. 2019; Cheong et al. 2020). بعد از آن گل‌دان‌ها مجدداً به محل مزرعه منتقل شدند و بعد از رسیدگی کامل بوته‌ها، صفات وزن سنبله اصلی (گرم)، تعداد دانه در سنبله اصلی، وزن دانه در سنبله اصلی (گرم)، وزن کل سنبله‌ها در بوته (گرم)، تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه در بوته (گرم)، نسبت باروری پنجه (با تقسیم تعداد پنجه بارور در هر بوته بر تعداد کل پنجه در هر بوته) و وزن صد دانه (گرم) اندازه‌گیری شدند. در نهایت از هر گل‌دان سه بوته به طور تصادفی انتخاب شد و میانگین این سه بوته در تجزیه‌ها استفاده شد.

تعیین ژنوتیپ: تعیین ژنوتیپ با استفاده از آرایه چند شکلی تک نوکلئوتیدی^۲ (SNP) با تراکم 9K در شرکت TraitGenetic کشور آلمان صورت گرفت. نشانگرهای مورد استفاده از لحاظ مقادیر گمشده بیشتر از ۳۰ درصد و فراوانی آلی نادر^۳ (MAF) کمتر از یک درصد و هتروزیگوسیتی کمتر از ۱۲/۵ درصد فیلتر شدند. در نهایت تعداد ۱۷۰۹۳ نشانگر SNP در مطالعه حاضر استفاده شدند.

تجزیه‌های مولکولی: تنوع ژنی^۴ (GD)، محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها^۵ (PIC) و MAF برای هر زیر جمعیت و تمایز ژنتیکی^۶ (شاخص تثبیت، FST) در بین چهار زیرجمعیت با استفاده از بسته نرم افزاری snpReady (Granato et al. 2018). در محیط R و با استفاده از ۱۷۰۸۷ نشانگر SNP محاسبه شدند. تجزیه ساختار جمعیت در جمعیت مورد مطالعه با استفاده از بسته LEA و در محیط R انجام شد (Falush et al. 2007). تعداد زیرجمعیت‌ها با استفاده از معیار آنتروپی متقابل برای مقدار k از ۱ تا ۱۰ و با تعداد تکرار ۱۰ تعیین شد. معیار آنتروپی متقابل بر اساس پیش‌بینی کسری از ژنوتیپ‌های پوشانده شده (تکمیل ماتریس) و رویکرد اعتبارسنجی متقابل است. پس از تعیین تعداد زیر جمعیت‌ها، به‌منظور محاسبه واریانس درون و بین این زیر جمعیت‌ها، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از نرم افزار GeneAIEx 6.41 و با تعداد جایگشت ۹۹۹۹ عدد انجام شد. تمایز ژنتیکی با استفاده از PhiPT (آنالوگ FST) تعیین شد که نشان‌دهنده کل تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌ها است. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) میزان تنوع را در دو سطح، (i) بین زیرجمعیت‌ها و (ii) درون زیر جمعیت‌ها تخمین می‌زند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از داده‌های نشانگری و صفات فنوتیپی در محیط‌های نرمال و تنش سرما به‌طور جداگانه انجام شد. برای محاسبه و تشکیل ماتریس فاصله بر اساس داده‌های فنوتیپی از ضرایب فاصله اقلیدوسی^۷ استفاده شد. برای ترسیم دندروگرام از روش‌های گروه‌بندی وارد^۸، دورترین فاصله یا پیوند کامل^۹، نزدیکترین فاصله یا پیوند تکی^{۱۰} و همبستگی متوسط^{۱۱} (UPGMA) استفاده شد. انتخاب بهترین گروه‌بندی بر اساس بالاترین ضریب همبستگی بین ماتریس‌های تشابه و کوفنتیک انجام شد. برای یافتن خط برش دندوگرام از بسته NbClust در محیط R استفاده شد (Charrad et al. 2012). برای محاسبه ماتریس فاصله ژنتیکی با استفاده از داده‌های ژنوتیپی، از روش Weir (2017) و Goudet استفاده شد. برای ترسیم دندروگرام ژنوتیپی از روش‌های گروه‌بندی که برای ترسیم دندروگرام فنوتیپی ذکر شد، استفاده گردید و دندروگرام نهایی براساس روش UPGMA ترسیم گردید. تجزیه به

² Single nucleotide polymorphism

³ Minor allele frequency

⁴ Genetic Diversity

⁵ Polymorphism Information Content

⁶ Fixation index

⁷ Euclidean distance

⁸ Ward

⁹ Complete-Linkage

¹⁰ Single-Linkage

¹¹ Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

مختصات اصلی با استفاده از بسته نرم‌افزاری SNPRelate انجام شد. بررسی ارتباط بین داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی و دندوگرام‌های حاصل از این دو، براساس آزمون مانتل (Mantel 1967) و با استفاده از بسته ade4 در محیط R انجام شد.

نتایج و بحث

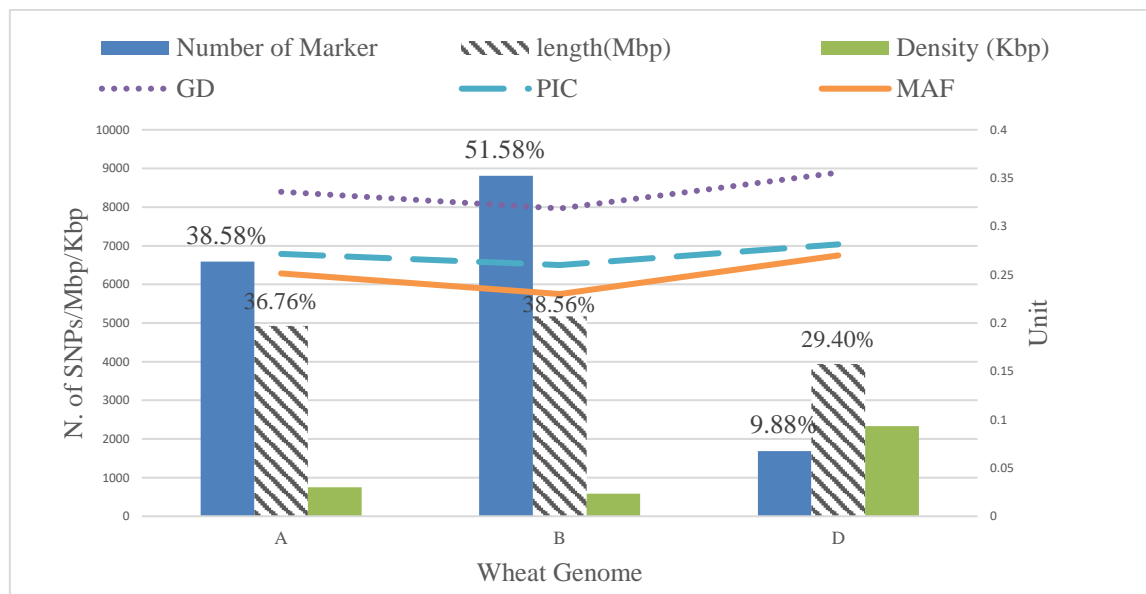
محاسبه شاخص‌های مولکولی: تنوع ژنی و محتوی اطلاعات چندشکلی معیارهایی از تنوع ژنتیکی هستند که فشار تکاملی بر روی آلل‌ها و میزان جهش در یک مکان در یک دوره زمانی را روشن می‌کنند (Shete et al. 2000). تنوع ژنتیکی کلی در یک جمعیت عمدتاً با توزیع نشانگرهای اطلاع رسان منعکس می‌شود (Nielsen et al. 2014). تنوع ژنی نشانگرهای هاپلوئید، طیفی از میانگین هتروزیگوسیتی و فاصله ژنتیکی را در یک جمعیت در میان افراد نشان می‌دهد (Nei 1978; Shete et al. 2000). محتوی اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم برای مقایسه نشانگرهای مختلف، از نظر قدرت تمایز آن‌ها به‌شمار می‌رود. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری دارد که در قدرت و تمایز افراد نقش به‌سزایی دارد (Esmaeili et al. 2020). در این مطالعه، تنوع ژنتیکی جمعیت گندم با استفاده از ۱۷۰۸۷ نشانگر SNP مورد بررسی قرار گرفت. تعداد نشانگرهای موجود بر روی هر کروموزوم، از ۴۶ (4D) تا ۱۷۸۲ (5B) و با میانگین ۸۱۳/۳۳ نشانگر متغیر بود (جدول ۲). پوشش نشانگری نیز از ۴۷۲/۹۰ مگاجفت باز (6D) تا ۸۲۹/۲۶ مگاجفت باز (3B) متغیر بود. بیشترین تراکم نشانگری بر روی کروموزوم 5B با میانگین فاصله برابر با ۰/۴۰۰ مگاجفت باز بین هر جفت نشانگر بود (شکل ۱). در این بین، ژنوم B با در بر داشتن تعداد ۸۸۰۷ نشانگر (۵۱ درصد) دارای بیشترین تعداد نشانگر بود و بعد از آن ژنوم A تعداد ۶۵۹۲ نشانگر (۳۹ درصد) و ژنوم D تعداد ۱۶۸۸ نشانگر (۱۰ درصد) را در بر داشتند. تراکم نشانگری بر روی ژنوم‌های A، B و D به ترتیب برابر با ۰/۷۴۷، ۰/۵۸۷ و ۲/۳۳ مگاجفت باز بود (شکل ۱). در سایر مطالعات نیز کمترین تعداد نشانگر بر روی کروموزوم D گزارش شده است (Akhunov et al. 2020; Alipour et al. 2017; Kumar et al. 2010). مقادیر PIC برای نشانگرها از ۰/۰۳ تا ۰/۳۸ با میانگین کل برابر با ۰/۲۶ متغیر بود. بالاترین میانگین PIC مربوط به کروموزوم 3D (۰/۳۱) و کمترین آن مربوط به کروموزوم 1B (۰/۲۰) بود (جدول ۲). نتایج به‌دست آمده با نتایج Kumar et al. (2020) مطابقت دارد. میزان GD در این مطالعه از ۰/۰۳ تا ۰/۵ متغیر بود. بالاترین میانگین تنوع ژنی در کروموزوم 2D (۰/۴) و کمترین در کروموزوم 1B (۰/۲۴) مشاهده شد. در بین سه ژنوم گندم نان، بالاترین میانگین GD (۰/۳۵) و PIC (۰/۲۸) مربوط به ژنوم D بودند (شکل ۱). دامنه MAF بین ۰/۰۱ تا ۰/۵ و با میانگین ۰/۲۴ متغیر بود. همانطور که انتظار می‌رفت مقدار کلی GD بیشتر از مقدار کلی PIC بود. در غیاب تعداد بیشتر آلل‌ها و افزایش یکنواختی فرکانس‌های آلی، PIC همیشه کمتر از GD خواهد بود (Shete et al. 2000). مقادیر $PIC > 0.5$ بسیار سودمند در نظر گرفته می‌شوند. مقادیر PIC در محدوده ۰/۲۵-۰/۵ نسبتاً سودمند در نظر گرفته می‌شوند و مقادیر $PIC < 0.25$ حاوی اطلاعات سودمند اندکی هستند (Kumar et al. 2020). از آنجایی که نشانگرهای SNP ماهیت دو آلی دارند، مقادیر PIC آن‌ها با اطلاعات

