

نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

DOI: [10.22055/ppd.2025.47977.2208](https://doi.org/10.22055/ppd.2025.47977.2208)

Association mapping and gene ontology related to germination traits under normal conditions and salt stress in some bread wheat cultivars

Ronak Talebi Qormik¹, Hadi Alipour^{2*}, Reza Darvishzadeh³

1- Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

2- *Corresponding Author: Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. (Email: ha.alipour@urmia.ac.ir)

3- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

Abstract

Introduction: Association mapping is used for many plants, including crop plants, with the aim of identifying the locus of quantitative traits. Abiotic stress including salinity stress is one of the main challenges facing agriculture, which can affect the final yield of the product, especially in the critical stages of growth, including the germination stage. Stress can affect the growth rate in different stages of growth and in more severe cases it can destroy the plant. Therefore, introducing and creating stress-tolerant plants, especially salinity stress, along with the use of other methods, can be somewhat helpful in dealing with the reduction of agricultural products.

Materials and Methods: In the current research, 64 varieties of bread wheat have been investigated in three different conditions including normal, 60 mM salt stress and 120 mM salt stress, with two repetitions in the form of a simple lattice design in the crop year 2021, in the Genetics laboratory of the Faculty of Agriculture of Urmia University and sodium chloride(NaCl) was used to create salinity. In this study, the traits of seedling length, shoot length, root length, ratio of shoot length to root length, seedling fresh weight, seedling dry weight, germination percentage, germination index, germination speed, average germination speed, average germination time, germination energy, seed vigor, relative germination index, relative germination speed and relative germination energy were studied. Also, 36361 SNP markers were used to identify gene locations controlling germination traits. TASSEL 5.0 software was used to association mapping of studied traits. For this purpose, the mixed linear model (MLM) method using PCA and Kinship matrices was used. Manhattan plots and LD plots were drawn using R studio 4.1.1 software.

Results and Discussion: In the present study, 330, 153, and 116 MTAs were identified for normal conditions, 60 mM salinity stress conditions, and 120 mM salinity stress conditions, respectively. Meanwhile, in normal conditions, 43 important markers in chromosomes 1B and 7B were related to germination indices. In the condition of 60 mM salinity stress, the number of 32 important markers in chromosomes 1B, 2B, 6A, 5A and 6B and in the condition of 120 mM salinity stress, the number of 14 important markers in chromosomes 1B, 3A and 3B were related to the control of plant traits. The sequence of all the significant markers in Ensembl plant database was checked. Examination of the sequences showed that MTAs are involved in important biological and molecular processes such as signal transduction, signaling pathways of kinase presentation, defense response, response to biological stimuli, hydrolase metabolism, polysaccharide binding, etc. In the condition of 60 mM salinity stress, an important pathway including the metabolism of proline, arginine, beta-alanine, and in the condition of 120 mM salinity stress, the ABC transporter pathway was identified.

Conclusion: The MTAs and known pathways based on the results of this study are very important, and after confirming the results in biparental populations and performing additional tests, these findings can be used in marker-assisted breeding and selection programs for wheat plants.

Keywords: Association mapping, Germination stage, Single nucleotide polymorphisms, Wheat

نقشه‌یابی ارتباطی و هستی‌شناسی ژن‌های مرتبط با صفات جوانه‌زنی تحت شرایط نرمال و تنش شوری در برخی ارقام زراعی گندم نان

روناک طالبی قورمیک^۱، هادی علی‌پور^{۲*}، رضا درویش‌زاده^۳

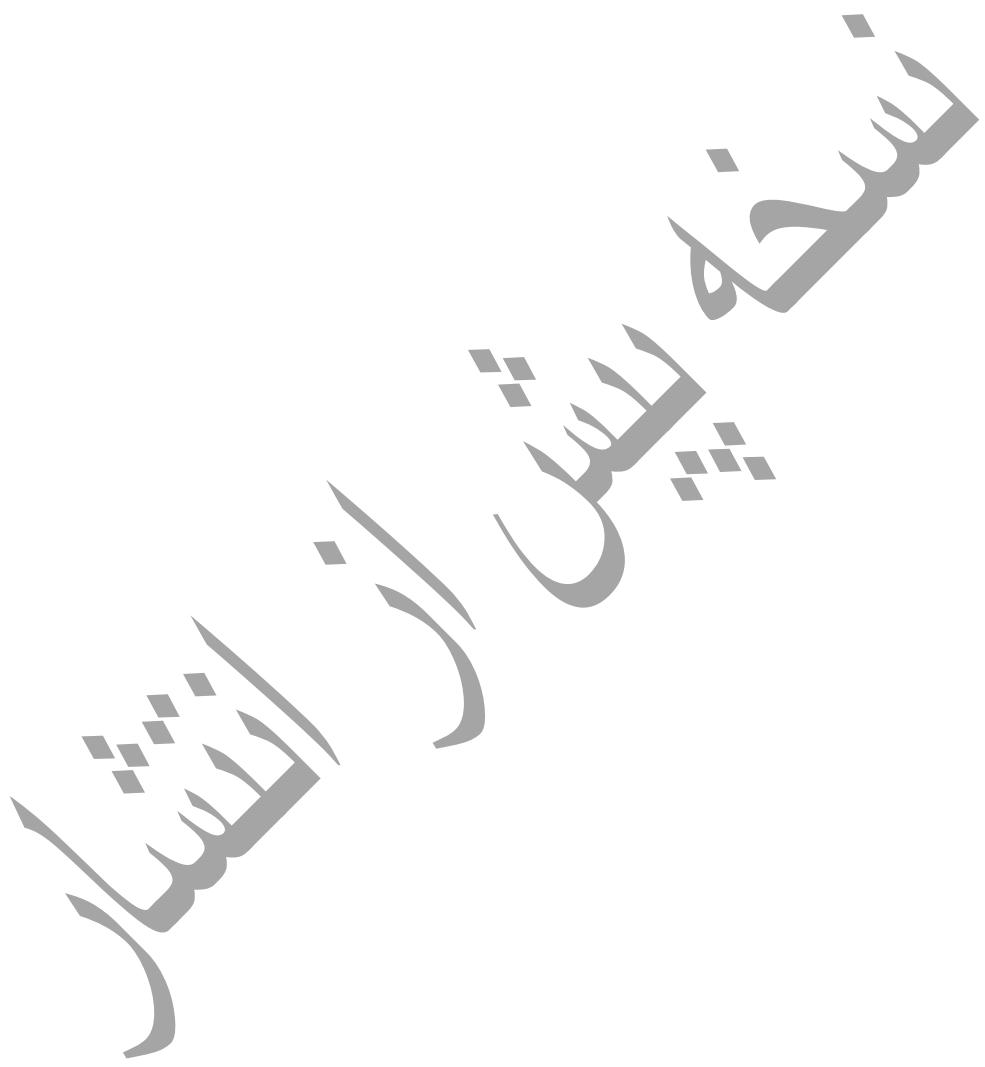
- ۱- دانشجوی دکتری، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۲- نویسنده مسئول: دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
(ایمیل: ha.alipour@urmia.ac.ir)
۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

