

## Research Paper

# Investigating the Genetic Diversity of Different Wheat Cultivars based on ISSR Markers and Morphological Traits under Water Stress Conditions

Adele Hesam<sup>1</sup>, Mohammadhadi Pahlevani<sup>2</sup> , Khalil Zenalinezhad<sup>3</sup>, and Mohsen Esmailzadeh Moghaddam<sup>4</sup>

1- Graduated M.Sc., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Professor of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran  
(Corresponding author: hpahlavani@yahoo.com)

3- Assistant Professor of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

4- Professor of Plant Breeding, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

Received: 26 May, 2025

Revised: 18 August, 2025

Accepted: 20 September, 2025

### Extended Abstract

**Background:** Avoiding the occurrence of environmental stresses and their damage to crop production, as well as the increasing consequences of climate change, have prompted plant breeders to continuously help seed producers in dealing with these problems with genetic manipulation. Water deficiency is the most important abiotic stress that threatens wheat farming and production. In this research, a community of wheat cultivars was grown under irrigated and rainfed conditions to determine their response to water deficit stress, and the amount of genetic diversity in these cultivars was measured in terms of stress tolerance, agronomic traits, and ISSR markers.

**Methods:** The experiment was carried out at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in the agricultural years of 2018 and 2019. The studied population included 34 varieties of bread wheat from tolerant and resistant to drought germplasm, which are grown in various regions of Iran. In the field, an experiment was carried out to compare the cultivars in two conditions of irrigated cultivation (no stress) and rainfed (water stress) in the form of a randomized complete block design with three replications. Important agronomic and morphological traits, such as flag leaf length and width, spike length, plant height, the number of plants per plot, the number of spikes, the number of tillers, the number of seeds per spike, seed weight, and seed yield, were measured during the growing season. Fernandez's drought tolerance index was calculated for all cultivars and analyzed along with other characteristics. The markers obtained from the ISSR primers for the DNA of each cultivar were evaluated, and their scores were analyzed in the laboratory. Necessary statistical analyses, such as analysis of variance, comparison of means, mean comparisons with the LSD test, and cluster analysis, were performed in SAS software. Analyses related to polymorphic marker bands and Nei and Shannon gene indices were performed in POPGEN and NTSYS software.

**Results:** The results of the analysis of the variance of wheat cultivars showed a significant difference at the probability level of 1 or 5% in all aspects of all measured agronomic characteristics. It confirmed the good choice of the genotypes in terms of type, agronomic characteristics, adaptability, and their origin, which correctly realized the study of variation and grouping of genotypes as the main objective of the study. The highest seed yield in irrigated conditions belonged to cultivars Karkheh, Behrang, and Arta, and in rainfed conditions belonged to s-87-18, Baz, and Zagros. Cultivars Karon, Maron, Ohari, s-87-18, and Zagros showed relatively similar performance under both irrigated and rainfed conditions.

According to the Fernandez index, cultivars Karkheh, S-87-18, Bahar, Chamran, Arta, Pasteur, Baz, Wibil, Behrang, Nik-Nejad, and Hirmand showed the highest tolerance, and Maron, Kavir, Fang-Chen, Zagros, and Gonbad displayed the lowest tolerance to water stress. These values can be directly used as a criterion for selecting high-yielding cultivars under water stress conditions.

Cluster analysis of cultivars based on agronomic traits in both stress and non-stress conditions produced three distinct clusters. In the water stress conditions, cluster 1 included two cultivars (s-87-18 and Gohar), and cluster 2 consisted of three cultivars (Maron, Kavir, and Fang Chen). The other 29 cultivars of this study were placed in cluster 3. According to the drought tolerance index value, it could be stated that cluster 1 included drought-tolerant cultivars, cluster 2 included



cultivars sensitive to drought stress, and cluster 3 comprised moderate cultivars. The difference in the result of clustering under stress conditions compared to non-stress conditions can be attributed to the effect of drought stress on morphological traits, and in other words, to the different responses of these cultivars in the face of drought. ISSR primers produced a total of 128 bands with an average polymorphism percentage of 93.27% for the 11 used primers. In other words, each primer produced an average of 11.69 bands, and an average PIC index of 0.28 was obtained in the primers used. The Nei and Shannon index values for the studied population were calculated at 0.26 and 0.41, respectively. Cluster analysis based on ISSR data showed that, except for Maron, the other cultivars were separated into three distinguished clusters.

**Conclusion:** In general, the results showed a significant genetic variation in the studied population, making it possible to select cultivars with higher tolerance to water stress or cultivation in rainfed conditions. Fortunately, since the studied cultivars are improved and are being cultivated, their direct use or gene transfer for projects will be easier and faster to increase wheat yield in water stress conditions.

**Keywords:** Cluster, Dendrogram, Drought, Fernandez, Yield

**How to Cite This Article:** Hesam, A., Pahlevani, M. H., Zenalinezhad, Kh., & Esmailzadeh Moghaddam, M. (2026). Investigating the Genetic Diversity of Different Wheat Cultivars based on ISSR Markers and Morphological Traits under Water Stress Conditions. *J Crop Breed*, 18(1), 1-15. DOI: 10.61882/jcb.2026.1471



## مقاله پژوهشی

## بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف گندم بر مبنای نشانگرهای ISSR و صفات مورفولوژیک تحت شرایط تنش کم‌آبی

عادلہ حسام<sup>۱</sup>، محمدهادی پهلوانی<sup>۱</sup>، خلیل زینلی نژاد<sup>۳</sup> و محسن اسماعیل‌زاده مقدم<sup>۴</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- استاد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: hpahlavani@yahoo.com)

۳- استادیار اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۴- استاد اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات تهیه نهال و بذر، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۹

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۷  
صفحه ۱ تا ۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۵

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** پرهیز از وقوع تنش‌های محیطی و خسارات آنها بر تولید محصولات زراعی و همچنین پی‌آمدهای روزافزون تغییر اقلیم، متخصصین به‌نژادی گیاهی را بر آن داشته است تا با دست‌ورزی‌های ژنتیکی بی‌وقفه تولیدکنندگان ارقام را در مقابله با این مضامات یاری نمایند. کم‌آبی مهمترین تنش غیرزیستی است که زراعت و تولید گندم را مورد تهدید قرار می‌دهد. در این تحقیق، جامعه‌ای از ارقام گندم تحت شرایط آبی و دیم کشت شد تا واکنش آنها در مواجهه با تنش کم‌آبی مورد تمایز قرار گیرد و میزان تنوع ژنتیکی موجود در این ارقام از نظر تحمل به تنش کم‌آبی، صفات زراعی و نشانگرهای ISSR سنجیده شود.