متوسط یا کم در نظر گرفته می‌شوند و بیشترین مقدار آن از ۰/۵ تجاوز نمی‌کند (Eltaher et al. 2018). در این مطالعه نیز مقادیر PIC، نشانگرهای مورد مطالعه را در رده نسبتاً سودمند قرار داد که با سایر مطالعاتی که از نشانگر SNP برای بررسی تنوع ژنتیکی در گندم استفاده کردند مطابقت دارد (Chao et al. 2009; Allen et al. 2011; Eltaher et al. 2018). میانگین کم MAF که در این مطالعه مشاهده شد، نشان دهنده‌ی این است که اکثر ژنوتیپ‌ها دارای آلل‌های مشترک بودند.

جدول ۲. شاخص‌های مولکولی تنوع ژنتیکی و توزیع SNP ها در کروموزوم‌های گندم نان

Table 2. Molecular parameters of genetic diversity and distribution of SNPs on bread wheat chromosomes

دامنه											کروموزوم Chromosome
Range (Means)											
4B	4A	3D	3B	3A	2D	2B	2A	1D	1B	1A	تنوع ژنتیکی GD
0.06-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	
0.32	0.34	0.38	0.32	0.35	0.4	(0.33)	(0.31)	(0.28)	(0.24)	(0.35)	
0.06-0.38	0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.38	0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.38	0.03-0.38	0.03-0.38	محتوای اطلاعات چند شکلی PIC
(0.26)	(0.28)	(0.29)	(0.26)	(0.28)	(0.31)	(0.27)	(0.25)	(0.23)	(0.2)	(0.28)	
0.03-0.5	0.01-0.5	0.01-0.49	0.01-0.5	0.01-0.49	0.01-0.5	0.01-0.5	0.01-0.49	0.02-0.5	0.01-0.5	0.01-0.5	فراوانی الل نادر MAF
(0.22)	(0.26)	(0.31)	(0.23)	(0.26)	(0.31)	(0.24)	(0.22)	(0.2)	(0.17)	(0.27)	
630	524	164	1135	944	549	1339	1026	472	1574	996	تعداد نشانگر N. of markers
666.05	744.31	614.69	829.26	749.40	33.650	25.801	71.780	23.495	00.689	55.593	طول کروموزوم Length (Mbp)
total	7D	7B	7A	6D	6B	6A	5D	5B	5A	4D	کروموزوم Chromosome
0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.06-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.03-0.5	0.14-0.5	تنوع ژنتیکی GD
(0.33)	(0.31)	(0.32)	(0.36)	(0.38)	(0.36)	(0.3)	(0.36)	(0.34)	(0.34)	(0.38)	
0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.38	0.03-0.37	0.06-0.37	0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.38	0.03-0.37	0.03-0.37	0.13-0.37	محتوای اطلاعات چند شکلی PIC
(0.26)	(0.25)	(0.26)	(0.29)	(0.3)	(0.29)	(0.24)	(0.29)	(0.28)	(0.28)	(0.3)	
0.01-0.5	0.01-0.49	0.01-0.5	0.01-0.49	0.03-0.49	0.01-0.5	0.01-0.49	0.01-0.5	0.01-0.49	0.01-0.49	0.07-0.49	فراوانی الل نادر MAF
(0.24)	(0.23)	(0.24)	(0.28)	(0.29)	(0.26)	(0.21)	(0.27)	(0.25)	(0.26)	(0.28)	
17087	126	1012	1019	161	1335	1066	170	1782	1017	46	تعداد نشانگر N. of markers
14039.82	633.39	750.605	736.69	472.89	720.99	615.89	564.95	712.70	708.44	509.48	طول کروموزوم length (Mbp)



شکل ۱. مقایسه توزیع و تراکم ۱۷۰۹۳ نشانگر SNP (نمودار میله ای) و شاخص های تنوع (نمودار خطی) در ژنوم های A، B و D در گندم نان

Figure 1. Comparison of distribution and density of 17093 SNP markers (bar chart) and diversity indices (line chart) in A, B and D genomes in bread wheat

بررسی ساختار جمعیت: نتایج بررسی ساختار جمعیت در ۶۷ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از آرایه SNP در شکل ۲ نشان

