



تجزیه ارتباط برخی از پارامترهای پایداری در گندم نان با استفاده از نشانگرهای ISSR

آنیتا یاقوتی پور^۱, عزت الله فرشادفر^۲ و محسن سعیدی^۳

^۱- دانشجوی دکترا و دانشوار اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
^۲- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، (نویسنده مسؤول): e_farshadfar@yahoo.com
^۳- تاریخ دریافت: ۹۵/۴/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۰

چکیده

به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با شاخص‌های تحمل به خشکی در گندم نان (*Triticum aestivum*)، از نشانگرهای ISSR استفاده شد. ۱۸ نشانگر مورد استفاده، مکان در ۲۰ نمونه گندم نان تولید کرد. میزان اطلاعات چند شکل (PIC) از ۰/۴۶ (is7)، UBC-867، UBC-864 و UBC-857 (is9) تغییر پیدا کرد. درصد چندشکلی کل ۹۵/۷۵ درصد براورد گردید و از بین نشانگرهای مورد استفاده نشانگر ۸۶۷ با ۱۰۰ درصد چند شکلی، تعداد بالای شاخص‌های محتوای چند شکلی، شاخص نشانگر، شاخص نسبت چندشکلی موثر و شاخص قدرت تحمل به تکثیر بالای نواحها و تولید بیشترین نواحی چند شکل به عنوان مناسب‌ترین نشانگر برای گندم در مطالعات بعدی معروف شد. برای شناسایی نشانگرهای مثبت مرتبط با پارامتری پایداری، تجزیه رگرسیون گام به گام بین داده‌های ملکولی به عنوان متغیرهای مستقل و صفات مطالعه شده به عنوان متغیرهای وابسته انجام شد. اکثر آغازگرهای مورد استفاده با صفات مطالعه شده مرتبط بودند. ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون، ضریب رگرسیون پرکینز و جینکز، آماره حسابی عملکرد، شاخص برتری لین و بینز و شاخص اینمنی اول توسط آغازگرهای بیشتری تبیین شدند. آغازگرهای UBC-848 و is5 استفاده از نشانگرهای شناسایی شده مرتبط در این مطالعه می‌توانند به خوبی برای ارزیابی پایداری نشان دادند. نتایج نشان داد که نشانگرهای شناسایی شده مرتبط در انتخاب والدین مناسب برای تولید جمعیت هفت نقشه‌بایی به کار روند. همچنین این نشانگرها برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر به خصوص وقتی که اطلاعاتی از پایه ژنتیکی آن‌ها مانند نقشه پیوستگی در دسترس نیست، مفید می‌باشند. برخی از این نشانگرها با بیش از یک صفت مرتبط بودند که می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپیک QTL‌های مرتبط با هم در صفات مختلف باشد.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای پایداری، تجزیه ارتباطی، گندم نان و نشانگرهای ISSR

(لینکاز) آن‌ها با صفات مهم زراعی (كمی و کیفی) امکان‌پذیر شده است. این موضوع، امکان گزینش سریع و دقیق ژنوتیپ‌های مطلوب را در مراحل اولیه رشد فراهم کرده و طول دوره بدثراشی را کاهش می‌دهد، در ضمن به جای ارزیابی صفات، گزینش غیر مستقیم به کمک نشانگرهای پیوسته صورت می‌گیرد (۲،۴). پیوستگی ژنتیکی بین نشانگرها و مکان‌های ثانی صفات کمی (QTL) محتمل‌ترین توجیه برای وجود رابطه بین نشانگرهای مولکولی و نمود صفات کمی است (۲۸). مطالعه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای کاربردهای متعدد است که برخی از آن‌ها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فوتیبی، شناسایی آل‌های صفات مطلوب در مجموعه‌های ژرمپلاسم، تسهیل مکان‌بایی دقیق QTL‌ها و تأیید ژن‌های کاندید مسؤول صفات کمی مثل پایداری و مقاومت به خشکی (۹،۶). در اغلب برنامه‌های اصلاحی، اصلاح ژنتیکی مقاومت به خشکی از طریق انتخاب برای عملکرد صورت می‌گیرد ولی به علت و راست‌پذیری پایین عملکرد تحت شرایط تنفس و تغییرات زمانی و مکانی در محیط مزرعه، روش‌های سنتی اصلاح نباتات از سرعت کندی برخوردار می‌باشند. نشانگرهای مولکولی موجب افزایش کارایی در تولید ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی می‌گردد زیرا بیان آن‌ها مستقل از اثرات محیطی است (۹). بعد از شناسایی نشانگرهای مولکولی که با پارامترهای پایداری یا سایر صفات

مقدمه

گندم مهم‌ترین غله است که بیشترین سطح زیرکشت را در بین گیاهان زراعی، به خود اختصاص داده است و اغلب در نواحی خشک و نیمه‌خشک با تغییرات زیاد آب و هوای سالانه، رشد می‌کند (۱). با توجه به پیش‌بینی جمعیت ۹ میلیارد نفری برای سال ۲۰۵۰ و لرغم افزایش عملکرد محصولات زراعی، همچنان نگرانی‌ها در مورد امنیت غذایی جهان ادامه دارد (۲۵). ایران با میانگین بارندگی حدود ۲۴۰ میلی‌متر در سال در زمرة مناطق خشک و نیمه خشک جهان قرار دارد، که در این شرایط، مهم‌ترین عامل محدودکننده عملکرد این گیاه، تنش خشکی می‌باشد (۲۶). یکی از راه‌کارهای اساسی غلبه بر مشکلات ناشی از این تنش، انتخاب ارقام مقاوم و اصلاح ژنوتیپ‌های سازگار می‌باشد (۵). با توجه به محدود بودن تعداد نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی و متأثر بودن این نشانگرها از عوامل محیطی، کاربرد محدودی دارند. نشانگرهای مولکولی به ویژه نشانگرهای مبتنی بر DNA با ایجاد تعداد نامحدودی نشانگر و با حذف ارات ناشی از عوامل محیطی، بسیاری از مشکلات مربوط به نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی را برطرف کرده‌اند. از این رو، تعیین ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات ظاهری و بیوشیمیایی می‌تواند گامی مؤثر در استفاده از گزینش جمعیتی باشد (۲). امروزه ردبایی صفات مطلوب و سهولت انتخاب به کمک نشانگرها^۱ از طریق تعیین پیوستگی

تکرارپذیری بالا اشاره کرد. از معاویت این روش نیز می‌توان به الگوی تفکیک شدن به صورت غالب اشاره کرد هر چند که الگوی آن‌ها به صورت هم بارز هم در برخی موارد گزارش شده است (۲۷). وانگ و همکاران (۳۰) برای ارزیابی پایداری واریته‌های گندم به جای استفاده از مشاهدات مورفوژی از مارکرهای SSR استفاده کردند. اینوستروزا و همکاران (۱۲) با استفاده از نشانگر SSR نشان دادند که ۲۱ مکان کروموزومی با عملکرد دانه، ارتفاع گیاه و پایداری عملکرد در ۸ لاین جایگزینی جو به میزان بالای ارتباط دارند. موتاوا و همکاران (۳۰) با استفاده از مارکرهای ISSR در ۲۰ واریته گندم ارتباط معنی‌دار بین نشانگرها با صفات ارتفاع و وزن هزار دانه در شرایط نرمال و صفات ارتفاع، وزن هزار دانه و تعداد سنبله در متر مربع در شرایط تنش مشاهده کردند. پیوستگی نشانگرهای RAPD و ISSR با عملکرد ۲۰ لاین گندم در دو شرایط تنش و نرمال با صفات مورفوژی توسط خالد و همکاران (۱۵) با ۱۶ نشانگر ISSR بررسی شد و دو نشانگر ارتباط معنی‌داری را نشان دادند. درصد پلیمورفیسم از ۳۹/۳٪ تا ۵۳/۲٪ برآورد گردید. نشانگرهای پیوسته توائستند ۱۸/۹ تا ۳۴/۹ درصد از تغییرات کل مربوط به صفات مورد بررسی را توجیه نمایند. با توجه به مطالب گفته شده هدف از اجرای این تحقیق، شناسایی نشانگرهای مرتبط با پارامترهای پایداری مورد نظر در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از سیستم نشانگری ISSR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، ۲۰ ژنوتیپ گندم نان در چهار سال زراعی (۱۳۹۰-۹۴)، به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های پایدار و ارزیابی ارتباط پارامترهای پایداری با نشانگرهای مولکولی بررسی شدند. ژنوتیپ‌ها از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند (جدول ۱).