چکیده

نقشه‌یابی ارتباطی در بسیاری از گیاهان از جمله گیاهان زراعی با هدف شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تنش‌های غیرزیستی از جمله تنش شوری یکی از چالش‌های اصلی پیش‌روی فعالیت‌های کشاورزی بوده که بخصوص در مراحل حساس رشد از جمله مرحله جوانه‌زنی می‌تواند عملکرد نهایی محصول را تحت تاثیر قرار دهد. در پژوهش حاضر واکنش ۶۴ رقم گندم نان از لحاظ صفات طول گیاهچه، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، نسبت طول ساقه‌چه به طول ریشه‌چه، وزن تر گیاهچه، وزن خشک گیاهچه، درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، انرژی جوانه‌زنی، بنیه بدنه، شاخص جوانه‌زنی نسبی، سرعت جوانه‌زنی نسبی و انرژی جوانه‌زنی نسبی در سه شرایط نرمال، تنش شوری ۶۰ میلی‌مولا و تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مولا، با دو تکرار در قالب طرح لاتیس ساده در سال زراعی ۱۴۰۰، در آزمایشگاه ژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه بررسی شد. به منظور شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مرتبط با جوانه‌زنی، از ۳۶۳۶۱ نشانگر SNP استفاده شد. نقشه‌یابی ارتباطی صفات مورد مطالعه با نرم‌افزار TASSEL 5.0 انجام گرفت. در پژوهش حاضر تعداد ۳۳۰، ۱۵۳ و ۱۱۶ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار به ترتیب در شرایط نرمال، تنش شوری ۶۰ میلی‌مولا و تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مولا شناسایی شد. در شرایط نشانگر-صفت معنی‌دار در مقابله با شاخص‌های جوانه‌زنی در کروموزم‌های 1B و 7B شناسایی شد. در شرایط تنش شوری ۶۰ میلی‌مولا و ۱۲۰ میلی‌مولا به ترتیب تعداد ۳۲ و ۱۴ نشانگر مهم مرتبط با کنترل صفات گیاهچه در کروموزم‌های 1B، 2B، 5A، 6A و 6B و کروموزم‌های 1A، 3A و 3B شناسایی شد. تطابق توالی مربوط به همه نشانگرهای معنی‌دار در مقابل ژنوم رفرنس گندم در پایگاه داده Ensembl Plants مورد بررسی قرار گرفت. بررسی توالی‌ها نشان داد که ارتباط‌های نشانگر-صفت شناسایی شده در فرآیندهای بیولوژیکی و مولکولی مهمی از جمله انتقال سیگنال، مسیرهای سینگالینگ پروتئین کیناز، پاسخ دفاعی، پاسخ به محرک‌های زیستی، متابولیسم هیدرولاز، اتصال پلی

ساکارید نقش دارند. در شرایط تنش شوری ۶۰ میلی مولار مسیرهای مهمی از جمله متابولیسم پرولین، آرژنین، بتا آلانین و در شرایط تنش شوری ۱۲۰ میلی مولار مسیر انتقال دهنده ABC شناسایی شدند. ارتباطات نشانگر-صفت و مسیرهای شناخته شده براساس نتایج این مطالعه بسیار حائز اهمیت بوده و می‌توان پس از تایید نتایج در جمیعت‌های دو والدی و انجام آزمایشات تکمیلی، در برنامه‌های به نژادی و گرینش به کمک نشانگر گیاه گندم این نتایج را مورد استفاده قرار داد.

کلید واژه‌ها: گندم، مرحله جوانه‌زنی، نقشه‌یابی ارتباطی، چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی



مختلف، نوع بافت و اندام گیاهی تغییر می‌کند (Hussain and Rehman, 1997). با توجه به اینکه هدف نهایی به نژادگران، عملکرد دانه می‌باشد، توجه کمتری به درک ساختار ژنتیکی تحمل به تنش در مراحل ابتدایی رشد شده و این امر منجر به داشتن اطلاعاتی محدود و درک ضعیفتر در این مراحل نسبت به مراحل پایانی رشد شده است (Hasseb *et al.*, 2022). مرحله جوانهزنی از حساس‌ترین مراحل رشدی گیاه نسبت به تنش‌های مختلف از جمله تنش شوری می‌باشد (Dowlat Abadi *et al.*, 2019). مشخص شده درصد و سرعت جوانهزنی بذر، با افزایش غلظت شوری کاهش می‌یابد. مطالعات بر روی گیاهان زراعی مختلف مشخص نموده که صفاتی مانند طول ساقچه و ریشه‌چه، وزن خشک این اندام‌ها و همچنین نسبت ساقه به ریشه، با افزایش میزان شوری به طور معناداری کاهش می‌یابد. همچنین ساقه نسبت به ریشه حساسیت بیشتری به شوری دارد (Namvar *et al.*, 2018). از طرف دیگر سمیت یونی ناشی از تنش شوری جوانهزنی بذر را به تاخیر انداخته یا از آن جلوگیری می‌نماید و در نهایت منجر به محدود شدن رشد گیاه می‌شود (Hasseb *et al.*, 2022). با توجه به سرعت افزایش جمعیت و نیاز به تولید غذای بیشتر، نیاز به افزایش تحمل به شوری احساس می‌شود (Munns and Gilham, 2015).

به دلیل طاقت‌فرسا بودن گزینش ژنتیک‌های متحمل به شوری از طریق صفات مورفو‌لوژیک، استفاده از روش‌های مولکولی مانند گزینش به کمک نشانگر (MAS)¹ می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب در نظر گرفته شود (Hasseb *et al.*, 2022). مکان‌های ژئی صفات مهم اقتصادی در بسیاری از گیاهان زراعی گزارش شده‌اند. چندین QTL² مرتبط با تحمل به

گندم نان اصلی ترین منبع تامین غذای انسان بوده که در سطح وسیع مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (Alotaibi *et al.*, 2021) (Triticum aestivum L. می‌باشد (Rahmani *et al.*, 2021)). این غله مهم عملکردی معادل ۷۰۰ میلیون تن در جهان داشته اما تحت تاثیر عوامل محیطی مختلف، میزان عملکرد آن کاهش قابل توجهی نشان می‌دهد (Singh *et al.*, 2020).

شوری را می‌توان یکی از اصلی‌ترین چالش‌های حوزه کشاورزی بشمار آورد که با توجه به تغییرات اقلیمی خسارات آن در حال افزایش است (Makarian *et al.*, 2021). افزایش تجمع نمک در خاک، بر جذب آب توسط ریشه‌ها تأثیر منفی گذاشته و اثر نامطلوبی بر روی باز و بسته شدن روزنه‌ها دارد (Habibi *et al.*, 2014). گیاهان در مراحل ابتدایی رشد حساسیت بیشتری نسبت به شوری نشان می‌دهند که این امر به علت تاثیر منفی تنش شوری بر روی زیست‌توده گیاه بیان شده که در ادامه عملکرد نهایی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Chaurasia *et al.*, 2020). شوری اثر منفی بر روی میزان رشد و توسعه برگ‌ها داشته و منجر به کاهش فتوسنتز و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (Rahnama *et al.*, 2014). آسیب‌پذیری برگ‌ها در مقابل تنش شوری، نسبت به ریشه‌ها بیشتر است (Razaghi *et al.*, 2022). همچنین افزایش میزان شوری در ادامه مراحل رشد تأثیر منفی بر پنجه‌زنی نیز داشته و در نهایت عملکرد محصول را کاهش می‌دهد (Liu *et al.*, 2018). تنش شوری می‌تواند منجر به کاهش ۴۰ درصدی عملکرد گندم شود (Singh *et al.*, 2020). اثرات منفی تنش شوری محدود به یک مرحله رشدی در گیاه نبوده و تحت تاثیر عواملی چون شدت تنش، نوع تنش، میزان مقاومت گیاه، مراحل رشدی