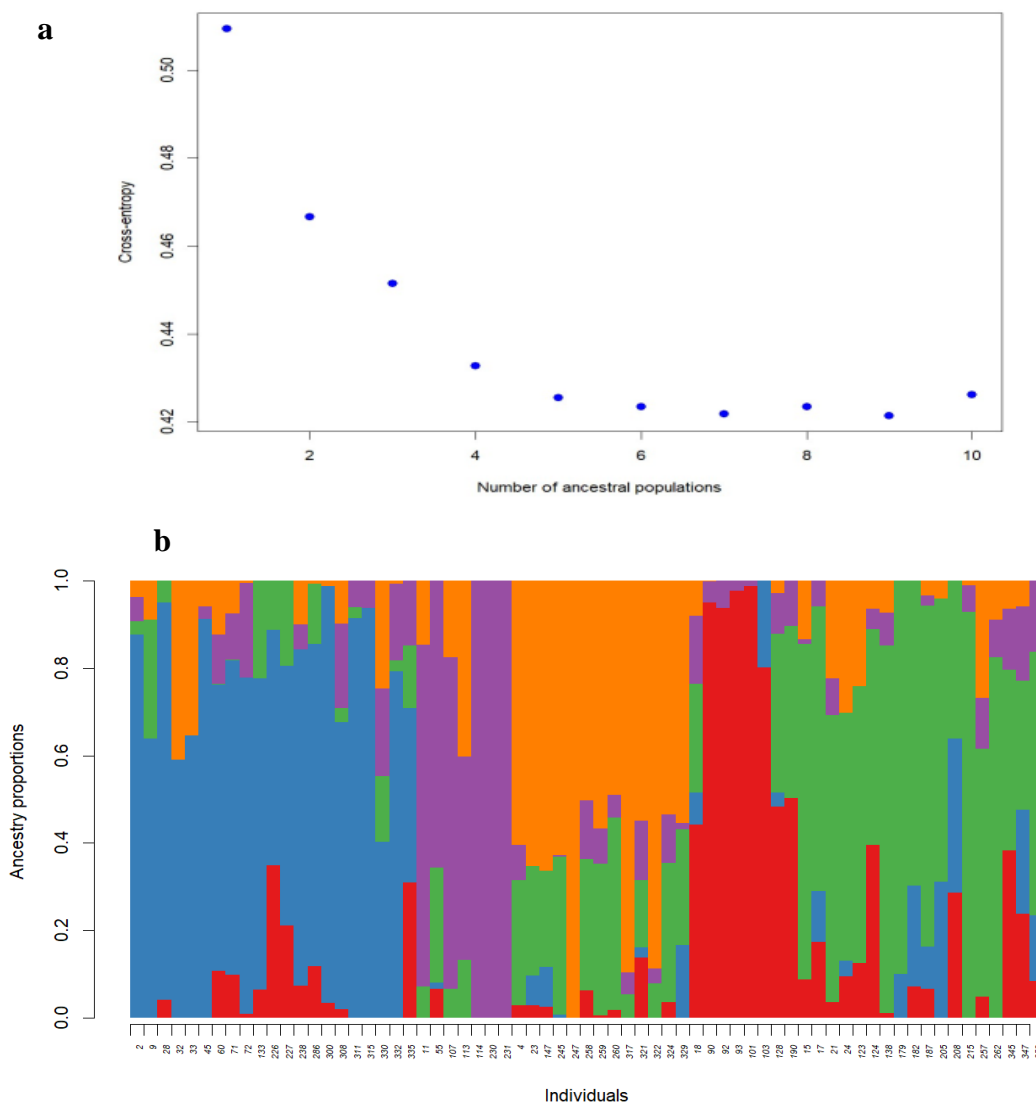
داده شده است. شکل ۲ (a) نمودار آنروپی متقابل برای تعیین مقدار K بهینه را نشان می دهد. انتخاب K بهینه بر اساس منحنی آنروپی متقابل نقطه ای است که بعد از آن، تغییرات K به صورت بدون تغییر یا با تغییر ناچیز در آمده است. بر این اساس، مقدار K بهینه در این مطالعه برابر با پنج (K=5) انتخاب شد. با در نظر گرفتن مقدار آستانه احتمال عضویت، ۰/۶ از کل ۶۷ ژنوتیپ گندم نان ۲۱ ژنوتیپ به ساختار اول، هفت ژنوتیپ به ساختار دوم، ۱۲ ژنوتیپ به ساختار سوم، هشت ژنوتیپ به ساختار چهارم و ۱۹ ژنوتیپ به ساختار پنجم تعلق گرفتند (شکل ۲ (b)). گروه های اول و سوم عمدتاً ژنوتیپ های با منشا کشور روسیه و گروه دوم عمدتاً ژنوتیپ های با منشا آمریکا و کانادا بودند. در جمعیت مورد مطالعه هیچ زیرگروه واضحی براساس منشا جغرافیایی مشاهده نشد و منشاء جغرافیایی، شاخص معتبری برای انتخاب ژنوتیپ های نسبتاً متنوع در جمعیت حاضر نیست (شکل ۲ (d)). این نتایج نشان دهنده تأثیرپذیری روابط بین ژنوتیپ ها به وسیله تنوع درونی هر منطقه جغرافیایی است. بدین معنی که، ژنوتیپ های متعلق به کشورها یا مناطقی با تنوع نسبتاً زیاد به علت فاصله ژنتیکی شان زیاد به آسانی گروه بندی نمی شوند. اطلاع داشتن از فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ ها می تواند دانش ارزشمندی را جهت انتخاب ژنوتیپ های متنوع و پیش بینی هتروزیس برای اصلاح ارقام متحمل به تنش فراهم کند. بدین معنی که هرچه فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ بیشتر باشد، تلاقی بین این ژنوتیپ ها می تواند منجر به ایجاد دورگ هایی با پتانسیل ژنتیکی بالاتر نسبت به والدین خود (هتروزیس) شود (Spanic et al. 2016; Domiciano et al. 2021). براین اساس برای بررسی

تمایز ژنتیکی بین پنج زیرجمعیت گندم نان از شاخص تثبیت (FST) استفاده شد. زیرجمعیت‌های یک و پنج با مقدار کلی FST برابر با ۰/۰۹ نزدیک‌ترین ارتباط را داشتند. علاوه بر آن اختلاف میانگین اکثر صفات فنوتیپی در دو شرایط تنش و نرمال در این زیر جمعیت‌ها نیز بسیار ناچیز بود. در حالی که زیرجمعیت‌های دو و سه بالاترین درجه تمایز را با مقدار FST برابر با ۰/۵۷ نشان دادند (جدول ۳). بنابراین انتخاب از بین این دو جمعیت باید در اولویت قرار گیرد تا شانس ایجاد متفاوت ترین والدین در برنامه‌های به‌نژادی افزایش یابد. در مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر SNP در واریته‌های گندم با منشا متفاوت نشان داده شد که توسعه ژنوتیپ‌هایی با زمینه ژنتیکی متنوع می‌تواند امکان دستیابی به هتروزیس مناسب برای اصلاح ارقام را بوجود آورد (Spanic et al 2016). زیرجمعیت دو دارای کمترین مقدار میانگین برای اکثر صفات فنوتیپی در شرایط تنش نسبت به سایر زیر جمعیت‌ها بود، در مقابل جمعیت فرعی چهار که دارای بیشترین میانگین صفات عملکرد دانه در بوته و تعداد دانه در بوته در هر دو شرایط تنش و نرمال و وزن کل سنبله‌ها در بوته در شرایط تنش بود (جدول ۴). به‌طور کلی می‌تواند استنباط کرد طیف وسیعی از تنوع صفات در درون جمعیت‌ها وجود دارد و ترکیب ژنتیکی ژنوتیپ‌های متحمل به سرما می‌تواند متفاوت باشد و برای انتخاب به ترکیب ژن‌های تحمل به سرما از منابع مختلف نیاز است. در مطالعه Dodig et al (2010) و Belete et al (2020) نیز برای تحمل به تنش خشکی در گندم نان نتایج مشابه گزارش شده است.

تجزیه واریانس مولکولی و شاخص‌های تنوع ژنتیکی: در این مطالعه، ۲۲ درصد تنوع در بین زیرجمعیت‌ها مشاهده شد، در حالی که مابقی تغییرات ۷۸ درصدی در داخل زیر جمعیت‌ها مشاهده شد (جدول ۵). بنابراین، تمایز ژنتیکی مشاهده شده پس از ۹۹۹۹ جایگشت در بین زیرجمعیت‌ها کم و در زیرجمعیت‌ها زیاد مشاهده شد. که نشان می‌دهد انتخاب درون جمعیتی باید در افزایش سود ژنتیکی موثر باشد در حالی که استراتژی‌های انتخابی که از تنوع بین جمعیت‌ها بهره‌برداری می‌کنند، تنها پاسخ محدودی به انتخاب ارائه می‌دهند (Belete et al. 2021). به‌طور مشابه، تغییرات بزرگتر و معنی‌داری در بین جمعیت‌ها در مقایسه با درون جمعیت‌ها توسط سایر محققین گزارش شده است (Mdluli et al. 2020; Tehseen et al. 2021). اختلاف معنی‌دار مشاهده شده در بین زیرجمعیت‌ها بر اساس آماره PhiPT محاسبه شده (جدول ۵) نیز تاییدی بر صحت گروه‌بندی انجام شده برای زیرجمعیت‌ها می‌باشد. شاخص‌های تنوع ژنتیکی محاسبه شده در پنج زیرجمعیت شناسایی شده در این مطالعه در جدول ۵ نشان داده شده است. زیرجمعیت یک با میانگین $GD=0/3$ و $PIC=0/25$ بیشترین تنوع و زیرجمعیت شماره دو با میانگین $GD=0/1$ و $PIC=0/08$ کمترین تنوع را نشان دادند.