Table 1. Code and the name of wheat genotypes used in the present study

نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ
WC-47359	۱۱	Geravandi-17	۱
WC-47403	۱۲	WC-47536	۲
WC-47388	۱۳	WC-4919	۳
WC-4611	۱۴	WC-4868	۴
WC-4515	۱۵	WC-5046	۵
پیشتاز	۱۶	WC-4995	۶
Moghan-3	۱۷	پیشگام	۷
WC-47472	۱۸	WC-4536	۸
WC-4968	۱۹	پیشگام	۹
WC-47528	۲۰	WC-4752	۱۰

در نظر گرفته شد و در شرایط تنش در تمام طول رشد آبیاری انجام نشد. موقعیت جغرافیایی و آب و هوایی مزرعه تحقیقاتی پر迪س کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه مطابق جدول ۲ می‌باشد.

تجزیه پایداری ۲۰ ژنوتیپ گندم نان با استفاده از داده‌های چهار سال در دو شرایط تنش خشکی و نرمال (هشت محیط) و تجزیه واریانس ارقام در محیط‌های مختلف

1- Amplified fragment length polymorphism

مورفوژیکی مرتبط با مقاومت به خشکی در ارتباطاند می‌توان از آن‌ها به عنوان معیارهای گزینش برای مقاومت به خشکی و پایداری استفاده کرد. از انتخاب به کمک نشانگر در تهیه ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی استفاده شده است. کراکمن (۱۶)، در یک تحقیق با مطالعه ۱۴۶ رقم جو بهاره با استفاده از ۲۳۶ نشانگر^۱ AFLP مولکولی و صفات عملکرد و پایداری عملکرد را بررسی کرد. رگرسیون چندگانه گام به گام نشان داد که ۱۸ تا ۲۰ نشانگر ۴۰ تا ۵۸ درصد تغییرات مربوط به این دو صفت را تبیین کردند.

در طی دو دهه اخیر نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA بطور گسترده‌ای برای اهداف مختلف در گیاهان و جانوران مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از جمله این نشانگرها ISSR است. ISSR نشانگری نیمه تصادفی است که به عنوان ابزار قدرتمندی جهت تحلیل ژنومی از سال ۱۹۹۴ به کار گرفته شده است (۲۹,۳۲) و شامل کاربرد توالی ریز ماهواره به عنوان آغازگر در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور تکثیر نشانگرهای چند آلی می‌باشد. به علاوه، این تکنیک توانایی تشخیص افراد با روابط خویشاوندی نزدیک را نیز دارد. ISSR نشانگری قابل اعتماد است که از آن برای تخمین تنوع ژنتیکی در سطح بین گونه‌ای و درون گونه‌ای در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله برنج، گندم، ذرت، سورگوم، لوپیا، چاودار، جو، نخود، سیب زمینی شیرین، شمعدانی و بادام و انواع گیاهان دیگر، استفاده شده است (۳۱,۱۱,۷). بنابراین می‌توان از مزایای این روش به ساده بودن، دقت بالا، آنالیز همزمان تعداد زیادی جایگاه، چند شکلی بالا، ارزان بودن و

جدول ۱- کد و نام ژنوتیپ‌های مطالعه شده در این تحقیق

این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، در چهار سال زراعی (۱۳۹۰-۹۴) در دو شرایط نرمال و تنش خشکی در مزرعه تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح نباتات پر迪س کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. هر کرت شامل چهار خط دو متری به فاصله خطوط ۲۵ سانتی متر و تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع بود. در شرایط تنش و نرمال، اولین بارندگی به عنوان تاریخ کاشت

2- Inter Simple Sequence Repeat

برتری لین و بینز، شاخص ایمنی- اول، شاخص سازگاری هندسی، آماره پایداری پیفو و لوتیتو و ضریب تشخیص برآورد گردید. برای فرمول نویسی از نرمافزار Excel استفاده شد. همچنین در بخش مولکولی ۱۸ آغازگر ISSR استفاده شد (جدول ۳).

به منظور تعیین وجود اثر متقابل ژنوتیپ × محیط، انجام شد. تجزیه پایداری عملکرد گندم بر اساس آماره‌های تک متغیره، آماره‌های ضریب تغییرات، واریانس محیطی، اکووالانس ریک، واریانس پایداری، آماره شیب رگرسیونی، میانگین انحراف از رگرسیون، تجزیه واریانس جفتی پلستید و پیترسون، شاخص

جدول ۲- موقعیت جغرافیایی و آب هوایی محل اجرای آزمایش

Table 2. Geographic and meteorological location of the test site

سرد معتدل، رشته کوه‌های زاگرس شمالی	سیلتی رسی	بافت خاک	وضعیت آب و هوایی و وضع طبیعی
۱۴ درجه سانتی گراد	۳۰-۴۰ میلی‌متر	متوسط بارندگی	متوسط درجه حرارت چهار سال مورد بررسی
۳۰/۲۵ میلی‌متر	۱۳۱۹ متر	ارتفاع از سطح دریا	میزان بارندگی در سالهای اجرای آزمایش
سیله و ۳۷ درجه و ۶ دققه	۴۵-۴۰ میلی‌متر	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۳۴ درجه و ۲۱ دققه	۱۳۱۹ متر		

متقابل سال × مکان × ژنوتیپ در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. نتایج بیانگر آن بود که ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه در محیط‌های مختلف واکنش متفاوتی از خود نشان دادند، عملکرد ارقام متفاوت بوده و بین آن‌ها نوع ژنتیکی وجود دارد. سال‌ها و مکان‌های مورد مطالعه نیز تأثیر متفاوت بر عملکرد ژنوتیپ‌ها داشتند. با توجه به اینکه اثر متقابل ژنوتیپ × محیط معنی‌دار بود، پایداری عملکرد ژنوتیپ‌ها، مورد بررسی قرار گرفت (۲۵). در جدول ۴ مقادیر آماره‌های پایداری پارامتری و رتبه‌های آن‌ها برای ۲۰ ژنوتیپ مورد بررسی در هشت محیط آمده است. با توجه به اینکه هر یک از آماره‌های استفاده شده برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها رتبه‌های متفاوتی به ژنوتیپ‌ها می‌دهند و انتخاب براساس هر کدام از این شاخص‌ها ممکن است باعث خطا در تصمیم‌گیری شود لذا جهت انتخاب ژنوتیپ‌های مطلوب از شاخص جمع رتبه‌های داده شده به ژنوتیپ‌ها بر اساس همه آماره‌ها استفاده شد. بر این اساس ژنوتیپی که دارای کوچکترین جمع رتبه باشد از لحاظ همه آماره‌های پارامتری مناسب می‌باشد. بر این اساس ژنوتیپ‌های ۴، ۵، ۱۰، ۱۳، ۱۵، ۱۸، ۱۹، ۲۰ دارای برآیند بهتری از پایداری و عملکرد و ژنوتیپ‌های ۳، ۷، ۹، ۱۷ و ۲۰ از لحاظ مجموع رتبه آماره‌های مورد بررسی نامطلوب بودند. محمدی و همکاران (۲۱) نیز برای تعیین پایداری ۱۸ ژنوتیپ گندم نان از آماره‌های واریانس محیطی، ضریب تغییرات ژنوتیپی، واریانس پایداری و شاخص برتری استفاده نمودند.

داده‌های مولکولی بر اساس وجود و عدم وجود باند به ترتیب به صورت یک و صفر کدگذاری شدند. میزان اطلاعات چند شکل آغازگرها با استفاده از فرمول $P_i = \frac{1}{\sum_{i=1}^n P_i^2 PIC}$ محاسبه گردید. در این فرمول فراوانی آلل آن و n تعداد آلل‌ها می‌باشد. برای بررسی ارتباط نشانگرهای ISSR و آماره‌های پایداری ابتدا ساختار جمعیت بررسی و سپس تجزیه ارتباطی انجام شد. از نرمافزار STRUCTURE نسخه ۲.۳.۴، به منظور تعیین ساختار جمعیت، استفاده شد (۲۳). رابطه بین نشانگرهای ISSR و پارامترهای پایداری با استفاده از SPSS رگرسیون چندگانه گام به گام، با استفاده از نرمافزار تغییر تیزیکه، پارامترهای پایداری به عنوان متغیر وابسته و نشانگرهای ISSR به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب عملکرد دانه برای ۲۰ ژنوتیپ گندم در چهار سال در دو شرایط تنفس و عدم تنفس در جدول ۳ ارائه شده است. برای بررسی اثرات معنی‌دار مؤلفه‌های واریانس عملکرد دانه، آزمون F براساس مدل مخلوط (اثر سال تصادفی، ژنوتیپ و مکان ثابت) انجام شد. تفاوت آماری معنی‌داری بین مکان‌ها، سال‌ها، ژنوتیپ‌ها، اثر متقابل سال × مکان، سال × ژنوتیپ، مکان × ژنوتیپ و اثر