**مواد و روش‌ها:** آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با ۳۴ رقم گندم نان در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط کشت آبی (بدون تنش) و کشت دیم (تنش کم‌آبی) انجام شد. جامعه مورد بررسی ژرم‌پلاسما متحمل و مقاوم به کم‌آبی از گندم بودند که از نظر کشت و کار در نواحی گوناگون ایران رایج هستند. در فصل رشد و نمو، صفات زراعی و مورفولوژیک مهم نظیر طول و عرض برگ پرچم، طول خوشه، ارتفاع بوته، تعداد بوته در کرت، تعداد خوشه، تعداد پنجه، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه و عملکرد دانه اندازه‌گیری شدند. شاخص تحمل به خشکی فرناندز برای کلیه ارقام محاسبه و همراه با سایر خصوصیات مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نشانگرهای حاصل از آغازگرهای ISSR برای DNA هر رقم بررسی و امتیازات آنها تجزیه و تحلیل شدند. سپس، تجزیه‌های آماری لازم همانند تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD و تجزیه کلاستر با استفاده از نرم‌افزار SAS (Ver. 9) و تحلیل‌های مرتبط با نوارهای نشانگری چندشکل و شاخص‌های ژنی نئی و شانون در نرم‌افزارهای POPGEN و NTSYS انجام شدند.

**یافته‌ها:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس ارقام گندم از نظر تمام خصوصیات زراعی مورد اندازه‌گیری تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد نشان دادند. این نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی در جامعه مورد بررسی و همچنین تاییدی بر حسن انتخاب ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر نوع، خصوصیات زراعتی، سازگاری و منشاء بودند که ارزیابی تنوع و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها که هدف اصلی مطالعه بودند را به درستی محقق نمود. بالاترین میزان عملکرد دانه در شرایط آبیاری متعلق به ارقام کرخه، بهرنگ و آرتا و در شرایط دیم متعلق به s-87-18، باز و زاگرس بود. همچنین ارقام کارون، مارون، اوهارو، s-87-18 و زاگرس عملکردهای نسبتاً مشابهی را تحت هر دو شرایط آبیاری و دیم نشان دادند. بر اساس مقادیر شاخص فرناندز، کرخه، s-87-18، بهار، چمران، آرتا، پاستور، باز، ویبیل، بهرنگ، نیک‌نژاد، و هیرمند بیشترین و ارقام مارون، کویر، فانگ‌چن، زاگرس، و گنبد کمترین مقدار تحمل به تنش کم‌آبی را به خود اختصاص دادند. این مقادیر را می‌توان مستقیماً به‌عنوان معیاری برای گزینش ارقام متحمل به کم‌آبی به کار گرفت.

تجزیه کلاستر ارقام بر مبنای خصوصیات زراعی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش سه گروه متمایز ایجاد نمود. در شرایط تنش، گروه ۱ شامل دو رقم (s-87-18 و گهر) و گروه ۲ شامل سه رقم (مارون، کویر و فانگ‌چن) بودند. ۲۹ رقم دیگر این مطالعه در گروه ۳ جای گرفتند. با توجه به مقدار شاخص تحمل به خشکی، می‌توان بیان نمود که گروه ۱ شامل رقم‌های متحمل به خشکی، گروه ۲ شامل ارقام حساس به تنش کم‌آبی و گروه ۳ از نظر تحمل خشکی در حد متوسط بودند. تفاوت نتیجه گروه‌بندی در شرایط تنش در مقایسه با شرایط بدون تنش را می‌توان به تاثیر تنش کم‌آبی بر صفات مورفولوژیک و به‌عبارت دیگر به واکنش متفاوت این ارقام در مواجهه با کم‌آبی منسوب نمود. آغازگرهای ISSR در مجموع ۱۲۸ باند با میانگین درصد چندشکلی ۹۳/۲۷ درصد را برای ۱۱ آغازگر مورد استفاده تولید نمودند. به‌عبارت، هر آغازگر به‌طور متوسط ۱۱/۶۹ باند تولید نمود و میانگین شاخص PIC در آغازگرهای مورد استفاده برابر ۰/۲۸ بود. مقادیر شاخص نئی و شانون برای جامعه مورد مطالعه به ترتیب ۰/۲۶ و ۰/۴۱ و محاسبه گردیدند. تجزیه کلاستر بر مبنای داده‌های ISSR نشان داد که به استثنای مارون، سایر ارقام در سه گروه مجزا تفکیک شدند.

**نتیجه‌گیری:** به‌طور کلی نتایج نشان می‌دهند که تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی در جامعه مورد مطالعه وجود دارد که امکان گزینش ارقامی با قابلیت تحمل بالاتر به کم‌آبی و یا کشت در شرایط دیم را فراهم می‌سازد. چون ارقام مورد بررسی اصلاح شده و در حال کشت هستند، استفاده مستقیم یا انتقال ژن از آنها برای پروژه‌های افزایش عملکرد گندم در شرایط کم‌آبی، ساده‌تر و با سرعت بالاتری صورت خواهد پذیرفت.

**واژه‌های کلیدی:** آغازگر، خشکی، عملکرد، فرناندز، کلاستر

## مقدمه

گندم‌های اولیه اساساً حاصل انتخاب کشاورزان از توده‌های محلی مورد کشت بودند، که احتمالاً به دلیل عملکرد بالاتر در کنار صفات ظاهری-زراعتی دیگر گزینش می‌شدند (Khodabandeh, 2005). از کل گندم تولیدی سالانه جهان، حدود ۷۵ درصد آن برای تهیه نان، ۱۵ درصد برای مقاصد صنعتی و ۱۰ درصد به‌عنوان بذر برای کاشت مورد مصرف قرار می‌گیرد (Khodabandeh, 2005). امروزه، گندم به‌دلیل تنوع

دانه گندم حدود نیمی از کالری مورد نیاز بدن انسان را تأمین می‌کند و منبع ارزشمندی از پروتئین محسوب می‌گردد (Khodabandeh, 2005). دامنه کشت و کار گندم به‌دلیل انعطاف‌پذیری زیاد ژنتیکی گونه‌ای آن بسیار گسترده است. زراعت این گیاه در حدود ۹ هزار سال پیش، با ظهور گونه هگزاپلوئید آن آغاز گردید (Khodadadi et al., 2022).

ارقام، دامنه کشت و کار، سهولت عملیات کاشت، داشت و برداشت و تقاضای زیاد مصرف‌کنندگان، به یکی از محصولات رایج کشاورزی در سرتاسر دنیا تبدیل شده است. با این حال، همانند سایر محصولات زراعی، تنش‌های زنده و غیر زنده مهمترین عامل محدودکننده کشت و ایجاد خسارت در محصول گندم به حساب می‌آیند (Sadegh Ghol Moghadam *et al.*, 2020; Tehseen *et al.*, 2022; Zahravi *et al.*, 2021). برآوردهای وزارت کشاورزی نشان می‌دهند که از ابتدای سال زراعی ۱۴۰۱ تاکنون، خسارت خشکسالی در ۱۱ میلیون هکتار اراضی کشاورزی ایران نزدیک به ۶۷ هزار میلیارد تومان بوده است (Jihad-e-Keshavarzi Report, 2022). بر اساس این گزارش، ۴۳ درصد از این خسارت مربوط به افت تولیدات بخش زراعی بوده است.