محاسبه ماتریس تشابه و تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های فنوتیپی: برای محاسبه ماتریس تشابه از ماتریس فاصله اقلیدوسی و برای ترسیم دندروگرام فنوتیپی از روش UPGMA که دارای بالاترین ضریب کوفتیک (۰/۷۱) در محیط نرمال و ۰/۶۵ در محیط تنش) بود و شباهت افراد را بهتر از سایر روش‌ها نشان می‌داد، استفاده شد. از روش UPGMA برای دسته‌بندی

ژنوتیپ‌های گندم با نشانگرهای مولکولی و صفات فنوتیپی در مطالعات مشابه دیگر نیز استفاده شده است (Dodig et al. 2010; Voss-Fels et al. 2015; El-Rawy & Hassan 2021; Sönmezoğlu et al. 2022).



شکل ۲. تجزیه و تحلیل ساختار جمعیت ۶۷ ژنوتیپ گندم نان. a- نمودار آنتروپی متقابل که تعداد جمعیت‌ها را نشان می‌دهد، b- نمودار میله‌ای پنج زیرجمعیت بر اساس ماتریس خویشاوندی

Figure 2. Population structure analysis of 67 bread wheat genotypes; a- cross-entropy showing the number of populations, b- Bar plot of 5 sub-populations by kinship matrix

دامنه فاصله اقلیدوسی بر اساس صفات زراعی در شرایط نرمال از ۰/۸۷ تا ۸/۹۶ و در شرایط تنش از ۰/۵۰ تا ۸/۶۷ متغیر بود. در محیط نرمال بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۷۲ (WALDE) و ۳۱۵ (DISCUS) و کمترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۲۳ (Podoljanka) و ۱۸۷ (NS 66/92) مشاهده شد. در حالی که در محیط تنش، ژنوتیپ‌های ۱۲۸ (NI9814) و ۳۱۷

Bezenchukskaya 380) بیشترین فاصله و ژنوتیپ‌های ۲۴ (Liona) و ۳۱۱ (TIGER) کمترین فاصله را داشتند. میانگین فاصله اقلیدوسی براساس صفات زراعی در شرایط نرمال و تنش به ترتیب برابر با ۳/۷۸ و ۳/۷۶ بود.

جدول ۳. تمایز ژنتیکی (شاخص تثبیت (FST)) بین ۵ زیر جمعیت بدست آمده از ۶۷ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از نشانگر SNP

Table 3. Genetic differentiation (Fixation index, FST) among the 5 sub-populations of 67 bread wheat genotypes evaluated by SNP markers

زیر جمعیت ۵ pop5	زیر جمعیت ۴ pop4	زیر جمعیت ۳ pop3	زیر جمعیت ۲ pop2	
0.091	0.166	0.137	0.302	زیر جمعیت ۱ pop1
0.479	0.438	0.567		زیر جمعیت ۲ pop2
0.23	0.287			زیر جمعیت ۳ pop3
0.232				زیر جمعیت ۴ pop4

بهترین تعداد خوشه براساس اکثر شاخص‌های مورد استفاده در بسته نرم افزاری "NbClust" برای شرایط نرمال و تنش برابر با ۵ و ۶ گروه به ترتیب بود. در شرایط نرمال گروه‌ها از یک تا پنج به ترتیب، شامل تعداد ۲۸، ۳۸، ۲۸، ۳ و ۲ ژنوتیپ بودند. در شرایط نرمال، ژنوتیپ‌های گروه‌های اول و پنجم به‌طور میانگین در اغلب صفات بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند و به‌عنوان گروه‌های با عملکرد بالا انتخاب شدند (جدول ۴). گروه چهارم دربردارنده ژنوتیپ‌های ۷۱ (HOLME)، ۷۲ (WALDE) و ۲۲۷ (ZG K T 159/82) بود و به‌عنوان گروهی با عملکرد پایین در شرایط نرمال شناخته شد. گروه سوم که شامل ژنوتیپ‌های ۶۰ (Äring II) و ۲۸ (Almari) بود نیز به‌عنوان گروه با عملکرد متوسط شناخته شد.

در شرایط تنش گروه‌های یک تا چهار به ترتیب شامل ۲۱، ۲۷، ۱۰ و ۷ ژنوتیپ بودند. گروه پنجم، شامل ژنوتیپ ۲۲۶ (ZG K T 159/82) و گروه شش شامل ژنوتیپ ۳۵۲ (Biruzā) بود. ژنوتیپ ۳۵۲ (Biruzā) و ژنوتیپ‌هایی که در گروه اول قرار گرفتند به‌طور میانگین دارای مقدار بزرگتری برای اکثر صفات مورد مطالعه نسبت به سایر گروه‌ها بودند بنابراین ژنوتیپ‌های این گروه نسبت به تنش سرما مقاوم‌تر بودند و در نتیجه کمترین خسارت را از تنش متحمل شدند (جدول ۴). در یک مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از صفات فیزیولوژیک، ۲۶ ژنوتیپ مورد مطالعه در شرایط نرمال به سه گروه و در شرایط تنش سرمای دیررس بهار به چهار گروه تقسیم شدند (Asadi et al. 2018).

جدول ۴. شاخص‌های ژنتیکی مبتنی بر SNP و صفات فنوتیپی در بین پنج زیر جمعیت حاصل از ۶۷ زنوتیپ گندم نان

Table 4. SNP and phenotypic based genetic parameters among five populations of 67 bread wheat genotypes

جمعیت ۵	جمعیت ۴	جمعیت ۳	جمعیت ۲	جمعیت ۱	شاخص مبتنی بر SNP
pop5	pop4	pop3	pop2	pop1	SNP parameters
0.28	0.24	0.22	0.1	0.3	تنوع ژنتیکی GD
0.23	0.19	0.18	0.08	0.25	محتوای اطلاعات چند شکلی PIC
0.2	0.17	0.16	0.07	0.22	فراوانی ال نادر MAF
19	8	12	7	21	تعداد ژنوتیپ N of genotype
(Normal) نرمال					شاخص‌های فنوتیپی Phenotypic parameters
0.965	0.931	0.936	0.930	0.868	نسبت باروری پنجه Fertility tiller ratio
1.364	1.280	1.285	0.779	1.565	وزن سنبله اصلی Main spike weight (g)
0.610	0.614	0.550	0.446	0.5944	وزن دانه در سنبله اصلی Grain weight per main spike (g)
28.847	31.77	28.619	27.008	31.575	تعداد دانه در سنبله اصلی Grain number per main spike
3.313	3.379	2.933	3.551	3.7103	وزن سنبله در بوته Spikes weight per plant (g)
87.938	121.711	85.97	106.396	86.86	تعداد دانه در بوته Grain number per plant
3.327	2.926	3.0632	2.500	3.024	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight (g)
1.924	2.643	1.696	1.543	1.990	عملکرد دانه در بوته Grain yield per plant (g)
(Late cold stress) تنش سرمای دیررس بهاره					
0.842	0.901	0.849	0.720	0.749	نسبت باروری پنجه Fertility tiller ratio
0.852	0.831	0.747	0.6120	0.806	وزن سنبله اصلی Main spike weight (g)
0.432	0.454	0.402	0.286	0.434	وزن دانه در سنبله اصلی Grain weight per main spike (g)
23.695	24.08	21.424	18.837	25.346	تعداد دانه در سنبله اصلی Grain number per main spike
2.189	2.873	1.808	1.880	2.0942	وزن سنبله در بوته Spikes weight per plant (g)
50.313	68.98	45.377	63.480	54.021	تعداد دانه در بوته Grain number per plant
1.878	1.759	1.799	1.5190	1.6477	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight (g)
1.145	1.565	0.944	0.825	0.997	عملکرد دانه در بوته Grain yield per plant (g)
					نسبت باروری پنجه Fertility tiller ratio

محاسبه ماتریس تشابه و تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های ژنوتیپی: استفاده از نشانگرهای مولکولی و

شناسایی توالی‌های نوکلئوتیدی چندشکلی پراکنده در سراسر ژنوم، امکان جدیدی را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط ژنتیکی