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های گندم

Table 3. Analysis of variance for the measured traits of wheat genotypes

F	میانگین مریبات	درجه آزادی	منبع تغییرات
۸۷۵/۸**	۳۳۸۶۰/۸/۵	۳	سال
۲۰۴/۹**	۷۹۸۴۲۱/۰/۲	۱	مکان
۱۹۱/۵**	۷۴۰۸۳۲/۱	۳	سال × مکان
۱/۰۹	۶۱۷۴/۴	۱۶	خطای ۱ (تکرار در سال و مکان)
۱۰/۱۳**	۳۹۱۷۰/۵	۱۹	ژنوتیپ
۷/۰۶**	۲۷۳۱۶/۷	۵۷	ژنوتیپ × سال
۵/۵**	۲۱۲۹۰/۴	۱۹	ژنوتیپ × مکان
۴/۲**	۱۶۴۵۴/۳	۵۷	ژنوتیپ × سال × مکان
	۳۸۶۶/۶	۳۰۴	خطای ۲ (اشتباه مرکب)
		۴۷۹	کل

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۴- آماره‌های پایداری پارامتری و رتبه آن‌ها برای عملکرد دانه ژنتیک‌های مورد مطالعه در هشت محیط

Table 4. Parametric stability statistics and their rank for grain yield of genotypes studied in eight environments

ضریب رگرسیون پرکینز و جینکر		واریانس انحراف از رگرسیون		ضریب رگرسیون فینلی و ولکیسون		میانگین عملکرد		ژنتیک
رتبه	مقدار	رتبه	مقدار	رتبه	مقدار	رتبه	مقدار	
۱۶	-۰/۱۲۷	۱۵	۷/۵۶	۱۶	۱/۱۳	۱۲	۳۱۳/۱۲	۱
۱۱	-۰/۰۱۴	۱۳	۶/۸۱	۱۱	۱/۰۱	۱۷	۳۳۴/۰۵	۲
۹	-۰/۰۰۷	۹	۶/۰۷	۹	۰/۹۹	۴	۲۶۷/۳۷	۳
۵	-۰/۱۴۷	۵	۴/۲۶	۵	۰/۰۸۵	۶	۲۷۷/۸۱	۴
۴	-۰/۱۸۸	۴	۴/۰۹	۴	۰/۰۸۱	۸	۳۹۵/۰۹	۵
۱	-۰/۰۵۰۳	۱	۰/۲۹	۱	۰/۰۵۰	۱	۲۲۷/۸۲	۶
۱۷	-۰/۱۹۳	۱۷	۸/۶۷	۱۷	۱/۱۹	۱۳	۳۱۷/۶۶	۷
۲	-۰/۲۸۹	۲	۲/۷۳	۲	۰/۰۷۱	۲	۲۶۱/۸۷	۸
۱۹	-۰/۰۰۲	۱۹	۹/۰۸	۱۹	۱/۰۰	۱۵	۳۲۷/۲۷	۹
۱۳	-۰/۰۷۷	۱۲	۶/۸۰	۱۳	۱/۰۸	۱۱	۳۰۵/۰۷	۱۰
۳	-۰/۲۵۴	۳	۳/۰۹	۳	۰/۰۷۵	۳	۲۶۵/۴۲	۱۱
۱۸	-۰/۲۶۲	۱۸	۹/۲۵	۱۸	۱/۰۲۶	۱۹	۳۶۲/۲۰	۱۲
۱۰	-۰/۰۱۲	۸	۵/۹۹	۱۱	۱/۰۱	۱۰	۳۰۲۹۵	۱۳
۷	-۰/۰۶۴	۷	۵/۰۶	۷	۰/۰۹۴	۷	۳۹۳/۷۹	۱۴
۶	-۰/۱۲۶	۶	۴/۶۳	۶	۰/۰۸۷	۹	۳۰۲/۱۰	۱۵
۲۰	-۰/۲۸۸	۲۰	۱۰/۲۱	۲۰	۱/۰۳۹	۱۸	۳۳۸/۶۴	۱۶
۱۲	-۰/۰۱۵	۱۰	۶/۲۷	۱۱	۱/۰۱	۵	۲۷۶/۴۹	۱۷
۱۴	-۰/۰۹۱	۱۱	۶/۷۱	۱۴	۱/۰۹	۱۴	۳۲۳/۷۰	۱۸
۱۵	-۰/۱۱۸	۱۶	۷/۹۹	۱۵	۱/۰۱۲	۲۰	۴۱۱/۸۶	۱۹
۸	-۰/۰۲۱	۱۴	۷/۴۷	۸	۰/۰۹۸	۱۶	۳۳۲/۶۸	۲۰

دادمه جدول ۴

Continue Table 4

واریانس محیطی	اکووالانس ریک	اماره پلاستید و پیترسون	اماره پرکینز و جینکر	ژنتیک		
رتبه	مقدار	رتبه	مقدار	رتبه		
۱۵	۶۵/۰۵	۸	۳/۲۱	۱۱	۴/۶۰	۱
۱۲	۵۸/۳۶	۱۳	۵/۹۳	۱۸	۹/۸۷	۲
۹	۵۲/۰۴	۷	۲/۹۷	۱۲	۴/۹۴	۳
۵	۳۷/۶۰	۴	۲/۰۳۴	۵	۲/۶۸	۴
۴	۳۶/۷۴	۱۱	۴/۰۵	۱۳	۵/۰۵۷	۵
۱	۱۶/۷۷	۱۹	۱/۰۵۶	۷	۳/۲۷	۶
۱۷	۷۶/۰۸	۱۶	۶/۲۳	۱۷	۸/۲۸	۷
۲	۲۷/۴۲	۱۲	۴/۸۸	۸	۳/۴۰	۸
۱۹	۸۹/۰۸	۱۸	۷/۹۱	۱۶	۸/۰۳	۹
۱۳	۵۸/۰۴	۳	۱/۰۹	۴	۲/۴۶	۱۰
۳	۲۹/۶۱	۱۰	۴/۰۶	۶	۳/۱۰	۱۱
۱۸	۸۲/۶۴	۱۵	۶/۱۲	۱۴/۵	۶/۳۲	۱۲
۸	۵۱/۳۸	۲	۱/۰۲۴	۳	۲/۰۶	۱۳
۷	۴۷/۸۸	۹	۳/۰۷۳	۱۴/۵	۶/۳۲	۱۴
۶	۴۰/۴۲	۶	۲/۱۰۹	۹	۳/۹۱	۱۵
۲۰	۹۴/۸۷	۱۴	۶/۰۹	۲	۱/۶۱	۱۶
۱۰	۵۳/۷۶	۵	۲/۰۹۹	۱۰	۴/۴۸	۱۷
۱۱	۵۷/۹۳	۱	-۰/۰۴۳	۱	-۰/۲۵	۱۸
۱۶	۶۹/۱۹	۱۷	۶/۴۴	۱۹	۹/۹۵	۱۹
۱۴	۶۴/۰۵	۲۰	۱۲/۰۳۰	۲۰	۲۰/۴۷	۲۰

ادامه جدول ۴

Continue Table 4

رتبه	آماره پایداری پیفو و لوتوسو مقدار	شاخص برتری لین ویتنز رتبه مقدار	ضریب تغییرات زنوتیپی رتبه مقدار	واریانس پایداری شوکلا رتبه مقدار	زنوتیپ
۸	۴۱/۲۸	۱۱	۲۰/۷۶	۱۵	۸۱/۷۷
۱۳	۷۴/۰۹	۳	۱۱/۰۳	۸	۷۲/۲۲
۷	۳۷/۱۰	۱۷	۲۹/۶۹	۱۷	۸۵/۲۲
۴	۲۹/۷۹	۱۵	۲۵/۲۵	۷	۶۹/۱۰
۱۱	۵۶/۷۷	۸	۲۰/۳۵	۵	۶۴/۱۵
۱۹	۱۳۱/۹۸	۲۰	۴۷/۲۳	۱	۵۳/۳۴
۱۶	۷۷/۸۴	۱۳	۲۳/۱۹	۱۸	۸۶/۸۳
۱۲	۶۰/۹۵	۱۹	۳۴/۴۶	۲	۶۳/۲۴
۱۸	۹۸/۹۰	۷	۱۷/۴۹	۲۰	۹۱/۲۱
۳	۲۲/۳۵	۱۰	۲۰/۷۵	۱۳	۷۹/۳۱
۱۰	۵۰/۷۱	۱۸	۳۰/۰۵	۴	۶۴/۸۳
۱۵	۷۶/۴۹	۲	۹/۰۰	۱۴	۷۹/۳۷
۲	۱۵/۵۲	۹	۲۰/۵۶	۱۱	۷۴/۸۲
۹	۴۹/۱۸	۱۲	۲۲/۰۱	۱۰	۷۴/۴۸
۶	۳۶/۰۶	۱۴	۲۴/۳۷	۶	۶۶/۵۵
۱۴	۷۶/۱۴	۶	۱۴/۹۸	۱۹	۹۰/۹۵
۵	۳۳/۶۹	۱۶	۲۶/۶۲	۱۶	۸۳/۱۵
۱	۵/۴۰	۵	۱۳/۵۱	۹	۷۴/۳۵
۱۷	۸۰/۵۶	۱	۳/۴۶	۳	۶۳/۸۷
۲۰	۱۵۳/۷۱	۴	۱۲/۰۴	۱۲	۷۶/۰۷
					۲۰
					۱۹/۸۳