¹ Marker-Assisted Selection

² Quantitative Trait Loci

اجرای آزمایش، ابتدا تعداد ۲۵ بذر از هر ژنوتیپ، با استفاده از هیپوکلرید سدیم ضدغونوئی و سپس بذور هر ژنوتیپ در داخل پتربی دیش روی کاغذ صافی قرار داده شدند. برای سطح نرمال از آب مقطر استفاده شد. محلول شوری با حل کردن مقدار مشخصی سدیم کلرید و اندازه گیری با استفاده از دستگاه EC متر برای هر دو سطح تنش شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار تهیه گردید. سپس به مقدار ۸ میلی لیتر به هر یک از پتربی دیش‌ها اضافه گردید. در ادامه پتربی دیش‌ها به داخل ژرمیناتور با درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس با تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. شمارش بذور جوانه زده به مدت یک هفته، به صورت روزانه در ساعت مشخصی انجام گرفت. در پایان آزمایش صفات طول گیاهچه (PL, cm)، طول ساقه چه (SL, cm)، طول ریشه چه (RL, cm)، نسبت طول ساقه چه به طول ریشه چه (SL/RL) وزن تر گیاهچه (WW, gr)، وزن خشک گیاهچه (DW, gr)، درصد جوانه زنی (G%), شاخص جوانه زنی (GI)، سرعت جوانه زنی (GR)، انرژی جوانه زنی (GE)، بنیه بذر (SV)، شاخص جوانه زنی نسبی (RGI)، سرعت جوانه زنی نسبی (RGR) و انرژی جوانه زنی نسبی (RGE)، اندازه گیری شدند. به منظور اندازه گیری وزن خشک، نمونه‌ها ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند.

ارزیابی ژنوتیپی: برای ارزیابی‌های ژنوتیپی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از داده‌های مطالعه Alipour و همکاران (2017) در دانشگاه ایالتی کانزاس آمریکا استفاده شد. با توجه به متفاوت بودن تعداد نمونه‌های مورد مطالعه با مطالعه اولیه، دوباره برای ژنوتیپ‌های UNEAK مورد بررسی، فراخوانی SNPها با استفاده از Universal Network Enabled Analysis Kit (UNEAk) (Lu *et al.*, 2013) GBS pipeline (Bradbury *et al.*, 2007) TASSEL 4.0 است، انجام شد. بسته بیوانفورماتیکی SNPهایی با

شوری در گیاهان مختلف از جمله برنج، جو و گندم شناسایی شده است (Ma *et al.*, 2006; Xue *et al.*, 2009; Rajendran *et al.*, 2009). گیاه گندم از جمله گیاهانی است که هم در مرحله رشد رویشی و هم زایشی مورد مطالعه قرار گرفته است (Chaurasia *et al.*, 2021; Alotaibi *et al.*, 2021) (Hasseb *et al.*, 2006) به ترتیب ۴۷ و ۳۷ QTL برای تحمل به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و مرحله گیاهچه در گندم شناسایی کردند. Hasseb و همکاران (2022) با مطالعه بر روی ۱۷۶ ژنوتیپ گندم بهاره در مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه، با استفاده از ۶۸۸۳ نشانگر³ SNP، تعداد ۱۳۷ نشانگر معنی دار در شرایط نرمال و ۲۳ نشانگر معنی دار تحت شرایط تنش شوری ۱۷۵ میلی مولار شناسایی کردند. در مطالعه دیگری بر روی ۳۲۳ نمونه گندم زمستانه توده‌های بومی شمال، لاین‌های پیشرفته و گونه‌های مدرن و ۱۵۰ لاین دابل هاپلوئید گندم در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای، تحت دو شرایط نرمال و تنش شوری، ۲۶۹ مکان برای صفات مرتبط با پاسخ به تنش شوری یا شاخص‌های تحمل به تنش شناسایی شد که شامل SNP ۷۶ معنی دار در شرایط نرمال و SNP ۸۸ معنی دار در شرایط تنش شوری بود (Li *et al.*, 2020). در این مطالعه به منظور شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده و تعیین هستی شناسی ژن‌های مرتبط با صفات گیاهچه‌ای و شاخص‌های جوانه‌زنی ارقام گندم نان، از ۳۶۳۶۱ نشانگر SNP استفاده شد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی فنوتیپی: تعداد ۶۴ رقم گندم نان تحت سه شرایط نرمال، تنش شوری ۶۰ میلی مولار و ۱۲۰ میلی مولار در قالب طرح لاتیس ساده در سال ۱۴۰۰، در آزمایشگاه ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه ارزیابی شدند. شجره ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این مطالعه در جدول تکمیلی ۱ ارائه شده است. به منظور

³ Single-Nucleotide Polymorphism

هتروزیگوستی بیشتر از ۱۰ درصد، داده گمشده بیشتر از ۲۰ درصد و فروانی آللی جزئی کمتر از ۵ درصد برای کاهش نتایج خطای مثبت حذف شدند. در این مطالعه عدم تعادل پیوستگی^۴ مربوط به هر جفت نشانگر و آماره r^2 ^۵ برای هر کروموزوم به طور جداگانه و برای کل ژنوم با استفاده از نرم افزار TASSEL 5.0 محاسبه گردید. برای تعیین عدم تعادل پیوستگی صرفاً از نشانگرهایی استفاده شد که مکان کروموزومی مشخص داشتند. در نهایت برای نقشه یابی ارتباطی^۶ صفات مورد بررسی در مرحله جوانه زنی تحت شرایط نرمال، شوری ۶۰ میلی مولار و شوری ۱۲۰ میلی مولار از نرم افزار TASSEL 5.0 استفاده شد. به این منظور از روش مدل خطی مخلوط (MLM) با استفاده از ماتریس های PCA و Kinship استفاده شد. حد آستانه معنی داری برای تعیین ارتباط نشانگر با صفت براساس $\log p\text{-value} \geq 3$ - در نظر گرفته شد.

هستی شناسی: توالی های نواحی اطراف همه SNP های معنی دار مرتبط با صفات مورد بررسی از پایگاه داده Ensembl Plants براساس نسخه ۱/۱ ژنوم گندم (IWGSC RefSeq v1.1) به دست آمد. هستی شناسی هر ژن انتخاب شده از سه دیدگاه عملکرد مولکولی، فرآیند بیولوژیکی و اجزای سلولی از پایگاه داده Ensembl Plants استخراج شد [\(.https://plantsensembl.org\)](https://plantsensembl.org)

⁴ Linkage Disequilibrium
⁵ Association Mapping

نتایج و بحث

ژنوم B ۴۳ نشانگر در ژنوم D و تعداد ۶ نشانگر بدون موقعیت بود. همچنین کروموزم 7A بیشترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار را داشت (شکل ۱B). نقشه‌یابی ارتباطی برای هر سه شرایط بصورت جدا از هم انجام شد.