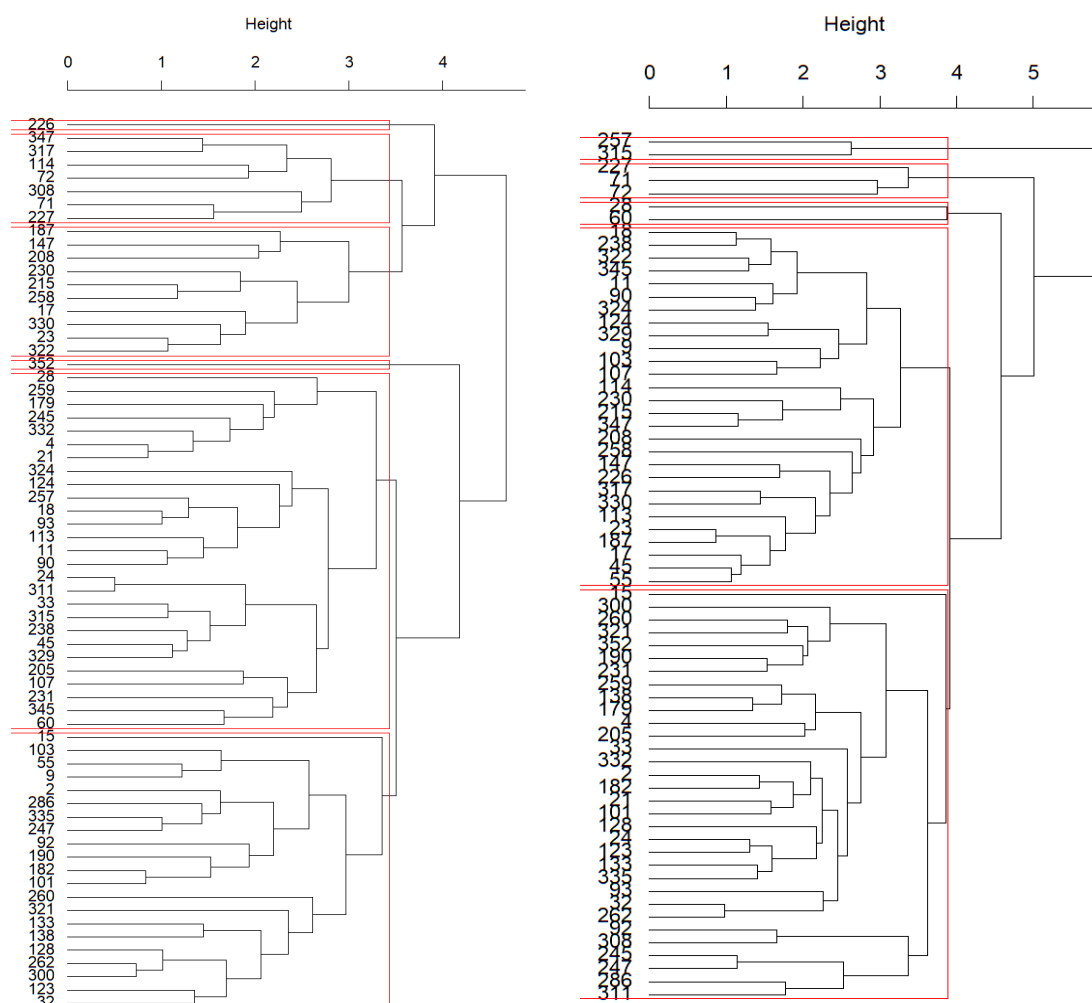
بین گونه‌ای و درون گونه‌ای فراهم کرده است (Gostimsky et al. 2005).

جدول ۵. تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) بین و درون جمعیت‌ها در ۶۷ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از نشانگر SNP

Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) among and within populations in 67 bread wheat genotypes using SNP markers

درصد تغییرات	واریانس درون جمعیت	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
%	Est. Var.	Means of square	DF	S.O.V
22%	598.350	9824.394	4	Among Pops
78%	2166.340	2166.343	62	Within Pops
100%	2764.690		66	Total کل

PhiPT= 0.216**, p=0.001



شکل ۳. خوشه‌بندی سلسله مراتبی ۶۷ ژنوتیپ گندم نان براساس صفات فنوتیپی در شرایط نرمال (راست) و تنش سرمای دیر رس بهاره (چپ)

Figure 3. Hierarchical clustering of 67 bread wheat genotypes based on phenotypic traits measured under normal (right) and cold late stress(left) conditions

جدول ۶. میانگین صفات مربوط به گروه‌های خوشه‌بندی ۶۷ ژنوتیپ‌های گندم نان براساس صفات فنوتیپی در شرایط نرمال و تنش سرمای دیررس بهاره

Table 6. Average of traits in the clustering groups of 67 bread wheat genotypes based on phenotypic traits under normal conditions and late spring cold stress

(Normal) نرمال									
گروه	تعداد اعضا	نسبت باروری پنجه	وزن سنبله اصلی	وزن دانه در سنبله اصلی	تعداد دانه در سنبله اصلی	وزن کل سنبله‌ها در بوته	تعداد دانه در بوته	وزن ۱۰۰ دانه	عملکرد دانه در بوته
Group	No of members	Fertility tiller ratio	Main spike weight (g)	Grain weight per main spike (g)	Grain number per main spike	Spikes weight per plant (g)	Grain number per plant	100-grain weight (g)	Grain yield per plant (g)
1	38	0.96	1.59	0.71	32.14	3.51	100.48	3.41	2.52
2	28	0.92	0.88	0.44	27.20	3.15	86.97	2.58	1.29
3	2	0.74	1.01	0.70	40.14	4.97	109.41	2.10	1.62
4	3	0.63	1.36	0.33	18.73	3.56	63.87	2.93	1.04
5	2	0.95	4.09	0.55	35.71	3.45	92.14	5.09	3.70
(Late cold stress) تنش سرمای دیررس بهاره									
1	21	0.90	1.00	0.57	29.24	2.87	65.69	1.94	1.71
2	27	0.80	0.77	0.45	22.70	2.07	54.70	1.86	1.05
3	10	0.91	0.57	0.24	16.59	1.35	36.19	1.36	0.46
4	7	0.43	0.49	0.14	16.03	1.39	42.01	0.89	0.36
5	1	0.63	0.68	0.13	28.39	1.23	38.87	2.85	0.25
6	1	1.00	1.46	0.32	30.82	2.85	80.18	2.84	0.70