ادامه جدول ۴

Continue Table 4

رتبه	شاخص ایمنی اول مقدار	شاخص سازگاری هندسی رتبه مقدار	ضریب تشخیص رتبه مقدار	آماره حسابی عملکرد رتبه مقدار	زنوتیپ
۱۲	۲۹۲/۲۳	۱۰	۲۳۰/۶۹	۱۰	۸۸/۴۷
۱۸	۳۱۴/۳۴	۴	۲۵۲/۹۶	۴	۸۸/۳۴
۳	۲۴۸/۷۶	۱۹	۲۰/۰۳۱	۱/۵	۸۸/۳۳
۶	۲۶۱/۹۹	۱۶	۲۲۰/۲۲	۱۳	۸۸/۶۶
۸	۲۷۹/۹۵	۷	۲۳۶/۶۹	۱۵	۸۸/۸۸
۱	۲۱۷/۹۰	۲۰	۱۹۷/۶۱	۲۰	۹۷/۰۳
۱۳	۲۹۰/۱۶	۱۲	۲۲۵/۴۹	۱۲	۸۸/۶۱
۲	۲۴۸/۳۶	۱۳	۲۲۳/۶۱	۱۹	۹۰/۰۶
۱۴	۳۰۲/۸۷	۱۵	۲۲۲/۳۶	۱۶	۸۸/۹۱
۱۰	۲۸۵/۳۳	۶	۲۳۷/۳۹	۷	۸۸/۳۹
۴	۲۵۱/۳۹	۱۷	۲۱۵/۷۶	۱۸	۸۹/۵۷
۱۹	۳۳۸/۷۵	۲	۲۵۷/۶۳	۱۴	۸۸/۸۰
۹	۲۸۴/۴۶	۸	۲۳۵/۹۲	۱/۵	۸۸/۳۳
۷	۲۷۵/۹۴	۹	۲۳۵/۱۰	۶	۸۸/۳۸
۱۱	۲۸۵/۷۰	۳	۲۵۴/۵۵	۱۱	۸۸/۵۵
۱۷	۳۱۳/۵۱	۱۱	۲۲۹/۳۴	۱۷	۸۹/۲۳
۵	۲۵۷/۵۸	۱۸	۲۰۴/۳۲	۴	۸۸/۳۴
۱۵	۳۰۴/۰۷	۵	۲۴۴/۴۰	۸	۸۸/۴۱
۲۰	۳۹۰/۴۰	۱	۳۳۶/۳۰	۹	۸۸/۴۵
۱۶	۳۱۲/۰۳	۱۴	۲۲۳/۵۲	۴	۸۸/۳۴
					۱۴/۱۵۹
					۲۰

از پارامتر محتوای اطلاعات چندشکلی استفاده شد. بیشترین شاخص محتوای چندشکلی مربوط به آغازگرهای UBC-864، UBC-857، UBC-867 و is7 میزان چندشکلی is7 بود. به منظور بررسی میزان چندشکلی نشانگرها از پارامترهایی مانند محتوای اطلاعات چندشکلی، شاخص نشانگر، درصد چندشکلی و قدرت تفکیک استفاده شد (جدول ۵). بیشترین شاخص محتوای چندشکلی مربوط به آغازگرهای UBC-857، UBC-864، UBC-867 و is9 میزان چندشکلی is7 کمترین آغازگرها بود. در بین شاخصهای مولکولی بررسی شده، بیشترین شاخص نشانگر متعلق به

از ژل آگارز ۲ درصد به منظور تعیین کیفیت DNA های استخراج شده استفاده شد، همچنین از ۱۸ آغازگر ISSR در بخش مولکولی استفاده شد (جدول ۵). تعداد کل نوارهای تکثیر شده ۹۲ نوار بود، که ۸۸ نوار دارای چندشکلی بودند. درصد چندشکلی کل ۹۴/۷۵ برآورد گردید. در یک تحقیق کارواله و همکاران (۷) میزان چندشکلی را ۹۸/۵ درصد با استفاده از ۱۸ نشانگر ISSR بدست آوردند. همه آغازگرهای به جز is14is5، is7 و دارای ۱۰۰ درصد چندشکلی بودند، همچنین کمترین میزان چندشکلی (۶۶/۶۶) به آغازگر is7 تعلق داشت. به منظور بررسی میزان چندشکلی نشانگرها

ژنتیکی و روابط تکاملی در گونه‌های گیاهی مختلف اشاره کرده‌اند (۱۹،۵،۱۵). نجفی و همکاران (۲۲) با بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ لاین و رقم گندم با استفاده از نشانگر ISSR بازه‌ی تغییرات این شاخص را ۰/۱۳ تا ۰/۴۲ بدست آورند. با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE ساختار جمعیت ۲۰ ژنتیپ گندم نان تعیین شد (جدول ۶). داده‌های مولکولی ۵ زیر جمعیت تعریف شد که در بین آنها (K=5) زیر جمعیت ۱ که انحراف معیار و متوسط لگاریتم درست‌نمایی کمتری داشت انتخاب شد تا اثر ساختار جمعیت جدا شود و موجب مشاهده روابط دروغین بین داده‌های فوتیپی و مولکولی نشود چراکه این ارتباط ناشی از اثر ساختار جمعیت است. بنابراین قبل از تجزیه، پریچارد و همکاران (۲۳) پیشنهاد کردند که افراد جمعیت به زیر جمعیت‌هایی بر اساس الگوریتم تجزیه خوشای مبتنی بر مدل تقسیم و سپس تجزیه‌ها در هر زیر جمعیت انجام شود. علت اصلی اثر ساختار جمعیت، آمیزش‌های غیر تصادفی بین گروه‌ها در یک جمعیت است که منجر به جدایی فیزیکی و تغییر فراوانی‌های آللی در هر گروه می‌شود.

آغازگرهای UBC-867 و کمترین شاخص نشانگر مربوط به آغازگر is7 بود. نجفی (۲۲) مقادیر شاخص نشانگر را از ۰/۴۱ تا ۰/۳۶ برآورد کرد. بیشترین شاخص نسبت چند شکلی موثر مربوط به آغازگرهای UBC-867 و is9 (۸) و کمترین متعلق به آغازگر is3 (۲) بود. بیشترین شاخص قدرت تفکیک مربوط به آغازگر UBC-867 (۹/۷) و کمترین مربوط به آغازگر is7 (۱/۵) بود. آغازگر UBC-867 با ۱۰۰ درصد چندشکلی و مقدار بالای شاخص‌های محتوای چندشکلی، شاخص نشانگر، شاخص EMR و شاخص RP و با توجه به تکثیر بالای باندها و تولید نوارهای چندشکلی، بالا به عنوان مناسب‌ترین آغازگر برای گندم معروفی شد. نشانگر UBC-867 بهتر از نشانگرهای دیگر می‌تواند فاصله ژنتیکی ژنتیپ‌ها را مشخص و آن‌ها را از هم تمایز کند. همچنین تعداد زیاد مکان‌های تکثیر شده در این آزمایش نشان می‌دهد که تعداد کمی از آغازگرهای ISSR با میزان اطلاعات چندشکل بالا، می‌تواند تعداد زیادی نمونه و جمعیت‌های مختلف نمونه را تفکیک کنند. سایر تحقیقات نیز به کارایی بالای نشانگرهای ISSR در مطالعات مرتبط با تعیین تنوع

جدول ۵- آماره‌های چند شکلی حاصل از بررسی ۲۰ ژنتیپ گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR

Table 5. Multivariate statistics from 20 wheat genotypes using ISSR markers

نام نشانگر	تعداد نوارها	تعداد کل نوارها	درصد چند شکلی	تعداد نوار چند شکل	متواتی چند شکلی	شاخص نشانگر	نسبت چند شکلی موثر	قدر تفکیک	نام نشانگر
is6	۷	۷	۱۰۰	۷	۰/۳۲	۲/۷۷	۷	۸/۸	
is5	۹	۹	۸۸/۸۸	۸	۰/۳۴	۲/۲۹	۷/۱۱	۹/۶	
UBC-869	۴	۴	۱۰۰	۴	۰/۳۳	۱/۳۱	۴	۲/۸	
Is3	۲	۲	۱۰۰	۲	۰/۲۹	۰/۰۸	۲	۲/۱	
UBC-867	۸	۸	۱۰۰	۸	۰/۴۱	۳/۲۹	۸	۹/۷	
UBC-848	۲	۲	۱۰۰	۳	۰/۲۵	۰/۷۶	۳	۴/۹	
UBC-857	۲	۲	۱۰۰	۳	۰/۴۶	۱/۳۸	۳	۳	
UBC-864	۲	۲	۱۰۰	۳	۰/۴۶	۱/۷۷	۳	۲/۴	
is14	۴	۴	۷۵	۳	۰/۳۱	۰/۵۹	۲/۲۵	۱/۸	
is15	۶	۶	۱۰۰	۶	۰/۳۷	۲/۲۴	۶	۷/۶	
is10	۵	۵	۱۰۰	۵	۰/۲۷	۱/۳۳	۵	۳/۳۳	
is13	۳	۳	۱۰۰	۳	۰/۲۵	۰/۷۶	۳	۴/۹	
is11	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱۰	۰/۴۵	۴/۵۳	۱۰	۸/۸	
is7	۳	۳	۶۶/۶۶	۲	۰/۲۱	۰/۲۸	۱/۳۳	۱/۵	
si9	۸	۸	۱۰۰	۸	۰/۴۶	۳/۷۱	۸		
is16	۴	۴	۷۵	۳	۰/۲۶	۰/۰۹	۲/۲۵	۳/۱	
UBC-807	۳	۳	۱۰۰	۳	۰/۴۱	۱/۲۴	۳	۲/۹	
UBC-844	۷	۷	۱۰۰	۷	۰/۴۲	۲/۹۶	۷	۸/۵	

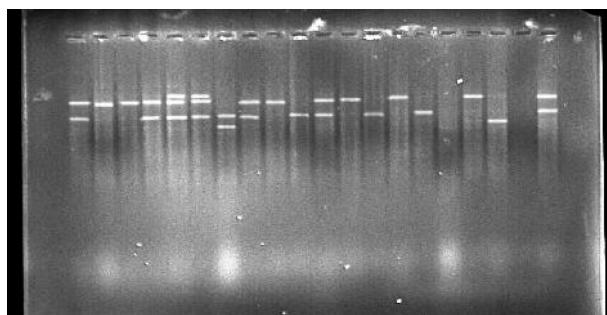
جدول ۶- متوسط لگاریتم درست نمایی بر اساس نرم‌افزار STRUCTURE

Table 6. Maximum likelihood estimation based on STRUCTURE software

تعداد زیر گروه	متواتی لگاریتم درست نمایی	انحراف معیار
۱	۱۰۶۳/۳	۱/۸۲
۲	۱۱۷۹/۹	۲۸
۳	۱۲۴۵	۳۲/۳
۴	۱۲۴۹/۴	۱۴/۵
۵	۱۲۶۲/۰۲	۳۳/۶

چه نقشه‌یابی بر پایه مکان‌های صفات کمی (QTL) برای ردیابی ژن‌های وابسته به صفات، مناسب می‌باشد اما این عمل وقت‌گیر و پر زحمت می‌باشد (۲۵). برای غلبه بر این محدودیت‌ها، شناسایی نشانگرهای وابسته به صفات از طریق رگرسیون مناسب به نظر می‌رسد. آنالیز رگرسیونی چند گانه، ضریب تبیین^۲ R^۲ را تعیین می‌کند که این ضریب نشان دهنده میزان رابطه صفت را با نشانگر مولکولی می‌باشد (۱۰).

تجزیه رگرسیون چندگانه گام به گام
نتایج تجزیه ارتباطی ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگر ISSR و پارامتری پایداری با استفاده از تجزیه رگرسیون چندگانه گام به گام برای شناسایی نواحی ژنومی دخیل در کنترل پایداری در گندم با در نظر گرفتن مکان‌های نشانگری به عنوان متغیرهای مستقل و آماره‌های پایداری به عنوان متغیرهای وابسته در جداول درج شده است. نتایج نشان داد که بین پارامتری پایداری با آغازگرهای ISSR رابطه وجود دارد. اگر



شکل ۱- الگوی نواربندی نشانگرهای ISSR با استفاده از آغازگر UBC-869 در ۲۰ ژنوتیپ گندم مورد بررسی
Figure 1. ISSR Marker Strip Pattern Using UBC-869 primer in 20 Wheat Genotypes studied

UBC-869 بیشترین تاثیر مثبت و معنی‌دار را در ضریب رگرسیون داشت.

شاخص سازگاری هندسی

با این شاخص نیز ۸ مکان تکثیری توسط آغازگرهای ISSR رابطه معنی‌داری داشتند و ۹۷ درصد تغییرات این شاخص را توجیه کردند. بیشترین اثر معنی‌دار مربوط به مکان is13 بود که باعث کاهش شاخص سازگاری هندسی می‌گردد (جدول ۹).

ضریب رگرسیون فینلی و ولکینسون

۸ مکان تکثیری توسط آغازگرهای ISSR با ضریب رگرسیون فینلی و ولکینسون ارتباط داشتند (جدول ۷) و حدود ۹۸ درصد از تغییرات آن را توجیه کردند. در این حالت بیشترین تأثیر معنی‌دار مربوط به مکان ۹۷ UBC-869 بود.

ضریب رگرسیون پرکینز و جینکز

با ضریب رگرسیون پرکینز و جینکز، ۸ مکان تکثیری با نشانگر ISSR مرتبط بودند (جدول ۸) آغازگرهای مرتبط با این آماره ۹۸ درصد از تغییرات آن را توجیه کردند و مکان

جدول ۷- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با ضریب رگرسیون فینلی و ولکینسون

Table 7. Markers have a significant relationship with Finley and Wilkinson regression coefficients

R ^۲ adjusted	R ^۲ changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
-۰/۲۸۸	-۰/۴۲۱	-/۰۰۰	-۰/۷۱۳	UBC-869
-۰/۶۰۱	-۰/۲۲۲	-/۰۰۰	-۰/۴۲۳	Is5
-۰/۷۰۷	-۰/۱۱۱	-/۰۰۰	-۰/۳۱۷	Is5
-۰/۸۵۰	-۰/۱۲۸	-/۰۰۰	-۰/۲۸۹	UBC-848
-۰/۸۸۴	-۰/۰۳۴	-/۰۰۰	-۰/۳۸۶	UBC-869
-۰/۹۳۹	-۰/۰۴۳	-/۰۰۰	-۰/۲۲۷	Is9
-۰/۹۶۶	-۰/۰۲	-/۰۰۰	-۰/۱۸	UBC-867
-۰/۹۸۸	-۰/۰۱۵	-/۰۰۰	-۰/۱۳۱	Is11

جدول ۸- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با ضریب رگرسیون پرکینز و جینکز

Table 8. Significant relationships with Perkins and Jinx regression coefficients

R ^۲ adjusted	R ^۲ changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
-۰/۴۸۸	-۰/۴۲۱	-/۰۰۰	-۰/۷۱۳	UBC-869
-۰/۶۰۱	-۰/۲۲۲	-/۰۰۰	-۰/۴۲۳	Is5
-۰/۷۰۷	-۰/۱۱۱	-/۰۰۰	-۰/۳۱۷	Is13
-۰/۸۵۰	-۰/۱۲۸	-/۰۰۰	-۰/۲۸۹	UBC-848
-۰/۸۸۴	-۰/۰۳۴	-/۰۰۰	-۰/۳۸۶	UBC-869
-۰/۹۳۹	-۰/۰۴۳	-/۰۰۰	-۰/۲۲۷	Is9
-۰/۹۶۶	-۰/۰۲	-/۰۰۰	-۰/۱۸	UBC-867
-۰/۹۸۸	-۰/۰۱۵	-/۰۰۰	-۰/۱۳۱	Is11

جدول ۹- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با شاخص سازگاری هندسی

نام نشانگر	ضریب رگرسیون (B)	P-value	R ² changed	R ² adjusted
Is13	-0.750	0.000	0.312	0.273
Is16	-0.750	0.000	0.156	0.146
Is9	-0.629	0.000	0.225	0.647
Is13	-0.391	0.000	0.162	0.829
Is14	-0.295	0.000	0.056	0.992
Is11	-0.243	0.000	0.044	0.919
UBC-867	-0.231	0.002	0.021	0.945

۵۶ درصد واریانس کل را توجیه کرد (جدول ۱۱).
واریانس پایداری شوکلا
 این آماره هم مشابه آماره پلستید و پیترسون با دو مکان تکثیری همبستگی معنی‌داری نشان داد و ۵۶ درصد از تغییرات مربوط به واریانس پایداری توسط این دو مکان توجیه شد (جدول ۱۲).