تنش کم‌آبی زمانی اتفاق می‌افتد که میزان آب جذب شده توسط گیاه نمی‌تواند میزان آب تعریق شده از آن را جبران نماید و رشد و نمو گیاه کند شده، نسبت به حالت معمول کاهش می‌یابد و اصطلاحاً گفته می‌شود که گیاه تحت تاثیر تنش کم‌آبی قرار دارد (Tehseen *et al.*, 2022). اگرچه تلاش زیادی توسط محققین برای درک و تجزیه و تحلیل ماهیت تحمل گیاهان نسبت به خشکی صورت گرفته است، ولی موفقیت در این امر محدود بوده است (Kamara *et al.*, 2022). در کشاورزی مدرن، استفاده گسترده از لاین‌های خالص به‌عنوان رقم زراعی موجب کاهش یافتن تنوع ژنتیکی و پایین آمدن کارایی روش‌های اصلاحی برای بهبود عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن گردیده است (Mohammadi *et al.*, 2002). نتایج مطالعاتی که اخیراً روی گندم انجام شده‌اند وجود تنوع ژنتیکی و واکنش متفاوت ارقام و ژنوتیپ‌های گندم در مواجهه با سطوح متنوع تنش کم‌آبی را نشان می‌دهند (Duvnjak *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2020; Sofalian *et al.*, 2009). دستاورد مهم دیگر این تحقیقات که می‌تواند در تعریف اهداف اصلاحی برای متخصصین اصلاح این گیاه مفید باشد این است که تنش کم‌آبی تقریباً کلیه جنبه‌های رشدی گندم از جنبه‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و آناتومی گیاه را در تمام مراحل رشدی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Kamara *et al.*, 2022; Khodadadi *et al.*, 2022).

نقش اثبات شده‌ی ژن‌ها در کنترل تمام این جنبه‌های رشد و نمو گیاه، موجب استفاده از نشانگرهای مولکولی در کنار صفات ظاهری بوته در مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع و همچنین ارزیابی واکنش ارقام گیاهی به تنش کم‌آبی گردیده است. در این بین، ریزماهورها به‌دلایل چندین ویژگی از جمله چندشکلی بالا، توارث‌پذیر بودن و فراوانی وقوع در گیاهان، نشانگرهای ایده‌آلی برای دامنه‌ی وسیعی از تحقیقات همانند بررسی تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به‌کمک نشانگر و مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی به‌کار گرفته می‌شوند (Tehseen *et al.*, 2022). در یک نمونه از این گونه مطالعات، تنوع ژنتیکی یک جامعه ۳۹ تایی از گندم‌های شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفت و دندروگرام حاصل از گروه‌بندی این نشانگرها اطلاعات بارزشی را در خصوص فاصله ژنتیکی نمونه‌ها ارائه داد

نقش اثبات شده‌ی ژن‌ها در کنترل تمام این جنبه‌های رشد و نمو گیاه، موجب استفاده از نشانگرهای مولکولی در کنار صفات ظاهری بوته در مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع و همچنین ارزیابی واکنش ارقام گیاهی به تنش کم‌آبی گردیده است. در این بین، ریزماهورها به‌دلایل چندین ویژگی از جمله چندشکلی بالا، توارث‌پذیر بودن و فراوانی وقوع در گیاهان، نشانگرهای ایده‌آلی برای دامنه‌ی وسیعی از تحقیقات همانند بررسی تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به‌کمک نشانگر و مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی به‌کار گرفته می‌شوند (Tehseen *et al.*, 2022). در یک نمونه از این گونه مطالعات، تنوع ژنتیکی یک جامعه ۳۹ تایی از گندم‌های شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفت و دندروگرام حاصل از گروه‌بندی این نشانگرها اطلاعات بارزشی را در خصوص فاصله ژنتیکی نمونه‌ها ارائه داد

تنش کم‌آبی زمانی اتفاق می‌افتد که میزان آب جذب شده توسط گیاه نمی‌تواند میزان آب تعریق شده از آن را جبران نماید و رشد و نمو گیاه کند شده، نسبت به حالت معمول کاهش می‌یابد و اصطلاحاً گفته می‌شود که گیاه تحت تاثیر تنش کم‌آبی قرار دارد (Tehseen *et al.*, 2022). اگرچه تلاش زیادی توسط محققین برای درک و تجزیه و تحلیل ماهیت تحمل گیاهان نسبت به خشکی صورت گرفته است، ولی موفقیت در این امر محدود بوده است (Kamara *et al.*, 2022). در کشاورزی مدرن، استفاده گسترده از لاین‌های خالص به‌عنوان رقم زراعی موجب کاهش یافتن تنوع ژنتیکی و پایین آمدن کارایی روش‌های اصلاحی برای بهبود عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن گردیده است (Mohammadi *et al.*, 2002). نتایج مطالعاتی که اخیراً روی گندم انجام شده‌اند وجود تنوع ژنتیکی و واکنش متفاوت ارقام و ژنوتیپ‌های گندم در مواجهه با سطوح متنوع تنش کم‌آبی را نشان می‌دهند (Duvnjak *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2020; Sofalian *et al.*, 2009). دستاورد مهم دیگر این تحقیقات که می‌تواند در تعریف اهداف اصلاحی برای متخصصین اصلاح این گیاه مفید باشد این است که تنش کم‌آبی تقریباً کلیه جنبه‌های رشدی گندم از جنبه‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و آناتومی گیاه را در تمام مراحل رشدی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Kamara *et al.*, 2022; Khodadadi *et al.*, 2022).

نقش اثبات شده‌ی ژن‌ها در کنترل تمام این جنبه‌های رشد و نمو گیاه، موجب استفاده از نشانگرهای مولکولی در کنار صفات ظاهری بوته در مطالعه تنوع ژنتیکی جوامع و همچنین ارزیابی واکنش ارقام گیاهی به تنش کم‌آبی گردیده است. در این بین، ریزماهورها به‌دلایل چندین ویژگی از جمله چندشکلی بالا، توارث‌پذیر بودن و فراوانی وقوع در گیاهان، نشانگرهای ایده‌آلی برای دامنه‌ی وسیعی از تحقیقات همانند بررسی تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به‌کمک نشانگر و مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی به‌کار گرفته می‌شوند (Tehseen *et al.*, 2022). در یک نمونه از این گونه مطالعات، تنوع ژنتیکی یک جامعه ۳۹ تایی از گندم‌های شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفت و دندروگرام حاصل از گروه‌بندی این نشانگرها اطلاعات بارزشی را در خصوص فاصله ژنتیکی نمونه‌ها ارائه داد

### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و در دو بخش انجام شد. در بخش اول، ارقام مختلف گندم برای صفات زراعی و مورفولوژیک از جمله عملکرد دانه تحت شرایط تنش و بدون تنش کم‌آبی در مزرعه مورد تحقیق قرار گرفتند و در بخش دوم تنوع ژنتیکی آنها با استفاده از نشانگرهای ISSR در آزمایشگاه ارزیابی گردید.