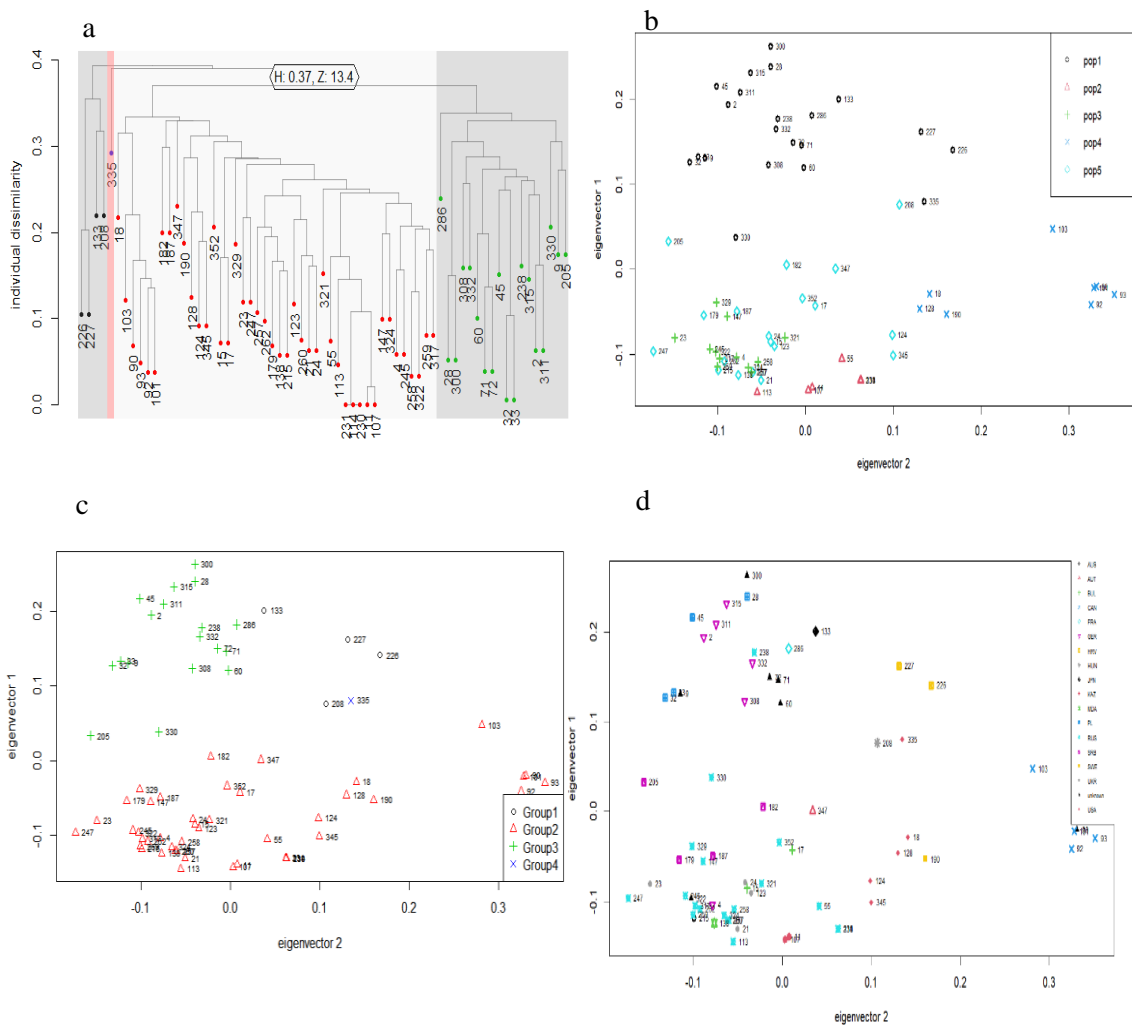
در مقایسه با صفات مورفولوژیکی، تجزیه و تحلیل مولکولی مستقل از اثرات محیطی است و می‌تواند اطلاعات اضافی و دقیقی را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ارائه دهد (Dhillon et al. 2009). جهت شناسایی و درک بهتر شباهت‌ها در میان ۶۷ ژنوتیپ گندم نان مورد مطالعه، ماتریس فاصله ژنتیکی حاصل از اطلاعات نشانگر SNP، مورد بررسی قرار گرفت. فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها در محدوده ۰/۰۰۷ تا ۱/۴۰ متغیر بود که نشان دهنده تنوع بالای موجود در سطح ژنوم این ژنوتیپ‌ها بود. بیشترین تفاوت ژنتیکی بین دو ژنوتیپ ۱۲۸ (NI9814) و ۱۳۳ (Ai-bian) و کمترین تفاوت بین ژنوتیپ‌های ۱۱۴ (Al'bina 45) و ۲۳۰ (Kulundinka) و ۲۳۱ (Irkutskaya ozimaya) مشاهده شد و همچنین میانگین فاصله ژنتیکی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۱/۰۱۵ بود. نتایج محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیکی نشان داد که بیشترین مقدار این ضریب که برابر $r = ۰/۸۸$ بود مربوط به ماتریس فاصله ژنتیکی و ماتریس خروجی دندوگرام حاصل از روش UPGMA بود. یعنی نتایج حاصل از دندوگرام ۸۸٪ با ماتریس فاصله ژنتیکی اولیه هم‌خوانی داشت. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPMGA، ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم‌بندی کرد (شکل ۴ (a)). گروه اول تا سوم به ترتیب شامل ۴، ۴۴ و ۱۸ عدد ژنوتیپ بودند و گروه چهارم شامل ژنوتیپ ۳۳۵ (Goldfield) بود. نتایج حاصل از تنوع و فاصله ژنتیکی برای انتخاب والدین به‌منظور بهبود ارزش اصلاحی ژنوتیپ‌ها مفید است. به‌طوری که

تلاقی بین ژنوتیپ‌های با فاصله ژنتیکی بیشتر، می‌تواند منجر به ایجاد دورگ‌هایی با پتانسیل ژنتیکی بالاتر نسبت به والدین خود شود.

تجزیه به مختصات اصلی بر اساس داده‌های ژنوتیپی: از تجزیه به مختصات اصلی براساس ماتریس فاصله (PCOA)

نیز برای بررسی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. شکل ۴، توزیع و پراکنش ژنوتیپ‌ها را براساس دو مولفه اول و دوم نشان می‌دهد. این دو مولفه به ترتیب ۱۰/۳۷ و ۵/۸۲ درصد (۱۶/۱۹ درصد در مجموع) از واریانس کل را توجیه کردند. اطلاعات بدست آمده از تجزیه به مختصات اصلی و تجزیه خوشه‌ای تقریباً با هم مطابقت داشت و همچنین زیر جمعیت‌های یک، دو و چهار نیز بر اساس دو مولفه اول به خوبی از یکدیگر جدا شده‌اند (شکل ۴(c)). ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند که این نشان می‌دهد، اساس ژنتیکی تحمل به سرما در این ژنوتیپ‌ها متفاوت است (Shakiba et al. 2017). در نتیجه به اصلاح‌گران گندم این امکان را می‌دهد تا از تنوع ژنتیکی موجود در این ژنوتیپ‌ها، برای بهبود تحمل به سرمای دیررس بهاره بهره ببرند. در یک مطالعه بر روی جو، ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپی در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند و نشان دادند که مبنای ژنتیکی تحمل به سرمای بهاره در ژنوتیپ‌های جو متفاوت است (Visioni et al. 2013).

تنوع و واگرایی ژنتیکی بین منابع ژنتیکی گندم با استفاده از روش‌های فنوتیپی و مولکولی به‌طور مستقل یا ترکیبی در مطالعات دیگران نیز ارزیابی شده است (Nazarzadeh et al. 2020; El-Rawy & Hassan 2021; Shabannejad et al. 2022). برای مثال Shamuyarira et al (2022) در مطالعه‌ی خود روی بررسی تنوع ژنتیکی در گندم در شرایط نرمال و تنش خشکی، با استفاده از نشانگر SNP، ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم‌بندی کردند و سه مولفه ویژه با مجموع توجیح تغییرات ۸۰/۸۷ درصد و ۶۸/۶۰ درصد به ترتیب در شرایط نرمال و تنش شناسایی کردند. به‌طور کلی استفاده از نشانگرهای SNP به ویژه در مطالعه تنوع ژنتیکی گیاهان با ساختار ژنومی بزرگ و پیچیده، مانند گندم، مناسب گزارش شده است (Thomson 2014). برای بررسی مطابقت بین گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی از آزمون مانتل استفاده شد. میزان همبستگی بین گروه‌بندی ژنوتیپی با فنوتیپی در شرایط نرمال برابر با ۰/۰۲ ($p=0/37$) و در شرایط تنش برابر با ۰/۰۱ ($p=0/48$) بود. این نتایج نشان‌دهنده‌ی غیر معنی دار بودن آزمون مانتل و در نتیجه عدم تطابق گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های ژنوتیپی و فنوتیپی می‌باشند. درحالی‌که، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس صفات مورد مطالعه در دو شرایط نرمال و تنش سرما، همبستگی معنی‌داری ($r=0/41$, $p=0/0001$) را نشان داد. این نتایج با یافته‌های (Verma et al. 2019). و (Belete et al. 2021). مطابقت دارد. عدم تطابق گروه‌بندی فنوتیپی و ژنوتیپی، می‌تواند به دلیل همبستگی پایین بین نشانگرهای DNA و صفات فنوتیپی در گیاهان زراعی باشد. این همبستگی پایین می‌تواند به دلیل تحت تأثیر محیط بودن صفات کمی باشد. تنوع فنوتیپی در گندم تحت تأثیر هر دو اثر ژن‌ها و محیط است (Nkhoma et al. 2020). بنابراین، به دلیل ماهیت مکمل ژنوتیپ و فنوتیپ، استفاده همزمان از داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی، رویکرد قدرتمندتری برای بررسی تنوع ژنتیکی و همچنین شناسایی والدین تلاقی است (Dodig et al. 2010; Verma et al. 2019).