در این مطالعه ۳۶۳۶۱ نشانگر SNP مورد استفاده قرار گرفت. ژنوم B با ۱۸۸۴۳ نشانگر بیشترین و ژنوم D با ۳۹۷۸ نشانگر کمترین تعداد نشانگر را داشتند (شکل ۱A). همچنین تعداد ۲۱۵ نشانگر استفاده شده تکمیلی ۱). همچنین تعداد ۲۱۵ نشانگر استفاده شده مکان مشخصی نداشتند (شکل ۱A). از تعداد ۵۹۹ نشانگر معنی‌دار، ۲۴۵ نشانگر در ژنوم A، ۳۰۵ نشانگر در

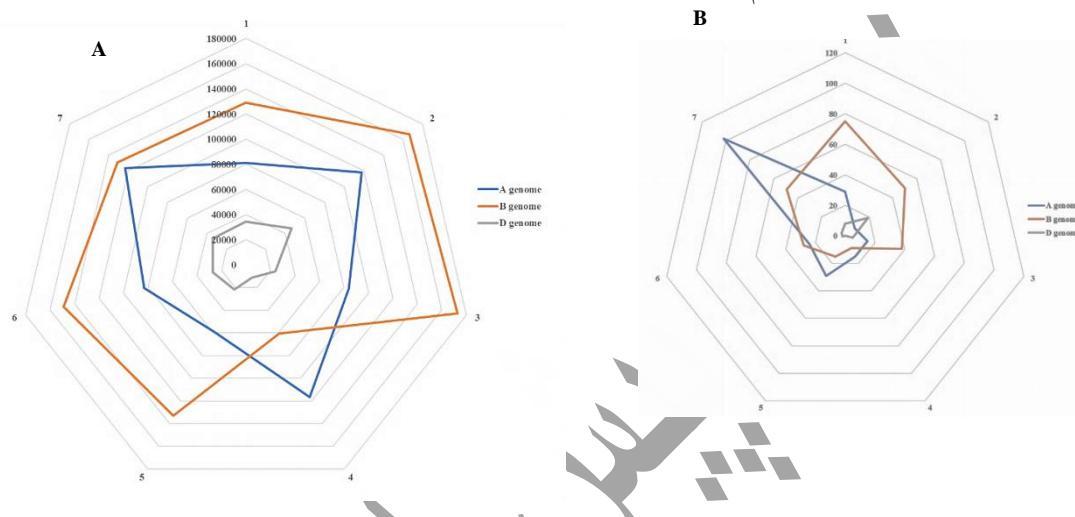


Figure 1. (A) Diagram of SNP markers used in this study at the level of chromosomes, (B) Diagram of number of MTAs per chromosome in each genome

کروموزم‌های ۱A، ۱B، ۵A و ۷A دیده شد. برای درصد جوانهزنی ۳۸ مکان بر روی کروموزم‌های ۱A، ۶A، ۵A، ۴B، ۴A، ۳B، ۳A، ۲D، ۲B، ۲A، ۱B و ۷B و برای صفت انرژی جوانهزنی ۳۶ مکان بر روی کروموزم‌های ۱A، ۱B، ۳D، ۳B، ۳A، ۲D، ۲B، ۷A، ۶A، ۵A و ۷B شناسایی شد. همچنین در ارتباط با شاخص جوانهزنی ۳۷ ارتباط معنی‌دار بر روی کروموزوم‌های ۱A، ۱B، ۳D، ۳B، ۳A، ۲D، ۲B، ۱B، ۵A، ۴A، ۷A و ۷B و در رابطه با سرعت جوانهزنی، ۲۰ ارتباط نشانگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۱A، ۲B، ۳A، ۲D، ۲B، ۱B، ۵A، ۳D، ۳A و ۷B شناسایی شد.

نقشه‌یابی ارتباطی برای شرایط نرمال: تعداد ۳۳۰ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار با استفاده از روش MLM شناسایی شد؛ تعداد ۱۵۳ ارتباط نشانگر-صفت مربوط به ژنوم A، ۱۵۶ ارتباط مربوط به ژنوم B و ۲۱ ارتباط مربوط به ژنوم D بود. دو صفت نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه و وزن تر گیاهچه به ترتیب با ۹۵ و ۹۴ ارتباط، بیشترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت و صفات طول گیاهچه و بنیه بذر هر کدام با ۱ ارتباط و طول ریشه‌چه و ساقچه هر کدام با ۲ ارتباط، کمترین تعداد ارتباط نشانگر-صفت را داشتند.

تعداد ۴ ارتباط نشانگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۳A، ۵A و ۷B برای صفت وزن خشک شناسایی شد. برای صفت وزن تر گیاهچه ارتباط معنی‌دار بر روی

نshanگر-صفت معنی دار شناسایی شد. ژنوم B و D به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد ارتباط را داشتند. همچنین بیشترین ارتباط نshanگر-صفت با ۲۰ ارتباط مربوط به صفت طول ریشه‌چه و کمترین تعداد ارتباط با یک ارتباط مربوط به صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه بود که به ترتیب بر روی کروموزم‌های ۶B، ۴A و ۳D قرار داشت. دو ارتباط برای هر کدام از صفات؛ وزن تر گیاهچه بر روی کروموزم‌های ۳B، ۷D، انرژی جوانه‌زنی بر روی کروموزم‌های ۳D و ۶B، شاخص جوانه‌زنی بر روی کروموزم‌های ۳D و ۵A و نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه بر روی کروموزم‌های ۲B و ۴A شناسایی شد. برای صفت طول گیاهچه ۱۱ ارتباط نshanگر-صفت معنی دار بر روی کروموزم‌های ۱A، ۱B، ۲D، ۳A و ۳B شناسایی شد. همچنین در ارتباط با صفت انرژی جوانه‌زنی نسبی ۱۳ ارتباط نshanگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۱A، ۳D، ۳B، ۷A، ۶B، ۴B، ۴A و ۷B و صفت شاخص جوانه‌زنی نسبی ۱۶ ارتباط نshanگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۱B، ۲B، ۴A، ۳B، ۶D، ۵B، ۴B و ۷B مشاهده شد. برای صفت سرعت جوانه‌زنی نسبی نیز ۶ ارتباط بر روی کروموزم‌های ۱D، ۲A، ۲B و ۴B و صفت طول ریشه‌چه ۲۰ ارتباط بر روی ۷B و ۵B و ۴A و ۳B، ۲D، ۱A، ۱B و ۷A و ۳D، ۳B، ۱A، ۱B و ۴B و ۳B، ۳A، ۱B، ۱A، ۶B، ۵B، ۴B، ۴A، ۳B، ۳A، ۱B، ۱A و ۷A تعداد ۲۱ ارتباط نshanگر-صفت در ارتباط با صفت بنیه بذر شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۴).

Liu و همکاران (2018) با مطالعه بر روی ۸۶ واریته مدرن و ۱۴۱ واریته بومی گندم زمستانه تحت دو شرایط نرمال و تنفس شوری در مرحله جوانه‌زنی، ۲۴ مکان

برای هر کدام از صفات بنیه بذر و طول گیاهچه یک ارتباط بر روی کروموزم ۲A، برای صفات طول ریشه‌چه و ساقچه هر کدام ۲ ارتباط بر روی کروموزم ۳B و برای صفت نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه ۹۵ ارتباط بر روی کروموزم‌های ۱A، ۱B، ۲A، ۳A، ۲B، ۱D، ۷A، ۶B، ۵B، ۵A، ۴B و ۷D شناسایی شد (جدول ۱ و شکل ۲).

نقشه‌یابی ارتباطی برای شرایط تنفس شوری
۶۰ میلی‌مولار: در این شرایط تعداد ۱۵۳ ارتباط نshanگر-صفت معنی دار شناسایی شد. بیشترین و کمترین تعداد ارتباط نshanگر-صفت معنی دار به ترتیب مربوط به ژنوم B و ژنوم D بود. صفت نسبت طول ساقچه به ریشه‌چه با ۱۱۳ ارتباط بیشترین تعداد ارتباط نshanگر-صفت و صفات سرعت جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی نسبی، انرژی جوانه‌زنی نسبی و طول ریشه‌چه با یک ارتباط، کمترین تعداد ارتباط نshanگر-صفت را به خود اختصاص دادند.