جامعه مورد بررسی شامل ۳۴ رقم گندم نان از ژرم‌پلاسم متحمل و مقاوم به کم‌آبی بودند (جدول ۲). آزمایش مزرعه‌ای مقایسه ارقام در دو شرایط کشت آبی (بدون تنش) و دیم (تنش کم‌آبی) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر کرت آزمایشی شامل ۶ خط ۱ متری با فاصله بین خطوط ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد تا تراکم کشت ۳۰۰ بذر

(۷۲ درجه سانتیگراد، ۲ دقیقه)، چرخه (۳۵ بار تکرار)، بسط نهایی (۷۲ درجه سانتیگراد، ۷ دقیقه)، نگهداری (۴ درجه سانتیگراد، ۶۰ دقیقه) بود. آغازگرها توسط شرکت Metabion International AG ساخته شدند. پس از آشکارسازی محصولات PCR با رنگ اتیدیوم بروماید روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، الگوی باندهای چندشکل روی دستگاه ژل داکيومنت، به صورت یک (حضور) و ۰ (عدم حضور) امتیازبندی و در نرم افزار Excel ثبت شد. تعداد و درصد نوارهای چندشکل، میزان تنوع ژنی نئی، شاخص تنوع شانون، متوسط تعداد آلل مشاهده شده و متوسط آلل مؤثر محاسبه و تحلیل شدند. تجزیه داده‌های مولکولی در نرم افزارهای POPGEN و NTSYS صورت گرفت.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس مرکب ارقام گندم تحت دو شرایط تنش کم‌آبی و بدون تنش برای صفات عملکرد دانه، وزن دانه، تعداد دانه در خوشه، تعداد خوشه، تعداد پنجه، تعداد بوته، ارتفاع بوته، طول خوشه، عرض و طول برگ پرچم انجام شد (جدول ۱). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان دادند که ارقام از نظر عملکرد دانه، تعداد دانه در خوشه، تعداد پنجه، تعداد بوته، ارتفاع بوته، طول خوشه، عرض و طول برگ پرچم در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری داشتند و برای وزن دانه، در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. مشاهده‌ی چنین نتایجی برای جامعه مورد بررسی چندان دور از انتظار نبود، زیرا ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر نوع، خصوصیات زراعتی، سازگاری و منشاء بسیار متنوع هستند تا ارزیابی تنوع و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها که هدف اصلی این تحقیق هستند به خوبی برآورده شوند. همچنین، وجود این تغییرپذیری ژنوتیپی در جامعه پیش‌نیاز و لازمه تجزیه و تحلیل دقیق و هرگونه اقدام اصلاحی کارآمد بعدی است. همان گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، اثر متقابل تنش‌آبی × رقم برای همه صفات مورد ارزیابی (به استثنای طول برگ پرچم) معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین ارقام نیز نشان دادند که در شرایط تنش کم‌آبی، رقم باز و لاین S-87-18 و در شرایط بدون تنش، ارقام کرخه و آرتا بالاترین عملکرد دانه را دارا بودند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند).

در هر مترمربع باشد. در مراحل رشد و نمو، صفات زراعی و مورفولوژیک مهم نظیر طول و عرض برگ پرچم، طول خوشه، ارتفاع بوته، تعداد بوته در کرت، تعداد خوشه، تعداد پنجه، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه (وزن ۳۰۰ دانه بر حسب گرم) و عملکرد دانه (گرم در کرت) اندازه‌گیری شدند. برای صفات عرض برگ، طول برگ، طول خوشه و ارتفاع بوته، تعداد پنج نمونه در هر واحد آزمایشی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. با استفاده از عملکرد دانه ارقام تحت دو شرایط مورد استفاده، مقدار شاخص تحمل به خشکی (STI یا شاخص فرناندز) محاسبه شد (Fernandez, 1992):

$$STI = \frac{(Y_P)(Y_S)}{(\bar{Y}_P)^2}$$

در رابطه فوق، مقادیر  $(Y_P)$ ،  $(Y_S)$  و  $(\bar{Y}_P)$  به ترتیب بیانگر عملکرد ژنوتیپ در محیط بدون تنش، عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در محیط دارای تنش و میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در محیط بدون تنش هستند. طبق این رابطه، ژنوتیپ‌هایی که STI بالاتری نشان دهند، به عنوان ژنوتیپ متحمل‌تر در نظر گرفته می‌شوند. تجزیه و تحلیل داده‌ها و محاسبات مربوط به تجزیه واریانس مرکب و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در نرم‌افزار SAS (Ver. 9) انجام شدند. گروه‌بندی ارقام به روش UPGMA و تعیین مکان خط برش با استفاده از آماره (SAS cubic clustering criterion یا CCC) در نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

استخراج DNA با روش دوپیل و دوپیل (Doyle & Doyle, 1990) برای ارزیابی مولکولی جامعه با نمونه‌گیری از بافت برگ‌ها (در مرحله ۳ برگچه‌ای) از مزرعه و سپس انتقال آنها به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد روی دستگاه الکتروفورز افقی (شرکت Bio Rad) انجام گردید. ۱۱ آغازگر تصادفی ISSR برای تکثیر قطعات در واکنش زنجیره پلی‌مراز (PCR) به کار گرفته شدند. مشخصات و توالی این آغازگرها به همراه دمای اتصال آنها، در جدول ۳ آورده شده‌اند. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر حاوی ۵۴ چاهک در حجم ۱۲/۵ الی ۱۵ میکرولیتر انجام گردید. واکنش PCR شامل مراحل واسرشت‌سازی اولیه (۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۷ دقیقه)، واسرشت‌سازی (۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه)، اتصال (در دمای اتصال آغازگر، ۴۵ ثانیه)، سنتز و بسط

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس مرکب خصوصیات مورفولوژیک و زراعی ارقام گندم تحت دو شرایط مختلف تنش کم آبی (کشت آبی و دیم)  
 Table 1. Results of the combined analysis of variance for morphological and agronomic characteristics of wheat cultivars under two water stress conditions (irrigated and rainfed cultivation)

ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation	کل Total	خطای ۲ Error 2	تنش آبی × رقم Water stress × cultivar	رقم Cultivar	خطای ۱ Error 1	تنش آبی Water stress	منبع تغییرات Source of variation
—	203	132	33	33	4	1 <sup>†</sup>	درجه آزادی Degree of freedom
18.89	892731.27	288.34	2826.16*	8745.63**	16704.03	62784.78	عملکرد دانه Grain yield
16.43	1450.99	2.49	9.03*	18.94*	2.30	189.87	وزن دانه Seed weight
34.88	129909.89	222.94	987.27**	1433.12**	46.98	204.20	تعداد دانه در خوشه Number of seed per spike
20.83	852732.50	2251.00	3769.38**	6115.02**	17681.33	15859.82	تعداد خوشه Number of spike
20.53	527.87	1.65	3.53*	5.32**	4.01	1.17	تعداد پنجه Number of tiller
17.11	16234.83	40.32	93.56**	106.87**	109.80	3856.71	تعداد بوته Number of plant
6.36	86501.95	20.26	128.31**	1236.21**	149.42**	634.83**	ارتفاع بوته Plant height
13.38	3297.22	1.69	6.20**	32.73**	9.28	25.45*	طول خوشه Spike length
15.26	98.04	0.06	0.16**	0.43**	0.69	3.59*	عرض برگ Leaf width
13.14	16329.43	9.65	26.61	118.45**	44.73	237.29*	طول برگ Leaf length

\* and \*\*: significant at the 5 and 1 percent levels, respectively.

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطوح ۵ و ۱ درصد.