شکل ۴. a- خوشه‌بندی سلسله مراتبی و b- بای پلات تجزیه PCoA بر اساس ۱۷۰۸۷ نشانگر SNP با

گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای، c- زیرجمعیت‌های تجزیه ساختار جمعیت و d- منشأ ۶۷ ژنوتیپ گندم نان

Figure 4. a-Hierarchical clustering and b- Biplot of the PCoA analysis based on 17,087 SNP markers with cluster group, c- sub-populations of struture analysis and d- orgion of 67 bread wheat genotypes

نتیجه‌گیری: این پژوهش به منظور بررسی ساختار جمعیت و همچنین بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از داده‌های فنوتیپی و نشانگر SNP در ۶۷ ژنوتیپ گندم نان در شرایط نرمال و تنش سرمای دیررس بهاره انجام شد. محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی برای نشانگر SNP، نشان داد که این نشانگر در تفکیک ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه بسیار کارآمد است. نتایج حاصل از تجزیه ساختار جمعیت، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به پنج زیرجمعیت تقسیم‌بندی کرد. زیر جمعیت‌های شماره دو و سه بیشترین فاصله

ژنتیکی را با هم داشتند. در نتیجه می‌توان با انتخاب والدین تلاقی از بین این دو زیرجمعیت هتروزیس مناسبی جهت اصلاح ارقام مقاوم به تنش سرمای دیررس بهاره بدست آورد. ارزیابی تنوع فنوتیپی و ژنتیکی نشان داد که بین ژنوتیپ‌های گندم تنوع ژنتیکی بالایی وجود دارد. ژنوتیپ‌های ۱۲۸ (NI9814) و ۱۳۳ (Ai-bian) به‌عنوان واگراترین و متنوع‌ترین ژنوتیپ‌ها با توجه به داده‌های نشانگری شناخته شدند. بنابراین، این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان کاندیدای مناسبی برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی جهت بهبود مقاومت به تنش سرمای دیررس بهار معرفی می‌شوند. انتظار می‌رود که تلاقی بین این ژنوتیپ‌های ۲۵۷ (Santa)، ۳۰۸ (SW MAXI)، ۳۱۵ (DISCUS) به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس و ژنوتیپ‌های ۱۹۰ (Peking)، ۳۲۱ (Smuglyanka)، ۱۲۸ (NI9814)، ۳۲ (Kobra plus)، ۹۲ (DH01-32-13)، ۲۶۲ (Rannyaya 12)، ۲۴۷ (Guberniya)، ۱۳۸ (BCD 1302/83)، ۱۸۲ (NS 46/90) و ۳۳۵ (Goldfield) به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم و پرمک‌کرد در شرایط تنش سرما، حداکثر هتروزیس ایجاد شود. بنابراین می‌توان از این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان والدین تلاقی در برنامه‌های اصلاحی گندم در جهت بهبود تنش سرما استفاده کرد.

سپاسگزاری: از پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر حمایت مالی، معنوی و همکاری

در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹). مطالعه تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی رایبی با استفاده از نشانگرهای ISSR. مجله ژنتیک نوین ۵، ۴۹-۵۶.
- محمدی فر آمنه، فقیه ایمانی سید علی، محمدآبادی محمد رضا، سفلی محمد (۱۳۹۲). تأثیر ژن $TGF\beta 3$ بر ارزش های فنوتیپی و اثری صفات وزن بدن در مرغ بومی استان فارس. مجله بیو تکنولوژی کشاورزی ۵(۴)، ۱۳۶-۱۲۵.
- محمدی فر آمنه، محمدآبادی محمد رضا کاربرد نشانگرهای ریزماهوره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی (۱۳۹۰). مجله علوم دامی ایران ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.
- اسدی ابودر، عسگری کلستانی علیرضا، میرفخرایی سید رضاقلی و همکاران (۱۳۹۷). ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های گندم نان از نظر برخی صفات مهم فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۱(۱)، ۱۷۱-۱۸۳.
- شبان نژاد مرتضی، بی همتا محمدرضا، مجیدی هروان اسلام، علی پور هادی، ابراهیمی آسا (۱۴۰۱). ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی توده‌های بومی گندم نان (*Triticum aestivum L.*) ایران با استفاده از تجزیه‌های آماری چند متغیره. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۵(۱)، ۱-۱۷.
- گلی علی، صبوری حسین، جرجانی عیسی، فلاحی حسینعلی (۱۳۹۵). بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف گندم بهاره پاییزه شمال ایران با استفاده از نشانگر ISSR. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۸(۲۰)، ۱۶۵-۱۷۴.

نظری مریم، عبدالشاهی روح‌الله (۱۳۹۳). ژنتیکی ارقام گندم نان (*Triticum aestivum* L.) از طریق صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای مولکولی SSR مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۶(۱)، ۲۱۵-۲۳۱.

References

- Akhunov ED, Akhunova AR, Anderson OD et al. (2010) Nucleotide diversity maps reveal variation in diversity among wheat genomes and chromosomes. BMC genom 11, 1-22.
- Alipour H, Bihamta MR, Mohammadi V et al. (2017) Genotyping-by-sequencing (GBS) revealed molecular genetic diversity of Iranian wheat landraces and cultivars. Front Plant Sci 8, 1293.
- Allen AM, Barker GL, Berry ST et al. (2011) Transcript-specific, single-nucleotide polymorphism discovery and linkage analysis in hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant biotechnol J 9, 1086-1099.
- Asadi A, Askary Kelestani AR, Mirfakhraei R et al. (2018) Genetic variation of bread wheat geneotypes for some important physiological traits under chilling stress. ESCS 11, 171-183 (In Persian).
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi M (2008) Analysis of the genetic structure of Iranian indigenous Raeni cashmere goat populations using microsatellite markers. Biotechnol 2, 1-4.
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi M (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini cashmere goat using ISSR markers. Modern Genet J 5, 49-56 (In Persian).
- Bailey-Serres J, Parker JE, Ainsworth EA et al. (2019) Genetic strategies for improving crop yields. Nature 575, 109-118.
- Baranwal D, Mishra V, Singh T (2013) Genetic diversity based on cluster and principal component analyses for yield and its contributing characters in wheat (*Triticum aestivum* L.). Madras Agric J 100, 320-323.
- Belete Y, Shimelis H, Laing M et al. (2021) Genetic diversity and population structure of bread wheat genotypes determined via phenotypic and SSR marker analyses under drought-stress conditions. J Crop Improv. 35, 303-325.
- Breseghele F, Sorrells ME (2006) Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Genetics 172, 1165-1177.
- Buckler IV ES, Thornsberry JM (2002) Plant molecular diversity and applications to genomics. Current opinion in plant biology 5, 107-111.
- Cavanagh CR, Chao S, Wang S et al. (2013) Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. PNAS 110, 8057-8062.

- Chao S, Zhang W, Akhunov E et al. (2009) Analysis of gene-derived SNP marker polymorphism in US wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Mol Breed* 23, 23-33.
- Charrad M, Ghazzali N, Boiteau V et al. (2012) NbClust Package. An examination of indices for determining the number of clusters.
- Chen H, Xie W, He H et al. (2014) A high-density SNP genotyping array for rice biology and molecular breeding. *Mol Plant* 7, 541-553.
- Cheong BE, Ho WWH, Biddulph B et al. (2019) Phenotyping reproductive stage chilling and frost tolerance in wheat using targeted metabolome and lipidome profiling. *Metabolomics* 15, 1-19.
- Cheong BE, Onyemaobi O, Wing Ho Ho W et al. (2020) Phenotyping the chilling and freezing responses of young microspore stage wheat spikes using targeted metabolome and lipidome profiling. *Cells* 9, 1309.
- Dhillon N, Singh J, Fergany M et al. (2009) Phenotypic and molecular diversity among landraces of snapmelon (*Cucumis melo* var. *momordica*) adapted to the hot and humid tropics of eastern India. *Plant Genet Resour* 7, 291-300.
- Dodig D, Zorić M, Kobiljski B et al. (2010) Assessing drought tolerance and regional patterns of genetic diversity among spring and winter bread wheat using simple sequence repeats and phenotypic data. *Crop Pasture Sci* 61, 812-824.
- Domiciano DS, Machado LG, Figueiredo CP et al. (2021) Incidence and risk factors for osteoporotic non-vertebral fracture in low-income community-dwelling elderly: a population-based prospective cohort study in Brazil. The São Paulo Ageing and Health (SPAH) study. *Osteoporosis International* 32, 747-757.
- El-Rawy MA, Hassan MI (2021) Assessment of Genetic Diversity in Durum and Bread Wheat Genotypes Based on Drought Tolerance and SSR Markers. *Plant Breed Biotech* 9, 89-103.
- Elbasyoni IS, Lorenz A, Guttieri M et al. (2018) A comparison between genotyping-by-sequencing and array-based scoring of SNPs for genomic prediction accuracy in winter wheat. *Plant Sci* 270, 123-130.
- Eltaher S, Sallam A, Belamkar V et al. (2018) Genetic diversity and population structure of F3: 6 Nebraska winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Front genet* 9, 76.
- Esmaeili H, Karami A, Hadian J et al. (2020) Genetic structure and variation in Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) populations based on morphological, phytochemical and simple sequence repeats markers. *Ind Crops Prod* 145, 112140.
- Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007) Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* 7, 574-578.
- Farahani S, Maleki M, Mehrabi R et al. (2019) Whole genome diversity, population structure, and linkage disequilibrium analysis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes using genome-wide DArTseq-based SNP markers. *Genes* 10, 676.