برای صفت وزن تر گیاهچه تعداد ۱۵ ارتباط نshanگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۱A، ۱B، ۳A، ۶B، ۴B و ۷A و برای صفت شاخص جوانه‌زنی ۱۸ ارتباط نshanگر-صفت بر روی کروموزم‌های ۱B، ۱A، ۲B، ۳A، ۵A، ۳B، ۷A و ۷B شناسایی شد. در ارتباط با صفت درصد جوانه‌زنی، سه ارتباط بر روی کروموزم‌های ۱B و ۳B شناسایی شد. برای صفات سرعت جوانه‌زنی، انرژی جوانه‌زنی نسبی، سرعت جوانه‌زنی نسبی و طول ریشه‌چه، هر کدام یک ارتباط به ترتیب بر روی کروموزم‌های ۵A، ۲A، ۷D و ۷B، ۲D، ۱D، ۳B، ۳A، ۲B، ۲A، ۱B، ۱A و ۷D تعداد ۱۱۳ ارتباط بر روی کروموزم‌های ۶A، ۵B، ۵A، ۴B، ۴A و ۷D شناسایی شد (جدول ۲ و شکل ۳).

نقشه‌یابی ارتباطی برای شرایط تنفس شوری
۱۲۰ میلی‌مولار: در این شرایط تعداد ۱۱۶ ارتباط

QTL برای طول ریشه‌چه، طول ساقچه و سرعت جوانه‌زنی شناسایی شد (Hasseb *et al.*, 2022) و Li (2021) با مطالعه ۱۵۰ لاین دابل هاپلوتید و ۳۲۳ نمونه گندم زمستانه، تحت شرایط نرمال و تنش شوری، به ترتیب ۷۶ و ۸۸ SNP معنی‌دار شناسایی کردند که در شرایط نرمال در ارتباط با صفات سرعت جوانه‌زنی ۴ ارتباط، طول ساقچه ۱۴ ارتباط، طول ریشه‌چه ۱۴ ارتباط و طول گیاهچه ۲۲ ارتباط و در شرایط تنش شوری در ارتباط با صفات سرعت جوانه‌زنی ۱۸ ارتباط، طول ساقچه ۳۳ ارتباط، طول ریشه‌چه ۱۵ ارتباط و طول گیاهچه ۱۰ ارتباط بود.

شناسایی کردند که در این بین سه ارتباط بر روی کروموزم‌های 2B، 6B و 7B برای شاخص جوانه‌زنی نسبی و دو ارتباط بر روی کروموزم‌های 6B و 7B برای انرژی جوانه‌زنی نسبی شناسایی شد. مطالعه دیگری که با استفاده از ۶۸۸۳ نشانگر SNP بر روی ۱۷۳ ژنتیپ گندم بهاره تحت دو شرایط نرمال و تنش شوری (۱۷۵ میلی‌مولار) انجام گرفت، به ترتیب تعداد ۵۰ و ۴۹ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار شناسایی شد که کمترین تعداد ارتباط (۲ درصد) مربوط به ژنوم D بود. در شرایط نرمال QTL ۲ برای صفات طول ساقچه و نسبت طول ریشه‌چه به ساقچه و QTL ۱۵ برای صفت سرعت جوانه‌زنی و در شرایط تنش شوری QTL ۹ برای درصد جوانه‌زنی، ۲

پلش آن‌شناسار

Table 1. Locus and number of marker-trait associations at the germination stage in 64 Iranian bread wheat cultivars under normal conditions

Trait	Chromosome	Number of SNPs
Dry weight	3A,5A,7B	4
Fresh weight	1A,1B,5A,7A	94
Germination percentage	1A,1B,2A,2B,2D,3A,3B,4A,4B,5A,6A,7A,7B	38
Germination energy	1A,1B,2B,2D,3A,3B,4A,5A,6A,7A,7B	36
Germination index	1A,1B,2B,2D,3A,3B,3D,4A,5A,6A,7A,7B	37
Germination rate	1A,1B,2B,2D,3A,3D,5A,7A,7B	20
Plant length	2A	1
Root length	3B	2
Shoot length	3B	2
The ratio of shoot to root length	1A,1B,1D,2A,2B,3A,3B,4A,4B,5A,5B,6A,6B,6D,7A,7B,7D	95
Seed vigor	2A	1

Table 2. Locus and number of marker-trait associations at the germination stage in 64 Iranian bread wheat cultivars under 60 mM stress conditions

Trait	Chromosome	Number of SNPs
Fresh weight	1A,1B,3A,4B,6A,6B,7A	15
Germination Index	1A,1B,2B,3A,3B,5A,7A,7B	18
Germination percentage	1B,3B	3
Germination rate	5A	1
Relative germination energy	2A	1
Relative germination rate	7B	1
Root length	7D	1
The ratio of shoot to root length	1A,1B,1D,2A,2B,2D,3A,3B,4A,4B,5A,5B,6A,6B,7B,7D	113

Table 3. Locus and number of marker-trait associations at the germination stage in 64 Iranian bread wheat cultivars under 120 mM stress conditions

Trait	Chromosome	Number of SNPs
Dry weight	4A	1
Fresh weight	3B,7D	2
Germination energy	3D,6B	2
Germination index	3D,5A	2
Germination percentage	6B	1
Germination rate	3D	1
Plant length	1A,1B,2D,3A,3B	11
Relative germination energy	1A,3B,3D,4A,4B,6B,7A,7B	12
Relative germination index	1B,2B,3B,4A,4B,5B,6B,6D,7A,7B	15
Relative germination rate	1D,2A,2B,4B	5
Root length	1A,1B,2D,3B,4A,5B,7B	20
Shoot length	3A,3B,3D,4A,4B,7A	12
The ratio of shoot to root length	2B,4A	2
Seed vigor	1A,1B,3A,3B,4A,4B,5B,6B,7A	27

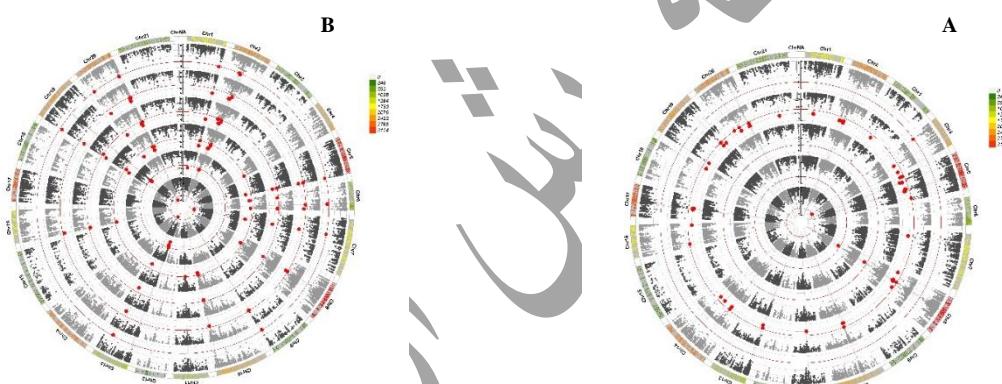


Figure 2. Diagram of number of MTAs per chromosome in each genome at normal condition. Inner to outer circles represents, (A) seedling dry weight at germination stage (DWG), seedling fresh weight at germination stage (FWG), germination percentage (GP), germination energy (GE), germination index (GI) and germination rate (GR), (B) seedling plant length at germination stage (PLG), root length at germination stage (RLG), shoot length at germination stage (SLG) and the ratio of the length of the shoot to the root (SLG/RLG) and seed vigor (SV). Chromosomes are plotted at the outmost circle and thin dotted red lines indicate significant level at $-\log p\text{-value} > 3$. Red dots indicate genome-wide significantly associated SNPs at 0.001 probability level.