آماره پایداری پیفو و لوتیتو
 این آماره با دو مکان تکثیری ارتباط معنی‌دار نشان داد و

جدول ۱۰- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با آماره MBIW

نام نشانگر	ضریب رگرسیون (B)	P-value	R ² changed	R ² adjusted
Is13	-0.682	0.000	0.299	0.260
UBC-867	-0.69	0.000	0.261	0.109
UBC-864	-0.480	0.000	0.173	0.683
Is5	-0.237	0.000	0.089	0.775
Is11	-0.207	0.000	0.070	0.854
Is6	-0.196	0.000	0.045	0.909
UBC-869	-0.161	0.000	0.027	0.944
UBC-844	-0.182	0.000	0.015	0.965
UBC-844	-0.134	0.000	0.014	0.987

جدول ۱۱- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با آماره پایداری پیفو و لوتیتو

نام نشانگر	ضریب رگرسیون (B)	P-value	R ² changed	R ² adjusted
Is6	-0.740	0.001	-0.363	-0.227
Is13	-0.499	0.004	-0.248	-0.564

جدول ۱۲- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با واریانس پایداری شوکلا

نام نشانگر	ضریب رگرسیون (B)	P-value	R ² changed	R ² adjusted
Is6	-0.640	0.001	-0.363	-0.337
Is5	-0.499	0.004	-0.248	-0.564

شاخص برتری لین و بینز
 ۸ مکان تکثیری توسط آغازگرهای نشانگر ISSR با این شاخص رابطه معنی‌دار داشتند (جدول ۱۴) و ۹۸ درصد از تغییرات این شاخص را توجیه کردند. بیشترین تأثیر معنی‌دار مربوط به مکان ۵is بود که باعث کاهش شاخص برتری لین و بینز می‌گردد.

ضریب تغییرات ژنتیکی
 این آماره با ۳ مکان ارتباط معنی‌دار نشان داد (جدول ۱۳) و مکان تکثیری توسط آغازگر ۱۳ is بیشترین اثر معنی‌دار و منفی را روی این آماره داشت. آغازگرهای مرتبط با این آماره ۹۸ درصد از تغییرات آن را توجیه کردند.

جدول ۱۳- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با ضریب تغییرات ژنتیکی

نام نشانگر	ضریب رگرسیون (B)	P-value	R ² changed	R ² adjusted
Is13	-0.993	0.000	-0.953	-0.951
UBC-848	-0.159	0.000	-0.233	-0.973
Is10	-0.102	0.003	-0.01	-0.984

جدول ۱۴- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با شاخص برتری لین و بینز
Table 14. Markers with significant relationship with Lin and Bains superiority index

R ² adjusted	R ² changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۳۵۲	.۰/۳۸۶	.۰/۰۰۰	-.۰/۶۱۶	Is5
.۰/۵۳۴	.۰/۱۹۷	.۰/۰۰۰	.۰/۳۶۶	UBC-864
.۰/۷۲۷	.۰/۱۸۷	.۰/۰۰۰	-.۰/۶۸۰	Is15
.۰/۷۸۳	.۰/۰۶۷	.۰/۰۰۰	-.۰/۳۵۷	Is10
.۰/۸۶۱	.۰/۰۶۱	.۰/۰۰۰	.۰/۱۴۱	Is5
.۰/۹۱۹	.۰/۰۴۷	.۰/۰۰۰	-.۰/۳۹۱	Is9
.۰/۹۵۹	.۰/۰۲۹	.۰/۰۰۰	-.۰/۲۱۴	Is11
.۰/۹۸۰	.۰/۰۱۵	.۰/۰۰۳	-.۰/۱۵۱	Is7

واریانس محیطی

این آماره با ۷ مکان تکثیری مرتبط بود (جدول ۱۶) و بیشترین تأثیر معنی‌دار و مثبت مربوط به مکان UBC-869 بود. آغازگرهای مرتبط با این آماره ۹۶ درصد از تغییرات آن را توجیه کردند.

ضریب تشخیص

ضریب تشخیص با ۳ مکان تکثیری توسط آغازگرها ارتباط معنی‌دار داشت و ۹۸ درصد تغییرات آن توسط آغازگرها تبیین شد (جدول ۱۵). بیشترین اثر معنی‌دار را مکان Isروی این آماره داشت.

جدول ۱۵- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با ضریب تشخیص

R ² adjusted	R ² changed	P value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۹۵۱	.۰/۰۵۳	.۰/۰۰۰	-.۰/۹۹۳	Is13
.۰/۹۷۳	.۰/۰۲۳	.۰/۰۰۰	-.۰/۱۵۹	UBC-484
.۰/۹۸۴	.۰/۰۱	.۰/۰۰۳	-.۰/۱۰۲	Is10

جدول ۱۶- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با واریانس محیطی

R ² adjusted	R ² changed	P value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۲۵۲	.۰/۲۸۶	.۰/۰۰۰	.۰/۷۰۲	UBC-869
.۰/۸۵۳	.۰/۰۵۷	.۰/۰۰۰	.۰/۳۱۴	UBC-869
.۰/۷۰۹	.۰/۱۳۹	.۰/۰۰۰	.۰/۱۴۳۹	UBC-848
.۰/۷۹۹	.۰/۰۸۶	.۰/۰۰۰	-.۰/۲۵۵	Is9
.۰/۹۲۵	.۰/۰۵۷	.۰/۰۰۰	-.۰/۹۶	Is9
.۰/۷۱	.۰/۲۳۰	.۰/۰۰۰	-.۰/۷۲۱	Is5
.۰/۹۶۴	.۰/۰۲۹	.۰/۰۰۰	.۰/۲۲۹	UBC-844

میانگین مربعات انحراف از رگرسیون

برای این آماره، ۷ مکان به عنوان مکان‌هایی که تأثیرگذار شناخته شد که ۹۶ درصد تغییرات مربوط به این آماره را توجیه کردند (جدول ۱۸). مکان UBC-869 بیشترین اثر معنی‌دار و مثبت را روی این پارامتر داشت.

شاخص ایمنی- اول

این شاخص با ۹ مکان تکثیر شده ارتباط معنی‌دار داشت (جدول ۱۷). نشانگرهای مرتبط با این شاخص ۹۷٪ تغییرات را توجیح دادند. بیشترین تأثیر معنی‌دار و مثبت هم مربوط به مکان UBC-869 بود.

جدول ۱۷- نشانگرهای دارای رابطه معنی‌دار با شاخص ایمنی- اول

R ² adjusted	R ² changed	P value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۱۲۴	.۰/۲۶۵	.۰/۰۰۰	.۰/۳۴۷	UBC-869
.۰/۴۰۵	.۰/۲۰۳	.۰/۰۰۰	.۰/۶۵۷	Is16
.۰/۶۲۱	.۰/۲۱۳	.۰/۰۰۰	-.۰/۵۵۴	UBC-867
.۰/۷۷۲	.۰/۱۳۹	.۰/۰۰۰	-.۰/۴۹۰	UBC-857
.۰/۰۵۸	.۰/۰۷۶	.۰/۰۰۰	.۰/۲۶۹	UBC-844
.۰/۹۱۶	.۰/۰۴۷	.۰/۰۰۰	.۰/۲۰۱	Is14
.۰/۹۳۸	.۰/۰۱۸	.۰/۰۰۰	.۰/۲۰۴	Is11
.۰/۹۵۶	.۰/۰۱۴	.۰/۰۰۹	.۰/۱۸۹	UBC-844
.۰/۹۷۲	.۰/۰۱۰	.۰/۰۲۵	.۰/۱۳۷	Is6

جدول ۱۸- نشانگرهای دارای رابطه معنی دار با میانگین مربعات انحراف از رگرسیون

R ² adjusted	R ² changed	P value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۷۷۱	.۰/۴۰۴		.۳۹۰	UBC-869
.۰/۵۴۸	.۰/۱۹۱		.۰/۴۹۸	UBC-864
.۰/۶۷۹	.۰/۱۳۵		.۰/۳۴۸	Is5
.۰/۷۶۴	.۰/۰۸۴		.۰/۲۶۳	UBC-848
.۰/۶۶۲	.۰/۰۸۵		.۰/۰۵۲۹	Is5
.۰/۹۱۱	.۰/۰۴۱		-.۰/۰۹۰	Is9
.۰/۹۰۹	-.۰/۰۰۶		.۰/۱۹۸	UBC-857

آماره پرکینز و جینکز

برای این آماره، ۵ مکان به عنوان مکان‌های مؤثر شناسایی شدند (جدول ۲۰). این مکان‌ها ۹۳ درصد از تغییرات کل مربوط به این آماره را توجیه کردند.