- Frederiks T, Christopher J, Sutherland M et al. (2015) Post-head-emergence frost in wheat and barley: defining the problem, assessing the damage, and identifying resistance. *J Exp Bot* 66, 3487-3498.
- Fuller MP, Fuller AM, Kaniouras S et al. (2007) The freezing characteristics of wheat at ear emergence. *Eur J Agron* 26, 435-441.
- Ghasemi M, Baghizadeh A, Abadi M (2010) Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. *Aust j basic appl sci* 4, 5758-5760.
- Gholamhoseinzadeh Gooki F, Mohammadabadi M, Asadi Fozzi M (2018) Polymorphism of the growth hormone gene and its effect on production and reproduction traits in goat. *Iranian J Appl Anim Res* 8, 653-659.
- Goli A, Jorjani I, Sabouri H et al. (2016) Assessment of genetic diversity of facultative wheat genotypes belong to north of Iran using ISSR markers. *J Crop Breed* 8, 165-174 (In Persian).
- Gooki FG, Mohammadabadi M, Fozima et al. (2019) Association of biometric traits with growth hormone gene diversity in Raini Cashmere goats. *Walailak J Sci Technol* 16(7), 499-508.
- Gostimsky S, Kokaeva Z, Kononov F (2005) Studying plant genome variation using molecular markers. *Russian J of Genet* 41, 378-388.
- Granato IS, Galli G, de Oliveira Couto EG et al. (2018) snpReady: a tool to assist breeders in genomic analysis. *Mol Breed* 38, 1-7.
- Khan MK, Pandey A, Thomas G et al. (2015) Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey. *AoB Plants* 7.
- Khodadadi M, Fotokian MH, Miransari M (2011) Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes based on cluster and principal component analyses for breeding strategies. *Aust J Crop Sci* 5, 17-24.
- Kumar D, Chhokar V, Sheoran S et al. (2020) Characterization of genetic diversity and population structure in wheat using array based SNP markers. *Mol Biol Rep* 47, 293-306.
- Li X, Cai J, Liu F et al. (2015) Wheat plants exposed to winter warming are more susceptible to low temperature stress in the spring. *J Plant Growth Regul* 77, 11-19.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27, 209-220.
- Mdluli SY, Shimelis H, Amelework AB (2020) Genetic diversity and population structure of elite drought tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Aust J Crop Sci* 14, 1362-1371.
- Mohammadabadi M, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using inter simple sequence repeat multi-loci markers for studying genetic diversity in Kermani sheep. *J res Dev* 5, e154.

- Mohammadifar A, Mohammadabadi M (2012) Application of microsatellite markers for a study of Kermani sheep genome. Iran J Anim Sci 42, 337-344.(In Persian)
- Mohammadifar A, Mohammadabadi M (2018) Melanocortin-3 receptor (mc3r) gene association with growth and egg production traits in Fars indigenous chicken. Malays Appl Biol 47, 85-90.
- Nazari M, Abdolshahi R (2014) Evaluation of genetic diversity in bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using morpho-physiological traits and SSR markers. J Agric Biotechnol 6, 215-231 (In Persian).
- Nazarzadeh Z, Onsori H, Akrami S (2020) Genetic diversity of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using RAPD and ISSR molecular markers. J of Genetic Res 6, 69-76.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89, 583-590.
- Nielsen NH, Backes G, Stougaard J et al. (2014) Genetic diversity and population structure analysis of European hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. PLoS One 9, e94000.
- Nkhoma N, Shimelis H, Laing MD et al. (2020) Assessing the genetic diversity of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm collections using phenotypic traits and SNP markers. BMC genetics 21, 1-16.
- Parker G, Fox P, Langridge P et al. (2002) Genetic diversity within Australian wheat breeding programs based on molecular and pedigree data. Euphytica 124, 293-306.
- Peterson GW, Dong Y, Horbach C et al. (2014) Genotyping-by-sequencing for plant genetic diversity analysis: a lab guide for SNP genotyping. Diversity 6, 665-680.
- Poudel A, Thapa DB, Sapkota M (2017) Assessment of genetic diversity of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes through cluster and principal component analysis. Int J Exp 11, 1-9.
- Rohallah A, Mohammadreza MA, Shahin MB (2007) Kappa-casein gene study in Iranian Sistani cattle breed (*Bos indicus*) using PCR-RFLP. Pak J Bio. Sci 10, 4291-4294.
- Saremi Rad B, Shokrpour M, Sofalian O et al. (2016) Evaluation of genetic diversity of wheat genotypes by AFLP markers. J of Crop Breed 7, 89-96.
- Shabannejad M, Bihamta M-R, Majidi-Hervan E et al. (2022) Assessment of genetic diversity of some Iran bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces using multivariate statistical analysis. ESCS 15, 1-17 (In Persian).
- Shakiba E, Edwards JD, Jodari F et al. (2017) Genetic architecture of cold tolerance in rice (*Oryza sativa*) determined through high resolution genome-wide analysis. PloS one 12, e0172133.
- Shamuyarira KW, Shimelis H, Mathew I et al. (2022) Comparative genetic diversity analysis for biomass allocation and drought tolerance in wheat. Agronomy 12, 1457.

- Shete S, Tiwari H, Elston RC (2000) On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value. *Theor Popul Biol* 57, 265-271.
- Sönmezoglu ÖA, Çevik E, Aksoy Terzi B (2022) Assessment of some bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought tolerance using SSR and ISSR markers.
- Spanic V, Korzun V, Ebmeyer E (2016) Assessing genetic diversity of wheat genotypes from different origins by SNP markers. *Cereal Res Commun* 44, 361-369.
- Tehseen MM, Istipliler D, Kehel Z et al. (2021) Genetic diversity and population structure analysis of *Triticum aestivum* L. landrace panel from Afghanistan. *Genes* 12, 340.
- Thakur P, Kumar S, Malik JA et al. (2010) Cold stress effects on reproductive development in grain crops: an overview. *Environmental and Experimental Botany* 67, 429-443.
- Thomson MJ (2014) High-throughput SNP genotyping to accelerate crop improvement. *Plant Breed Biotech* 2, 195-212.
- Valluru R, Link J, Claupein W (2012) Consequences of early chilling stress in two *Triticum* species: plastic responses and adaptive significance. *Plant Biology* 14, 641-651.
- Verma H, Borah J, Sarma R (2019) Variability assessment for root and drought tolerance traits and genetic diversity analysis of rice germplasm using SSR markers. *Sci Rep* 9, 1-19.
- Verma S, Gupta S, Bandhiwal N et al. (2015) High-density linkage map construction and mapping of seed trait QTLs in chickpea (*Cicer arietinum* L.) using Genotyping-by-Sequencing (GBS). *Sci Rep* 5, 1-14.
- Visioni A, Tondelli A, Francia E et al. (2013) Genome-wide association mapping of frost tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC genomics* 14, 1-13.
- Voss-Fels K, Frisch M, Qian L et al. (2015) Subgenomic diversity patterns caused by directional selection in bread wheat gene pools. *The Plant Genome* 8, plantgenome2015.2003.0013.
- Weir BS, Goudet J (2017) A unified characterization of population structure and relatedness. *Genetics* 206, 2085-2103.
- You Q, Yang X, Peng Z et al. (2018) Development and applications of a high throughput genotyping tool for polyploid crops: single nucleotide polymorphism (SNP) array. *Front Plant Sci* 9, 104.
- Yue Y, Zhou Y, Wang Ja et al. (2016) Assessing wheat frost risk with the support of GIS: An approach coupling a growing season meteorological index and a hybrid fuzzy neural network model. *Sustainability* 8, 1308.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res* 14, 415-421.