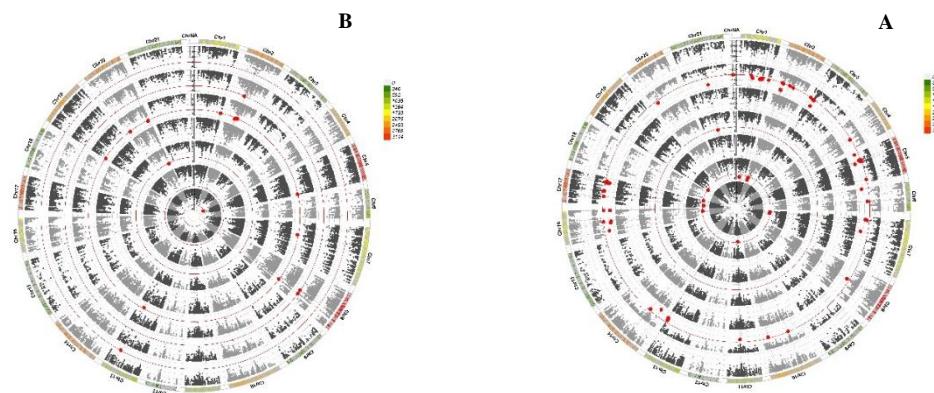


Figure 3. Diagram of number of MTAs per chromosome in each genome at 60mM salinity stress. Inner to outer circles represents, (A) seedling dry weight at germination stage (DWG), seedling fresh weight at germination stage (FWG), seedling plant length at germination stage (PLG), root length at germination stage (RLG), shoot length at germination stage (SLG) and the ratio of the length of the shoot to the root (SLG/RLG) and seed vigor(SV), (B) relative germination energy (RGE), relative germination index (RGI), relative germination rate(RGR), germination energy (GE), germination index (GI), germination percentage (GP) and germination rate (GR). Chromosomes are plotted at the outmost circle and thin dotted red lines indicate significant level at $-\log p\text{-value} > 3$. Red dots indicate genome-wide significantly associated SNPs at 0.001 probability level.

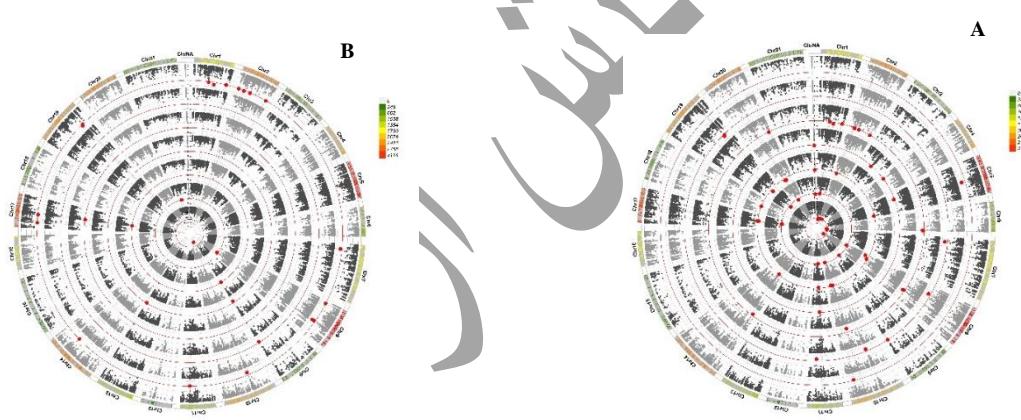


Figure 4. Diagram of number of MTAs per chromosome in each genome at 120mM salinity stress. Inner to outer circles represents, (A) seedling dry weight at germination stage (DWG), seedling fresh weight at germination stage (FWG), germination energy (GE), germination index (GI), germination percentage (GP), germination rate (GR) and Seed vigor (SV), (B) seedling plant length at germination stage (PLG), relative germination energy (RGE), relative germination index (RGI), relative germination rate (RGR), root length at germination stage (RLG), shoot length at germination stage (SLG) and the ratio of the length of the shoot to the root (SLG/RLG). Chromosomes are plotted at the outmost circle and thin dotted red lines indicate significant level at $-\log p\text{-value} > 3$. Red dots indicate genome-wide significantly associated SNPs at 0.001 probability level.

نشانگر های واقع در کروموزم های 1B و 7B، در کنترل شاخص های جوانه زنی مانند درصد جوانه زنی، انرژی جوانه زنی، شاخص جوانه زنی و سرعت جوانه زنی نقش داشتند. نشانگر های واقع در کروموزم 7A با کنترل وزن تر گیاهچه در ارتباط بودند. برخی از این ارتباطات

هستی شناسی

تحت شرایط نرمال در مرحله جوانه زنی ۳۳۰ ارتباط نشانگر صفت معنی دار شناسایی شد که در این بین ۴۲ نشانگر مهم و پلیوتروب شناسایی شد که بیشتر روی کروموزم های 1B، 7A، 7B، 2B و 6A قرار داشتند.

گیاهچه‌ای دخیل بودند. این ارتباطات نشانگر-صفت مسئول فرآیندهای بیولوژیکی و مولکولی مهمی از جمله پاسخ دفاعی، اتصال ADP، اتصال به اسید نوکلئیک و DNA، فعالیت سولفوترانسفراز، فرآیند متابولیک لیپید، فعالیت کanal و اکسیدوردوکتاز، فرآیند کاتابولیک وابسته به یوبیکوئین، یوبیکوئینه کردن پروتئین، پاسخ به محرك‌های زیستی و اتصال کالمودولین هستند. از مهم‌ترین نشانگرهای مرتبط با صفات در این شرایط می‌توان به دو نشانگر rs49117 و rs2448 مربوط به صفت وزن تر گیاهچه و مرتبط با اتصال پروتئین و نشانگر rs38272 مربوط به صفت شاخص جوانه‌زنی و مرتبط با انتقال کمپلکس ATPase، اشاره کرد (جدول تکمیلی ۳).

توالی نشانگرهای معنی‌دار در شرایط تنفس شوری ۶۰ میلی‌مولا، در پایگاه داده David بررسی شده و مسیرهای تخریب RNA، متابولیسم آرژین و پرولین، متابولیسم بتا‌آلانین و مسیرهای متابولیکی شناسایی شد. گیاهان موجودات بی‌حرکتی هستند که با چالش‌های زیست محیطی بسیاری از جمله تنفس‌های غیرزیستی مواجه هستند. مکانسیم‌های مولکولی مختلف برای افزایش تحمل به این تنفس‌های محیطی وجود دارد. مسیرهای متابولیکی مختلف نقش مثبتی در پاسخ به تنفس و مقاومت گیاه به تنفس‌های شوری و خشکی دارند (Qari and Tarbiyyah, 2021). آرژین منجر به افزایش رشد، عملکرد و ترکیبات شیمیایی در گیاه گل گاو زبان هندی تحت شرایط تنفس شوری شده و در واقع اثرات منفی تنفس شوری را کاهش می‌دهد (Ahmed *et al.*, 2020). مطالعات نشان داده که کاربرد آرژین در شرایط تنفس شوری، کاهش جوانه‌زنی و رشد جوانه را کاهش داده و اثرات شوری را تنظیم می‌کند (Badi *et al.*, 2018). پرولین یک اسمولیت غیرسمی بوده و در بسیاری از گیاهان در شرایط تنفس شوری و خشکی بطور Mattioni *et al.* (1997) قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. در مطالعه دیگری روی خیار مشاهده شده تحت

نشانگر-صفت مسئول فرآیندهای بیولوژیکی و مولکولی مهمی از جمله انتقال سیگنال، رونویسی از الگوی DNA، فسفوریلاسیون پروتئین، کاتابولیت پروتئین وابسته به یوبیکوئین، پروتولیز، تا شدن و اتصال پروتئین، پاسخ به گرما، مسیر سیگنالینگ پروتئین کیناز و فعالیت کیناز، اتصال و فعالیت هیدرولیز ATP، اتصال ADP و فرآیند کاتابولیت لیپید هستند. از جمله نشانگرهای پلیوتروب می‌توان به نشانگر rs2448 در ارتباط با صفات درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، انرژی جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی مرتبط با اتصال پروتئین، نشانگرهای rs41616 و rs41615 در ارتباط با صفات درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی و انرژی جوانه‌زنی مرتبط با یوبیکوئینه کردن پروتئین‌ها و اتصال پروتئین، نشانگر rs26515 در ارتباط با صفات درصد و انرژی جوانه‌زنی مرتبط با یوبیکوئینه کردن پروتئین و نشانگر rs674 در ارتباط با دو شاخص و انرژی جوانه‌زنی مرتبط با اتصال ATP و فعالیت برخی کینازها، اشاره کرد (جدول تکمیلی ۲).