†: برای صفات عرض برگ، طول برگ، طول خوشه و ارتفاع بوته، درجه آزادی منابع تغییرات شامل تنش آبی، خطای ۱، رقم، تنش آبی × رقم، خطای ۲ و کل به ترتیب برابر با ۱، ۴، ۳۳، ۳۳، ۱۱۵۲ و ۱۲۲۳ بودند.

†: For leaf width, leaf length, spike length, and plant height traits, the degrees of freedom of sources of variation, including water stress, error 1, number, water stress × number, error 2, and total, were equal to 1, 4, 33, and 33, 1152, and 1223, respectively.

مستقیمی برای آن وجود ندارد، شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و یا مقاوم معمولاً با کارائی پایینی صورت می‌گیرد (Takeda & Matsuoka, 2008). سایر آزمایشات روی گندم نیز نشان دادند که شاخص STI به دلیل داشتن همبستگی مثبت و معنی دار با عملکرد دانه در دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و پر محصول برای هر دو شرایط محیطی کارایی داشتند (Shafazadeh *et al.*, 2004). در گندم دوروم نیز مشخص گردید که شاخص STI با عملکرد دانه در محیط دارای تنش و بدون تنش همبستگی مثبت و بالایی داشت و به عنوان مناسب‌ترین شاخص برای تفکیک و شناسایی رقم‌های حساس و متحمل قابل توصیه بود (Sadeghzadeh Ahari, 2006). در کلزا نیز شاخص STI در غربال ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی از سایر شاخص‌ها موفق‌تر عمل نمود (Kakaei *et al.*, 2012).

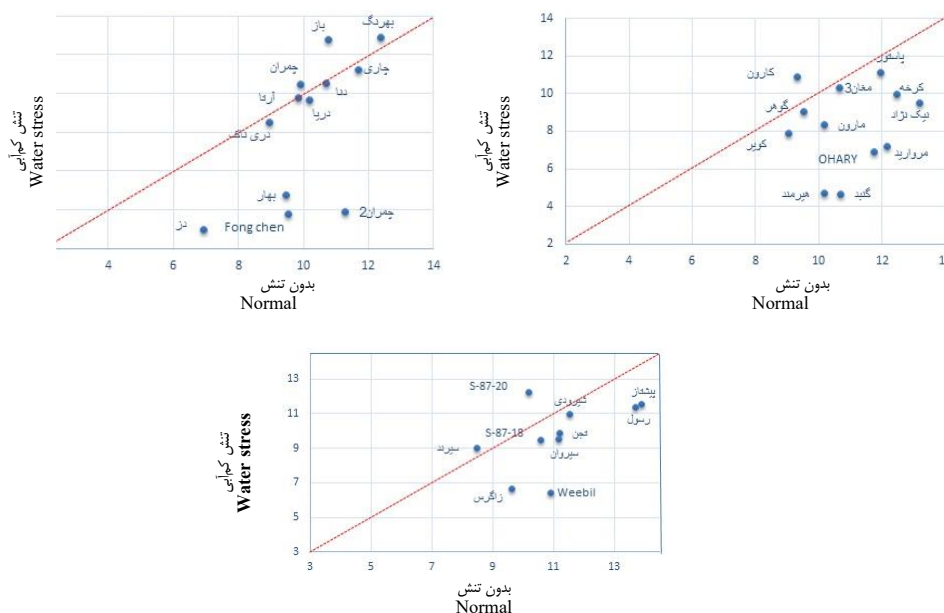
به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل‌تر به تنش کم آبی، شاخص تحمل فرناندز ارقام محاسبه گردید (جدول ۲). در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ارقام کرخه، S-87-18، بهار، چمران، آرتا، پاستور، باز، ویبیل، بهرنگ، نیک‌نژاد، هیرمند بیشترین و ارقام مارون، کویر، فانگ‌چن، زاگرس، گنبد کمترین مقدار شاخص تحمل به تنش (STI) را به خود اختصاص دادند. در سال ۱۹۹۲، شاخص تحمل به تنش (STI) توسط فرناندز معرفی گردید تا به عنوان معیاری برای گزینش ارقام پرتولید تحت شرایط تنش کم آبی به کار گرفته شود (Fernandez, 1992). طبق تعریف، مقادیر بالای این شاخص نشان‌دهنده تحمل زیاد به تنش و عملکرد بالقوه زیاد در هر دو شرایط تنش و فاقد تنش کم آبی هستند. تحمل، مقاومت و یا انواع دیگر واکنش گیاهان در مقابل تنش کم آبی صفاتی چندبعدی، پیچیده و از لحاظ ژنتیکی کمی است و چون روش اندازه‌گیری

جدول ۲- مقادیر شاخص تحمل به کم آبی فرناندز برای ارقام گندم نان به همراه مقادیر عملکرد در شرایط کشت دیم و کشت آبی  
 Table 2. The Fernandez stress tolerance index values for bread wheat cultivars along with yield values under rainfed and irrigated conditions

شاخص فرناندز Fernandez index	عملکرد آبیاری Irrigation yield	عملکرد دیم Rainfed yield	ارقام Cultivars	شاخص فرناندز Fernandez index	عملکرد آبیاری Irrigation yield	عملکرد دیم Rainfed yield	ارقام Cultivars
0.49	229.25	196.34	Kavir	1.13	370.26	278.85	Arta
0.33	170.22	176.23	Maroon	1.22	361.73	309.29	Bahar
0.91	284.83	283.67	Moghan3	1.12	315.94	323.94	Baz
0.77	271.80	258.68	Morvarid	1.03	376.19	250.47	Behrang
1.01	340.70	271.18	Niknejad	0.87	348.41	298.06	Chamran2
0.79	265.72	273.88	Ohari	1.13	289.16	275.79	Chamran
1.12	338.15	303.59	Pastoor	0.95	317.02	256.56	Chari
0.85	331.53	253.17	Pishtaz	0.79	289.66	248.94	Darya
0.82	294.65	253.36	Rasool	0.76	286.77	243.87	Dena
1.36	350.82	354.88	S-87-18	0.76	306.83	226.49	Dorinak
0.89	273.14	298.50	S-87-20	0.90	304.25	271.69	Dez
0.97	353.89	250.37	Shiroodi	0.61	266.35	208.55	Fangchen
0.67	278.60	218.66	Sirand	0.94	311.59	276.62	Gohar
0.93	283.68	299.23	Sirvan	0.66	222.16	271.85	Gonbad
0.71	241.12	269.41	Tajan	1.01	316.18	291.19	Hirmand
1.05	346.92	277.73	Weibil	1.36	414.41	301.53	Karkhe
0.64	245.18	240.50	Zagroos	0.80	271.57	270.67	Karoon