آماره پلستید و پیترسون

برای این آماره، دو مکان دارای همبستگی معنی‌داری بودند (جدول ۲۱) و ۵۶ درصد از تغییرات را در برگرفتند.

اكوالانس ريك

۲ مکان تکثیری توسط آغازگرهای نشانگر ISSR با اكوالانس ريك همبستگی معنی دار نشان دادند (جدول ۱۹). در حقیقت این ۲ مکان ۵۶ درصد از تغییرات مربوط به اكوالانس ريك را توجیه کردند.

جدول ۱۹- نشانگرهای دارای رابطه معنی دار با اكوالانس ريك

R ² adjusted	R ² changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۲۲۷	.۰/۳۶۳	.۰/۰۱	-.۰/۴۴۰	Is6
.۰/۵۶۴	.۰/۲۴۸	.۰/۰۴	-.۰/۴۹۹	Is5

جدول ۲۰- نشانگرهای دارای رابطه معنی دار با آماره پرکینز و جینکز

Table 20. Significant relationship with Perkins and Jinx statistics

R ² adjusted	R ² changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۶۱۲	.۰/۶۲۲		-.۰/۷۰	Is6
.۰/۷۱۶	.۰/۱۱۳		.۰/۳۶	UBC-867
.۰/۷۷۷	.۰/۰۶۶		-.۰/۴۸۵	Is9
.۰/۸۸۴	.۰/۰۹۶		-.۰/۴۴۵	UBC-867
.۰/۹۳۷	.۰/۰۴۵		.۰/۲۸۷	UBC-844

جدول ۲۱- نشانگرهای دارای رابطه معنی دار با آماره پلستید و پیترسون

Table 21. Significant relationship With Plastid and Peterson statistics

R ² adjusted	R ² changed	P-value	ضریب رگرسیون (B)	نام نشانگر
.۰/۲۲۷	.۰/۳۶۳	.۰/۰۱	-.۰/۶۴۰	Is6
.۰/۵۶۴	.۰/۲۴۸	.۰/۰۴	-.۰/۴۹۹	Is5

نتایج مطالعه حاضر و تحقیقات ذکر شده نشان می‌دهد که چنانچه از آغازگرهای بیشتری استفاده شود می‌توان به شناسایی نشانگرهایی که دارای همبستگی بالا با صفات زراعی باشند، امید داشت و از آن‌ها استفاده کرد. البته لازم است نشانگرهای شناسایی شده در جمیعت‌های بزرگ و همچنین در جمیعت‌های در حال تفرق آزمون شوند تا از پیوستگی آن‌ها با صفات مربوطه اطمینان حاصل شود و بدین ترتیب کارایی استفاده از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی افزایش یابد (۲).

مکان تکثیری UBC-869 با آماره‌های شاخص اینمی اول، میانگین مربعات انحراف از رگرسیون، واریانس محیطی، ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون و ضریب تغییرات ژنتیکی دارای همبستگی بود، لذا می‌توان نتیجه گرفت که

برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت همبستگی داشتند که ارتباط یک نشانگر با بیش از یک صفت می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی QTL‌های مرتبط با هم در صفات مختلف باشد (۱۸,۸). اما برای آگاهی بیشتر از این رابطه، ایجاد یک جمعیت در حال تفرق و نقشه‌یابی لینکازی آن می‌تواند مفید باشد (۹). اثر پلیوتروپیک زمانی رخ می‌دهد که یک ژن بتواند به طور هم‌زمان در روز چندین صفت تأثیر داشته باشد، همچنین QTL‌های مرتبط با همیگر که صفات مختلف را کنترل می‌کنند نیز می‌توانند منجر به ایجاد یک نشانگر واحد شوند که با بیش از یک صفت همبستگی داشته باشد (۱۸)، بین این صفات نیز ممکن است همبستگی وجود داشته باشد و کاهش یا افزایش در هر کدام می‌تواند باعث کاهش یا افزایش دیگری شود (۱۹).

نshanگر ۱۳، برای آماره‌های پایداری پیفو و لوپیتو، واریانس پایداری شوکلا، آماره پرکینز و جینکر، اکوالانس ریک و آماره پلستید و پیترسون نshanگر ۶، برای شاخص برتری لین و بیز نshanگر ۵، برای شاخص ایمنی اول نshanگر ۱۶، برای مجموع ضرایب مولفه اثر متقابل نshanگر ۵ و برای میانگین مربعات انحراف از رگرسیون نshanگر UBC-864، میانگین مربعات انحراف شانگر شناسایی شدند. بیشترین تعداد نshanگر مثبت برای آماره‌های ضرایب رگرسیون فینلی و ویلکینسون، پرکینز و جینکر، شاخص ایمنی اول شناسایی شد در ضمن تعداد نshanگرهای موثر در این صفات نیز یکسان بودند. تجزیه رگرسیونی چند متغیره یک روش مناسب و سریع برای یافتن رابطه بین صفات و نshanگرهای باشد. نshanگرهایی که در این مطالعه با صفات همبستگی نshan دادند می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی MAS به کار روند. از مزایای باز این روش این است که می‌تواند مکان‌های صفات کمی (QLT) را ردیابی کند، همچنین نیاز به زمان و هزینه کمتری دارد و به تشکیل جمعیت چهت نقشه‌یابی نیاز ندارد. انتخاب نتاج برتر از نظر صفات مهم، کاری دشوار می‌باشد اما با شناسایی نshanگرهای واپسی به صفت می‌توان نتایج برتر را در مراحل اویله رشد آن‌ها شناسایی کرد (۲۸).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که نshanگرهای مرتبط شناسایی شده می‌توانند راهنمای خوبی برای شناسایی ژوتیپ‌های پایدار در گندم نان باشند. در برنامه‌های اصلاحی تعیین ژوتیپ‌های پایدار معمولاً وقت و هزینه زیادی می‌طلبد. با این حال، نshanگرهای مرتبط شناسایی شده در این مطالعه می‌توانند در انتخاب ژوتیپ‌های برتر بخصوص وقتی که اطلاعاتی از پایه ژنتیکی آن‌ها مانند نقشه لینکازی در دسترس نیست مفید باشد. همچنین، این نshanگرها می‌توانند در انتخاب والدین مناسب برای تولید جمعیت چهت نقشه‌یابی و تولید ارقام هیرید به کار روند.

دارای اثرات پلیوتربوی می‌باشد. مکان تکثیری ۵ با ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون، واریانس پایداری شوکلا، آماره پلستید و پیترسون، اکوالانس ریک، میانگین مربعات انحراف از رگرسیون، شاخص برتری لین و بیز همبستگی داشت. مکان تکثیر شده ۶ نیز با آماره پرکینز و جینکر پیوستگی داشت. مکان UBC-848 با ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون میانگین مربعات انحراف از رگرسیون واریانس محیطی پیوسته بود، همچنین مکان UBC-869 با ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون و ضریب رگرسیون پرکینز و جینکر ارتباط داشت.

میانگین مربعات انحراف از رگرسیون با مکان‌های تکثیری UBC-869 is5 و UBC-848 با مکان‌های UBC-869 و UBC-848، ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون با مکان‌های ۸۶۹ و UBC-848 ارتباط داشتند. در مجموع مکان‌های UBC-869 و UBC-848 با اکثر صفات بررسی شده ارتباط داشتند.