توالی نشانگرهای معنی‌دار در شرایط نرمال، در پایگاه داده David بررسی شده و مسیرهای مختلفی از جمله متابولیسم سیستئین و متیونین، متابولیسم گلوتاتیون، متابولیسم سولفور، متابولیسم اینوسیتول فسفات، متابولیسم گلیسرولیپید، متابولیسم گلیسروفسفولیپید، بیوستتر کوفاکتورها، بیوستتر اسیدهای آمینه و سیستم سیگنال‌دهی شناسایی شد (جدول ۴).

تحت شرایط تنفس شوری ۶۰ میلی‌مولا ۱۵۳ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار شناسایی شد که در این بین ۳۲ نشانگر مهم و پلیوتروب شناسایی شد که بیشتر روی کروموزم‌های ۱B، 2B، 6A، 5A و 6B قرار داشتند. نشانگرهای معنی‌دار در این قسمت، در کنترل صفات

غشایی پروتئینی است و وظیفه اصلی آن‌ها انتقال بسیاری از مواد از طریق غشا می‌باشد. ژن‌های ناقل ABC در آرابیدوپسیس پاسخ‌های متفاوتی را در سطح رونویسی در ارتباط با تیمارهای زیستی و غیرزیستی نشان داده است (Kim *et al.*, 2003). مشخص شده است که این ابرخانواده ژن گیاهی برای رشد، توسعه و پاسخ به تنش‌های محیطی حیاتی است. انتقال‌دهنده‌های ABC با تسهیل انتقال یون‌های سمی، فلزات سنگین و سایر مولکول‌های مرتبط با تنش به خارج از سلول، نقش کلیدی در پاسخ به تنش در گیاه داشته و اثرات مضر استرس را کاهش می‌دهند (Kou *et al.*, 2024). گزارش شده این ناقل‌ها در پاسخ به تنش شوری و ایجاد مقاومت به شوری نقش کلیدی دارند (Dahuja *et al.*, 2021).

شرایط تنش شوری، در گیاهانی که مقاومت نشان داده‌اند، میزان پرولین در مقایسه با گیاهان حساس بیشتر بوده که نشان‌دهنده تاثیر مثبت پرولین در مقاومت به تنش شوری و کاهش آسیب شوری در گیاه خیار می‌باشد (Fan *et al.*, 2012). بتا‌آلانین یک اسید‌آمینه غیرمعمول در گیاهان بوده که در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف نقش داشته و مقدار آن انباسته می‌شود (Parthasarathy *et al.*, 2019).

تحت شرایط تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مolar، ۱۱۶ ارتباط نشانگر-صفت معنی‌دار شناسایی شد که از این بین ۱۴ نشانگر مهم و پلیوتروب که بیشتر روی کروموزم‌های ۱، ۳A و ۳B قرار داشتند بیشتر در کنترل صفات گیاهچه‌ای دخیل بودند. این نشانگرها در فرآیندهای بیولوژیکی و مولکولی مهمی از جمله فرآیند متابولیک کربوهیدرات، فعالیت هیدرولاز، اتصال پلی ساکارید و اثر بر روی پیوندهای گلیکوزیل در ارتباط بودند. از جمله این نشانگرها می‌توان به نشانگر rs46968 که با صفات طول ساقچه، طول گیاهچه و بنیه بذر اثر پلیوتروبی نشان داده و با فعالیت هیدرولاز و هیدرولیز ترکیبات O-گلیکوزیل در ارتباط است و نشانگر rs9083 که در ارتباط با صفات درصد جوانهزنی و انرژی جوانهزنی پلیوتروبی نشان داده و با فعالیت هیدرولیز ATP، انتقال ATP و انتقال دهنده ABC مرتبط است، و همچنین نشانگر rs18757 که در ارتباط با صفات انرژی جوانهزنی نسبی و شاخص جوانهزنی نسبی پلیوتروبی نشان داده و با پروتولیز در ارتباط است، اشاره کرد. از دیگر نشانگرها پلیوتروب می‌توان به نشانگر rs40058 در ارتباط با صفات بنیه بذر و طول ریشه‌چه اشاره کرد (جدول تکمیلی ۴).

توالی نشانگرها معنی‌دار در شرایط تنش شوری ۱۲۰ میلی‌مolar در پایگاه داده David مورد بررسی قرار گرفته و مسیر ATP Binding ABC transporters یا Cassette transporters شناسایی شد که یک ناقل

Table 4. KEGG_PATHWAY for predicted genes in Iranian spring bread wheat cultivars under normal and salinity stress conditions

Conditions	Gene ID	Pathway
Normal	TraesCS7A02G297200	<u>diacylglycerol kinase 4-like (LOC123147173)</u> Glycerolipid metabolism, Glycerophospholipid metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of secondary metabolites, Phosphatidylinositol signaling system
	TraesCS6B02G169000	<u>glutathione synthetase, chloroplastic-like (LOC123136493)</u> Cysteine and methionine metabolism, Glutathione metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of cofactors
	TraesCS2B02G070100	<u>probable cystathionine gamma-synthase 2(LOC123038900)</u> Cysteine and methionine metabolism, Selenocompound metabolism, Sulfur metabolism, Metabolic pathways, Biosynthesis of secondary metabolites, Biosynthesis of amino acids
	TraesCS2B02G621000	<u>putative 1-phosphatidylinositol-3-phosphate 5-kinase FAB1D(LOC123047612)</u> Inositol phosphate metabolism, Metabolic pathways, Phosphatidylinositol signaling system, Phagosome
60mM Salinity Stress	TraesCS7B02G012500	<u>nuclear nucleic acid-binding protein C1D-like (LOC123156550)</u> RNA degradation
120mM Salinity Stress	TraesCS5A02G549600	<u>polyamine oxidase 1-like (LOC123108548)</u> Arginine and proline metabolism, beta-Alanine metabolism, Metabolic pathways
	TraesCS6B02G170700	<u>ABC transporter B family member 10-like (LOC123136510)</u> ABC transporters

نتیجه‌گیری

واقع تعداد ژنوم A و ژنوم B بیشترین ارتباطات معنی‌دار نشانگر-صفت را در این پژوهش داشتند. پس از تایید نشانگرهای شناسایی شده در این تحقیق، در سایر جمیعت‌ها، می‌توان در مطالعات آینده برای تسريع برنامه‌های بهزیادی گندم نان از آن‌ها استفاده نمود.