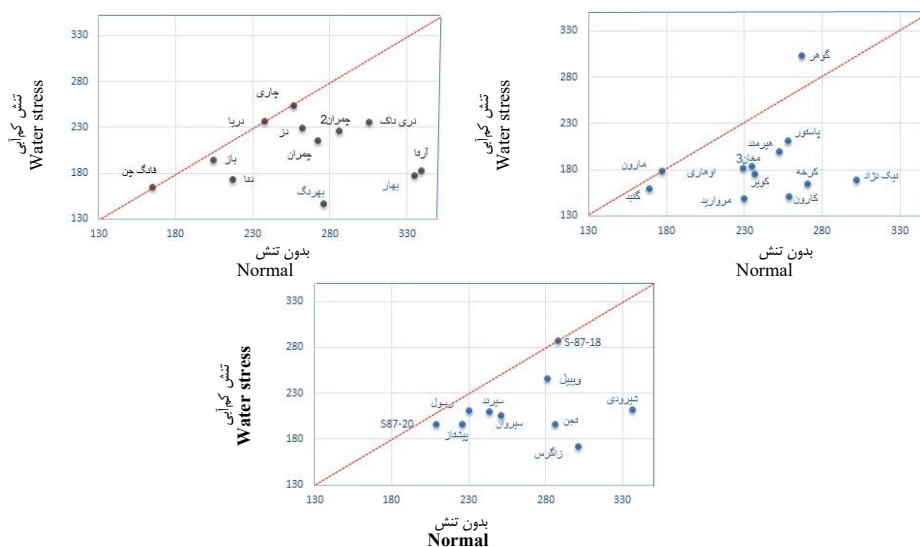
مروارید، هیرمند، پاستور، مغان ۳، اوهاری، گنبد، زاگرس، شیرودی، ویبیل، تاجن، پیشتاز و سیروان در بالای خط قرار گرفتند و ارقام دریا، چاری، فانگ‌چن، مارون و S-87-18 تقریباً روی خط قرار گرفتند که نشان‌دهنده این موضوع است که در هر دو شرایط تفاوت ناچیزی دارند. تنها رقم گهر تعداد خوشه بیشتری را در شرایط دیم به خود اختصاص داد و در قسمت بالای خط ۱:۱ قرار داشت (شکل ۲). گارسیا و همکاران (Garcia-Del Moral et al., 2003) نیز گزارش نمودند که تعداد خوشه در واحد سطح عموماً مهم‌ترین جزء عملکرد برای گندم محسوب می‌شود. این محققین همچنین نشان دادند که مجموع ماده خشک تولیدشده و در پی آن، مجموع عملکرد دانه در هکتار نیز تا تراکم ۳۷۵ خوشه در متر مربع افزایش یافت و افزایش تراکم به بیش از ۳۷۵ خوشه بوته تأثیر معنی‌داری بر عملکرد نداشت. در مطالعه حاضر نیز بیشترین تعداد خوشه برابر با ۳۳۹ و در رقم آرتا مشاهده شد (شکل ۲). زو و همکاران (Xu et al., 2023) در بررسی بر روی ۱۵۲ رقم مختلف گندم ملاحظه کردند که ارقام مقاوم عملکرد بالاتری نسبت به ارقام حساس در هر دو شرایط تنش و عدم تنش داشتند. آنها این برتری را عمدتاً ناشی از تعادل سازنده اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های گندم به‌ویژه برتری در تعداد خوشه بیان نمودند. از ۳۴ رقم مطالعه شده برای صفت عملکرد، ۲۴ رقم (بهرنگ، آرتا، بهار، چمران، چاری، دری‌ناک، فانگ‌چن، دریا، دنا، چمران ۲، کرخه، نیک‌نژاد، پاستور، گهر، شیرودی، ویبیل، پیشتاز، سیرند، رسول، زاگرس، دز، هیرمند و مروارید) در قسمت پایین خط ۱:۱ قرار گرفتند که وضعیت بهتر این ارقام را در شرایط آبیاری (بدون تنش) نشان داد (شکل ۳). هشت رقم نیز در بالای خط قرار گرفتند (باز، مارون، مغان ۳، اوهاری، گنبد، S-87-20، تاجن، سیروان) که حاکی از برتری عملکرد دانه آنها در شرایط دیم (تنش) بود. همچنین، دو رقم کارون و S-87-18 تقریباً روی خط قرار داشتند که مبنی تفاوت ناچیز در عملکرد آنها در دو شرایط رطوبتی مورد مطالعه بود (شکل ۳).

برای حصول درک عمیق‌تر از وضعیت ارقام در شرایط متفاوت رطوبتی و نوع واکنش آنها به تنش، از نمودار پراکنش میانگین صفات آنها در دو شرایط کشت دیم (تنش) و کشت آبی (بدون تنش) به همراه خط فرضی ۱:۱ استفاده گردید (اشکال ۱ تا ۳ فقط برای خصوصیات وزن دانه، تعداد خوشه و عملکرد دانه ارائه شده‌اند). همان‌طور که در اشکال مشاهده می‌شود، متغیرهای مربوط به شرایط دیم بر روی محور عمودی و متغیرهای مربوط به شرایط آبیاری بر روی محور افقی قرار گرفته‌اند. در هر نمودار، ارقامی که در بالای خط ۱:۱ قرار گرفتند در شرایط دیم و ارقامی که در زیر خط ۱:۱ قرار داشتند در شرایط آبیاری از نظر صفت مورد مطالعه برتر بودند. همچنین، ارقامی که روی خط یا در نزدیکی خط ۱:۱ قرار گرفتند تفاوت‌های ناچیزی را در دو شرایط کشت دیم و آبی نشان دادند. به‌طور کلی، ارقامی که در بالای خط ۱:۱ قرار داشتند، به عنوان متحمل به تنش کم‌آبی در نظر گرفته شدند. با توجه به ازدحام نقاط روی شکل و پرهیز از همپوشانی آنها، نمودار مربوط به هر صفت به سه گروه ارقامی تقسیم شد. از بین ۳۴ رقم مورد بررسی برای صفت وزن دانه، پنج رقم (بهرنگ، چمران، باز، کارون و S-87-20) در بالای خط ۱:۱ قرار گرفتند و رقم آرتا که بر روی خط قرار گرفت تفاوت ناچیزی را در دو شرایط نشان داد. همچنین، ۲۸ رقم باقیمانده (چمران ۲، فانگ‌چن، بهار، دز، بهار، دری‌ناک، دریا، دنا، چاری، زاگرس، ویبیل، سیروان، تاجن، رسول، پیشتاز، شیرودی، مروارید، نیک‌نژاد، گنبد، هیرمند، اوهاری، مارون، کویر، کرخه، پاستور، مغان ۳ و گهر) در قسمت پایین خط ۱:۱ قرار گرفتند که نشان‌دهنده بالا بودن وزن دانه آنها در شرایط بدون تنش (کشت آبی) است (شکل ۱). مطالعات قبلی در گندم و جو نشان داده‌اند که وزن دانه متغیری است که نسبت به سایر اجزای عملکرد کمتر تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (۱۵). تأثیر مثبت کشت آبی روی صفت تعداد خوشه طبق خط فرضی ۱:۱ نشان داد که ارقام آرتا، بهار، دری‌ناک، چمران ۲، بهرنگ، نیک‌نژاد، کرخه، کارون، کویر،



شکل ۱- بررسی واکنش‌های ارقام گندم از نظر وزن دانه در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی با استفاده از نمودار خط ۱:۱

Figure 1. Responses of wheat cultivars in terms of seed weight in non-stressed and water-stressed conditions using a 1:1 line diagram