اکثر نshanگرهای تولیدی توسط آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق بر روی آماره‌های پایداری مطالعه شده موثر بودند. محل قرار گیری این نshanگرها در داخل ژنوم احتمالاً مناطقی از ژنوم می‌باشد که کد کننده ژن‌های مربوط به صفات مورد نظر می‌باشد (۲۸). بعد از شناسایی نshanگرهای مولکولی که با آماره‌های پایداری در ارتباط اند می‌توان از آن‌ها به عنوان معیارهای گزینش برای پایداری استفاده کرد. با هر صفت چندین نshanگر همبستگی نshan دادند. نshanگری که بالاترین R² changed و ضریب رگرسیون را داشته به عنوان موثرترین نshanگر در ارتباط با آن صفت در نظر گرفته می‌شود (۱۴). برای ضریب رگرسیون فینلی و ویلکینسون، ضریب رگرسیون پرکینز و جینکر و اریانس محیطی نshanگر ۸۶۹ برای آماره MBIW، ضریب تعییرات و ضریب تشخیص

منابع

1. Ahangari, A., M. Rasoli and M. Naderi. 2009. Evaluation of effective traits in drought stress resistance in wheat. Agricultural Proceedings Agricultural and Plant Breeding, Markazi Province Agricultural Jihad Organization (In Persian).
2. Abdollahi Mandolkani, B. and H. Azizi. 2014. Association analysis of morphologic traits with by inter-simple sequence repeat markers in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Cellular and Molecular Research, 27(2): 260-268 (In Persian).
3. Azizi, H., A., Bernosi, B. Abdollahi Mandolkani and R. Darvish zadeh. 2011. Study of genetic diversity and structure of Alfalfa(*Medicago sativa* L.) populations using the inter-simple sequence repeat markers. New Genealogy Journal, 6(4): 61-69 (In Persian).
4. Ashraf, M. and P.J. Harris 2005. Abiotic stresses: plant resistance through breeding and molecular approaches. Food Products Press. USA. Binghamton, 725 pp.
5. Brigg, L. and B. Curtis. 1987. Wheat worldwide. Wheat and wheat improvement. 1-32.
6. Gebhardt, C., A. Ballvora, B. Walkemeier, P. Oberhagemann and K. Schüler. 2004. Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: a case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. Molecular Breeding, 13: 93-102.
7. Carvalho, A., M. Matos, J. Lima-Brito, H. Guedes-Pinto and C. Benito. 2005. DNA fingerprint of F₁ interspecific hybrids from the Triticeae tribe using ISSRs. Euphytica, 143: 93-99.
8. Culp, T., D. Harrell and T. Kerr. 1979. Some genetic implications in the transfer of high fiber strength genes to upland cotton. Crop Science, 19: 481-484.

9. Ebrahimi, A., M. Naghavi, M. Sabokdast and S.S.A. Moradi. 2011. Association analysis of agronomic traits with microsatellite markers in Iranian barley landraces barley. *Modern Genetics Journal*, 6(1): 35-43.
10. Gomez, K.A. and A.A. Gomez. 1984. Statistical procedures for agricultural research. John Wiley and Sons. Science, 680 pp.
11. Huang, J. and M. Sun. 2000. Genetic diversity and relationships of sweetpotato and its wild relatives in Ipomoea series Batatas (Convolvulaceae) as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and restriction analysis of chloroplast DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 1050-1060.
12. Inostroza, L., A. del Pozo, I. Matus, D. Castillo, P. Hayes, S. Machado and A. Corey. 2009. Association mapping of plant height, yield and yield stability in recombinant chromosome substitution lines (RCSLs) using *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* as a source of donor alleles in a *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* background. *Molecular Breeding*, 23: 365-376.
13. Jabbarzadeh, Z., M. Khosh-Khui, H. Salehi and A. Saberivand .2013. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic diversity analysis of rose species. *African Journal of Biotechnology*, 9: 6091-6095.
14. Kar, P.K., P.P. Srivastava, A.K. Awasthi and S.R. Urs. 2008. Genetic variability and association of ISSR markers with some biochemical traits in mulberry (*Morus spp.*) genetic resources available in India. *Tree Genetics and Genomes*. 4: 75-83
15. Khaled, A.G.A., M.H. Motawea and A.A. Said. 2015. Identification of ISSR and RAPD markers linked to yield traits in bread wheat under normal and drought conditions. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*.
16. Kraakman A.T., R.E. Niks P.M. Van den Berg P. Stam and F.A. Van Eeuwijk. 2004. Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168: 435-446.
17. Li, Q., Q.C. Liu, H. Zhai, D.F. MA, X. Wang, X.Q. Li and Y.P. Wang. 2008. Genetic diversity in main parents of sweetpotato in China as revealed by ISSR markers. *Acta Agronomica Sinica*, 34: 972-977.
18. Meredith, W.R. and R. Bridge. 1971. Breakup of linkage blocks in cotton, *Gossypium hirsutum* L. *Crop Science*, 11: 695-698.
19. Miletic, R., M. Zikic, N. Mitic and R. Nicolic. 2005. Pomological characteristic of superior selections of European filbert (*C. avellana* L.). *Genetica*. 37: 103-111.
20. Motawea, M., A. Said and A. Khaled. 2015. ISSR Markers-Trait Associations and Stability. *Plant Breeding Biotechnology*, 3(2): 167-177.
21. Mohammadi M., R. Karimizadeh, N. Sabaghnia and M.K. Shefazadeh. 2012a. Genotype -Environment Interaction and Yield Stability Analysis of New Improved Bread Wheat Genotypes. *Turkish Journal of Field Crops*, 17: 67-73.
22. Najaphy, A., R.A. Parchin and E. Farshadfar. 2012. Comparison of phenotypic and molecular characterizations of some important wheat cultivars and advanced breeding lines. *Australian Journal of Crop Science*, 6: 326.
23. Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
24. Razeghi yadak, F., SH. Haidari and K. Sori. 2010. Effect of drought stress on activity of acid and alkaline phosphatase in seed embryonic axis of two bread wheat cultivars in early stages of germination. *Journal of Iranian Crop Science*, 41(2): 385-393 (In Persian).
25. Rakshit S., K. Ganapathy, S. Gomashe, A. Rathore, R. Ghorade, M.N. Kumar, K. Ganeshmurthy, S. Jain, M. Kamtar and J. Sachan. 2012. GGE biplot analysis to evaluate genotype, environment and their interactions in sorghum multi-location data. *Euphytica*, 185: 465-479.
26. Rosegrant, M. and M. Agcaoili. 2010. Global food demand, supply, and price prospects to 2010. International Food Policy Research Institute, Washington, DC USA.
27. Semagn, K., Å. Bjørnstad and M. Ndjiondjop. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(25): 2540-2568.
28. Virk, P., B. Ford-Lloyd, M. Jackson, H. Pooni, T. Clemeno and H. Newburry. 1996. Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. 1995. Third International Rice Genetics Symposium, Manila (Philippines). International Rice Research Institute.
29. Vaillancourt, A., K. Nkongolo, P. Michael and M. Mehes. 2008. Identification, characterisation, and chromosome locations of rye and wheat specific ISSR and SCAR markers useful for breeding purposes. *Euphytica*, 159(3): 297-306.
30. Wang, L.X., H.B. Li, T.C. Gu, L.H. Liu, B.S. Pang, J. Qiu and C.P. Zhao. 2014. Assessment of wheat variety stability using SSR markers. *Euphytica*, 195(3): 435-452.
31. Wolff, K. and M. Morgan-Richards. 1998. PCR markers distinguish *Plantago major* subspecies. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(2): 282-286.
32. Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2): 176-183.

Association Analysis for Stability Parameters in Bread Wheat Using ISSR Markers

Anita Yaghotipoor¹, Ezatollah Farshadfar² and Mohsen Saeidi³

1 and 3- PhD Student, Associate Professor, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah

2- Professor, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah

(Corresponding author: e_farshadfar@yahoo.com)

Received: July 5, 2016

Accepted: July 1, 2017

Abstract

Intersimple sequence repeat (ISSR) markers were evaluated in order to identify informative markers associated with drought tolerance indices in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Eighteen ISSR primers amplified 92 loci among 20 bread wheat genotypes. Polymorphic information content (PIC) ranged from 0.46 (UBC-857, UBC-864, UBC-867, is9) to 0.21 (is7), with an average of 2.05. Stepwise regression analysis between molecular data as independent variable, and parametric stability statistics as dependent variables was performed to identify informative markers associated with the parametric stability statistics. Most of the used ISSR primers showed significant association with the parametric stability statistics. Stability statistics included Finlay and Wilkinson's coefficient of regression, Perkins and Jinks's coefficient of regression, MBIW, Lin and Binns's superiority index, SF_i and NP⁽²⁾_i were explained by more primers. ISSR markers, UBC-848, UBC-869 and is5 showed the most association with stability statistics. It is possible to use these markers along with stability statistics in wheat breeding programs for identification of stable genotypes and suitable parents to produce mapping populations. Also, these results could be useful in marker-assisted breeding programs when no other genetic information is available. Some of ISSR markers were associated with more than one trait in multiple regression analysis. Such an association may arise due to pleiotropic effect of the linked quantitative trait locus (QTL) on different traits.

Keywords: Association analysis, Bread wheat, ISSR markers, Parametric stability, Statistics