براساس مطالعه انجام شده، به ترتیب ژنوم B و ژنوم D بیشترین و کمترین تعداد SNP را داشتند. همچنین ژنوم B بیشترین و ژنوم D کمترین تعداد ارتباط معنی‌دار نشانگر-صفت را در هر سه شرایط مورد بررسی براساس صفات مورد مطالعه در مرحله جوانه‌زنی نشان دادند. در

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه برای تأمین بخشی از هزینه‌های پژوهش حاضر تشکر و جهت قدردانی می‌گردد.

- Ahmed, A. M., El-Gohary, A. E., Osman, S. A., & Khalid, K. A. (2020). Arginine and salinity stress affect morphology and metabolism of Indian borage (*Plectranthus amboinicus lour.*). *Acta Ecologica Sinica*, 40(5), 417-424.
- Alipour, H., Bihamta, M. R., Mohammadi, V., Peyghambari, S. A., Bai, G., & Zhang, G. (2017). Genotyping-by-sequencing (GBS) revealed molecular genetic diversity of Iranian wheat landraces and cultivars. *Frontiers in plant science*, 8, 1293.
- Alotaibi, F., Al-Qthanin, R.N., Aljabri, M., Albaqami, M., & Abou-Elwafa, S. (2021). Identification of genomic regions associated with agronomical traits of bread wheat under two levels of salinity using GWAS. *Plant Molecular Biology Reporter*, 40(3), 595-609.
- Badi, H. N., Mehrafarin, A., Mustafavi, S.H., & Labbafi, M. (2018). Exogenous arginine improved fenugreek sprouts growth and trigonelline production under salinity condition. *Industrial crops and products*, 122, 609-616.
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y. & Buckler, E.S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633 -2635.
- Chaurasia, S., Singh, A.K., Songachan, L.S., Sharma, A.D., Bhardwaj, R., & Singh, K. (2020). Multi-locus genome-wide association studies reveal novel genomic regions associated with vegetative stage salt tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genomics*, 112(6), 4608-4621.
- Chaurasia, S., Singh, A.K., Kumar, A., Songachan, L.S., Yadav, M.C., Kumar, S., & Singh, K. (2021). Genome-wide association mapping reveals key genomic regions for physiological and yield-related traits under salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genomics*, 113(5), 3198-3215.
- Chu, C.G., Xu, S.S., Friesen, T.L., & Faris, J.D. (2008). Whole genome mapping in a wheat doubled haploid population using SSRs and TRAPs and the identification of QTL for agronomic traits. *Molecular Breeding*, 22(2), 251-266.
- Dubcovsky, J & Dvorak, J. (2007). Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science*, 316(5833), 1862-1866.
- Dowlat Abadi, Y., NAJAFI, Z.H., Ranzbar, G.A., & Darzi, R.H. (2019). Determining resistant wheat varieties to salinity stress with using multivariable statistical methods. *Journal of Plant Ecophysiology* 11(37), 74-84. (In Persian).
- Edae, E.A., Bowden, R.L., & Poland, J. (2015). Application of population sequencing (POPSEQ) for ordering and imputing genotyping-by-sequencing markers in hexaploid wheat. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 5(12), 2547-2553.
- Fan, H.F., Du, C.X., & Guo, S.R. (2012). Effect of nitric oxide on proline metabolism in cucumber seedlings under salinity stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 137(3), 127-133.
- Habibi, S., Meskarbashee, M., & Farzaneh, M. (2014). Influence of three species of mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on physiological characters of wheat under the salinity conditions. *Plant Productions*, 37(3), 37-52. (In Persian)
- Hasseb, N.M., Sallam, A., Karam, M.A., Gao, L., Wang, R.R., & Mouris, Y. S. (2022). High-LD SNP markers exhibiting pleiotropic effects on salt tolerance at germination and seedlings stages in spring wheat. *Plant Molecular Biology*, 108(6), 585-603.
- Hussain, M.K. & O.U. Rehman, (1997). Evaluation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) germplasm for salt tolerance at the shoot stage. *Helia*, 20, 69-78.

Kim, K. N., Cheong, Y.H., Grant, J.J., Pandey, G.K., & Luan, S. (2003). CIPK3, a calcium sensor-associated protein kinase that regulates abscisic acid and cold signal transduction in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 15(2), 411-423.

Kou, X., Zhao, Z., Xu, X., Li, C., Wu, J., & Zhang, S. (2024). Identification and expression analysis of ATP-binding cassette (ABC) transporters revealed its role in regulating stress response in pear (*Pyrus bretschneideri*). *BMC genomics*, 25(1), 169.

Li, L., Peng, Z., Mao, X., Wang, J., Li, C., Chang, X., & Jing, R. (2021). Genetic insights into natural variation underlying salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 72(4), 1135-1150.

Liu, Y., Liu, Y., Zhang, Q., Fu, B., Cai, J., Wu, J., & Chen, Y. (2018). Genome-wide association analysis of quantitative trait loci for salinity-tolerance related morphological indices in bread wheat. *Euphytica*, 214(10), 1-11.

Lu, F., Lipka, A.E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J.H., Casler, M.D., Buckler, E.S. and Costich, D.E. (2013). Switchgrass genomic diversity, ploidy, and evolution: novel insights from a network-based SNP discovery protocol. *PLoS Genetics*, 9(1), e1003215.

Ma, L., Zhou, E., Huo, N., Zhou, R., Wang, G., & Jia, J. (2006). Genetic analysis of salt tolerance in a recombinant inbred population of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 153, 109–117.

Mattioni, C., Lacerenza, N.G., Troccoli, A., De Leonardis, A.M., & Di Fonzo, N. (1997). Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* seedlings. *Physiologia Plantarum*, 101(4), 787-792.

Mokarian, K., Maali Amiri, R., Tabatabaei, M.T., & Daneshmand, F. (2021). Response evaluation to salinity stress in some bread wheat genotypes using tolerance indices. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 52(3), 97-111. (In Persian).

Munns, R., & Gillham, M. (2015). Salinity tolerance of crops—what is the cost? *New Phytologist*, 208, 668–673.

Namvar, A., Sharifi, R.S., & Hadi, H. (2018). A study into the effects of salt stress on germination components of different wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Iranian Journal of Seed Research*, 4(2). (In Persian)

Parthasarathy, A., Savka, M.A., & Hudson, A.O. (2019). The synthesis and role of β -alanine in plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 468525.

Qari, S.H., & Tarbiyyah, I. (2021). The genetic regulation of secondary metabolic pathways in response to salinity and drought as abiotic stresses. *Applied Sciences*, 11(15), 6668.

Rahmani, M., Rahimi, M., AbdoliNasab, M., & Maleki, M. (2021). Evaluation of genetic diversity of different bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties using molecular markers ISSR and RAPD. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 34(2), 248-262. (In Persian).

Rahnama, A., Poustini, K., & Tavakkol Afshari, R. (2013). Short-term responses of stomatal conductance for screening wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) differing in salt tolerance for osmotic stress tolerance. *Plant Productions*, 36(3), 93-105. (In Persian).

Rajendran, K., Tester, M., & Roy, S.J. (2009). Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. *Plant, Cell & Environment*, 32(3), 237-249.

Razeghi Jahromi, F., Esmailpour, M., & Shahsavand Hassani, H. (2022). Investigation on some physiological traits of Tritipyrum lines in response to salinity stress. *Plant Productions*, 45(3), 409-420. (In Persian).

Singh, P., Mahajan, M.M., Singh, N.K., Kumar, D., & Kumar, K. (2020). Physiological and molecular response under salinity stress in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 29(1), 125-133.

Xue, D., Huang, Y., Zhang, X., Wei, K., Westcott, S., Li, C., & Lance, R. (2009). Identification of QTLs associated with salinity tolerance at late growth stage in barley. *Euphytica*, 169, 187-196.



سندھ
پشتو زبان
پشتو زبان