شکل ۲- بررسی واکنش‌های ارقام از نظر تعداد خوشه در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی با استفاده از نمودار خط ۱:۱

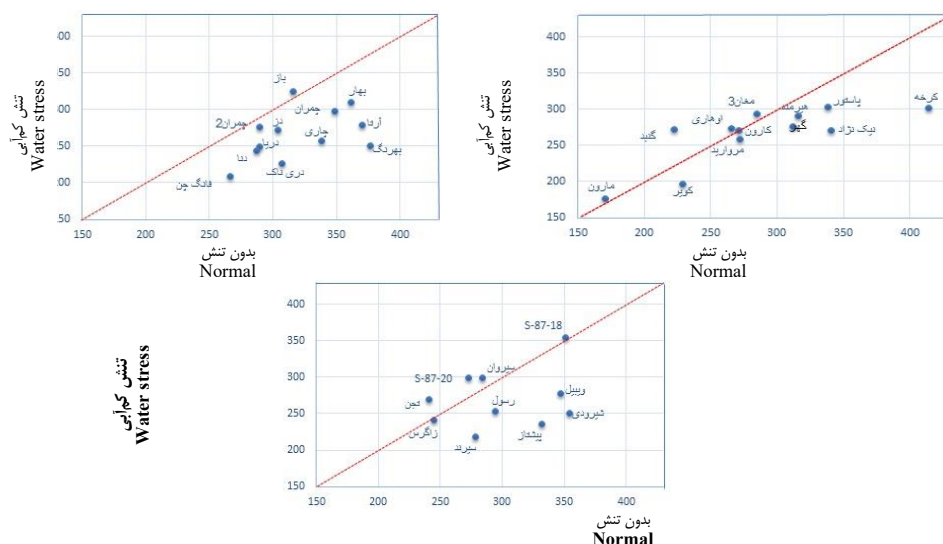
Figure 2. Responses of wheat cultivars in terms of the number of spikes in non-stressed and water-stressed conditions using a 1:1 line diagram

گروه‌های ۱ و ۳ به ترتیب شامل سه رقم (مارون، گنبد و فانگ‌چن) و پنج رقم (آرتا، بهار، شیرودی، بهرنگ و کرخه) بودند درحالی که عمده ارقام (شامل ۲۶ رقم) در گروه ۲ جای گرفتند (شکل ۴). با توجه به مقدار عملکرد دانه ارقام، می‌توان استنباط کرد که گروه ۱ شامل ارقام با عملکرد پایین، گروه ۲ شامل ارقام با عملکرد متوسط و گروه ۳ شامل ارقام با بیشترین عملکرد بودند (شکل ۴). همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در شرایط کشت دیم (تنش) نیز خط برش ارقام را در سه گروه متفاوت دسته‌بندی نمود (شکل ۵). گروه ۱ شامل دو

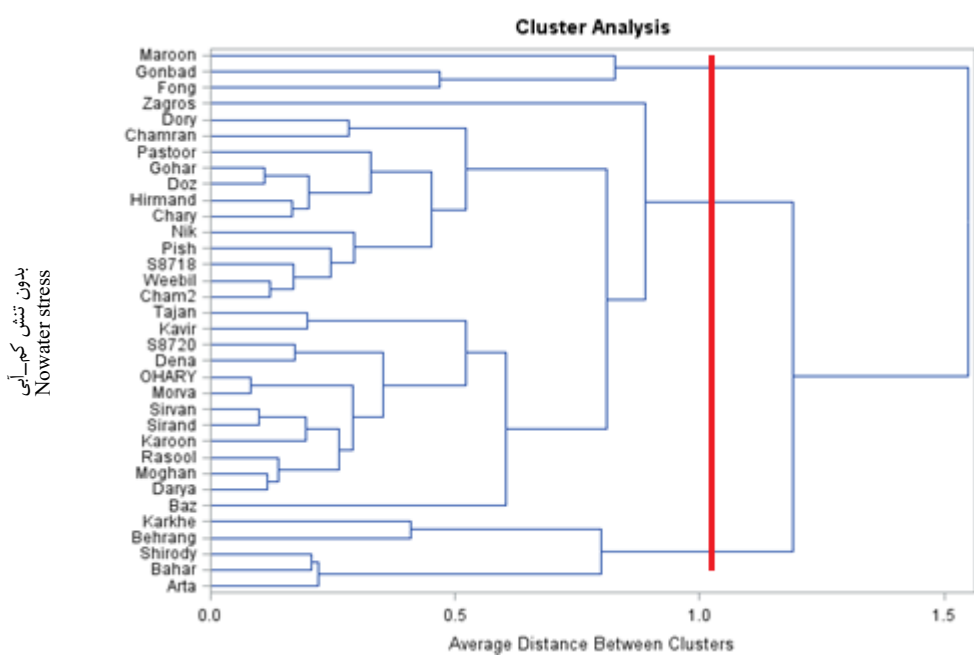
به‌منظور درک صحیح‌تر اثر تنش کم‌آبی بر میزان شباهت و فاصله ژنتیکی، گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر مبنای صفات مورفولوژیک (طول و عرض برگ پرچم، طول خوشه، ارتفاع بوته، تعداد بوته، تعداد خوشه، تعداد پنجه، وزن دانه، تعداد دانه در خوشه و عملکرد دانه) در هر یک از شرایط رطوبتی مورد آزمایش (تنش کم‌آبی و بدون تنش) به‌صورت جداگانه صورت گرفت (اشکال ۴ و ۵). همان‌طور که در دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر مشاهده می‌گردد، در شرایط بدون تنش (کشت آبی)، خط برش ارقام را در سه گروه متفاوت دسته‌بندی نمود.

کم آبی تفسیر نمود. به عنوان مثال، رقم گنبد که در شرایط بدون تنش کم آبی همراه با مارون و فانگ چن در گروه ۱ (ژنوتیپ‌های با عملکرد پایین) قرار داشت (شکل ۴) در شرایط تنش در گروه ۳ همراه با ۲۸ ژنوتیپ دیگر (ژنوتیپ‌هایی با تحمل متوسط) گروه بندی گردید (شکل ۵). به این ترتیب، تجزیه کلاستر توانست ارقام گندم را از نظر ویژگی‌های مورفولوژیک متأثر از تنش کم آبی به خوبی تفکیک نماید. بنا بر این نتایج، برای انجام پروژه‌های اصلاحی و انتخاب بسته به اینکه محیط هدف دارای تنش یا فاقد تنش کم آبی است می‌توان از هر یک از گروه‌های سه گانه در هر یک از دندروگرام‌های اشکال ۴ و ۵ بهره برد. سودمندی نتایج تجزیه کلاستر بر مبنای ترکیبی از خصوصیات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی در طبقه بندی و شناسایی گروه‌های مشابه توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (Miazzi *et al.*, 2022).

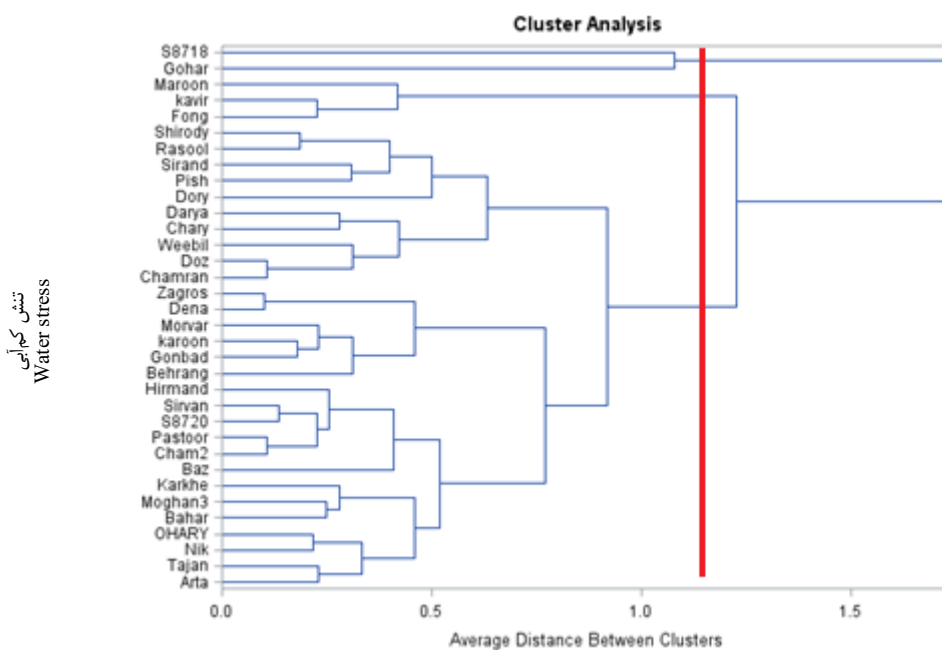
رقم (S-87-18 و گهر) و گروه ۲ شامل سه رقم (مارون، کویر و فانگ چن) بودند. ۲۹ رقم دیگر این مطالعه (شیرودی، رسول، سیرند، پیشتاز، دری ناک، دریا، چاری، ویبیل، دز، چمران و زاگرس، آرتا، تجن، نیک نژاد، اوهاری، بهار، مغان ۳، کرخه، باز، چمران ۲، پاستور، S-87-20، سیروان، هیرمند، بهرنگ، گنبد، کارون، مروارید و دنا) در گروه ۳ جای گرفتند. با توجه به مقدار شاخص تحمل به خشکی، می‌توان بیان نمود که گروه ۱ شامل رقم‌های متحمل به خشکی، گروه ۲ شامل ارقام حساس به تنش کم آبی و گروه ۳ از نظر تحمل خشکی در حد متوسط بودند (شکل ۵). از مقایسه ۲ دندروگرام شرایط تنش و بدون تنش کم آبی به راحتی می‌توان جایجایی برخی از ارقام را در دسته بندی‌های سه گانه مورد توجه قرار داد که حاکی از تغییرات مورفولوژیک آنها در پی تغییر شرایط محیطی است. این جایجایی که عمدتاً ناشی از تاثیر تنش کم آبی بر صفات مورفولوژیک است را می‌توان به واکنش این ارقام در مواجهه با



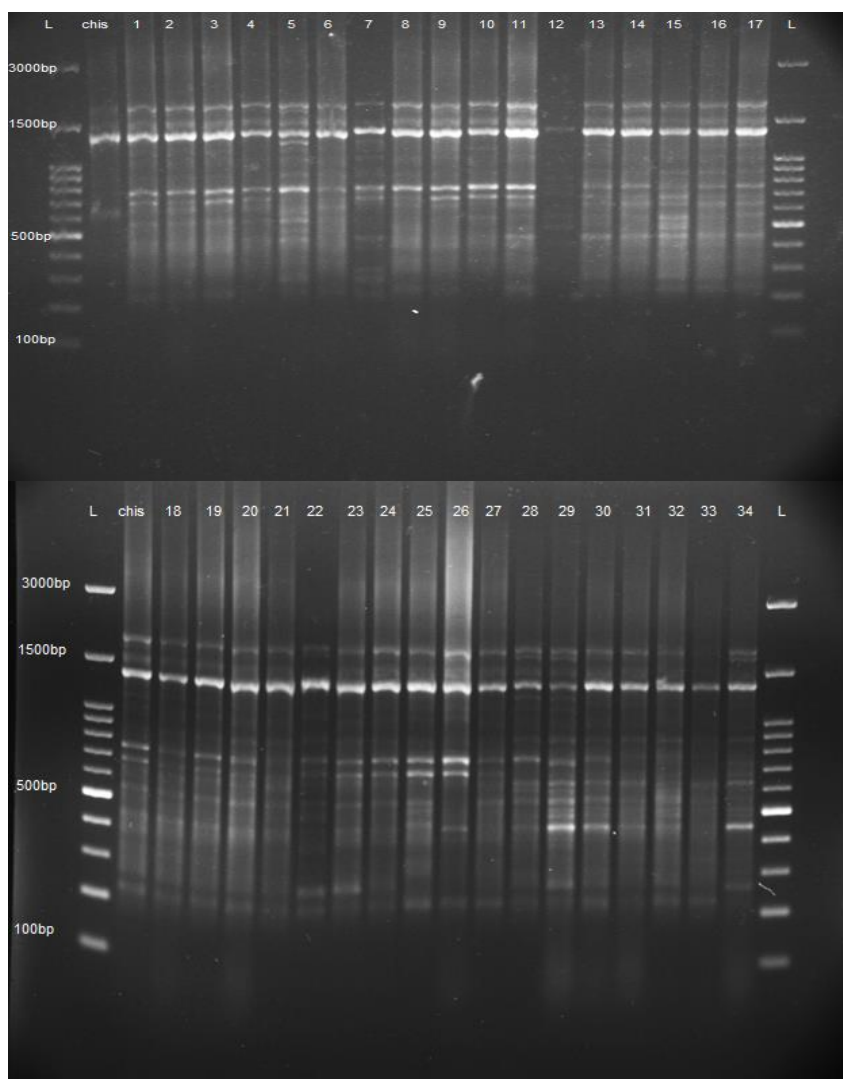
شکل ۳- بررسی واکنش‌های ارقام از نظر عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش کم آبی با استفاده از نمودار خط ۱:۱  
Figure 3. Responses of wheat cultivars in terms of seed yield in non-stressed and water-stressed conditions using a 1:1 line diagram



شکل ۴- گروه‌بندی ارقام گندم نان بر اساس صفات مورفولوژیک در شرایط بدون تنش  
Figure 4. Clustering bread wheat cultivars based on morphological traits under non-stressed conditions



شکل ۵- گروه‌بندی ارقام گندم نان بر اساس صفات مورفولوژیک در شرایط تنش کم-آبی  
Figure 5. Clustering bread wheat cultivars based on morphological traits under water stress conditions



شکل ۶- تصویر الگوی بانندی محصولات PCR آغازگر شماره ۴ برای ارقام مورد بررسی. نمونه‌های شماره ۱ تا ۱۷ (بالا) و ۱۸ تا ۳۴ (پایین) به ترتیب ارقام پیشتاز، مغان ۳، چمران ۲، رسول، کرخه، ویبیل، کارون، مروارید، سیرند، نیک‌نژاد، هیرمند، مارون، گهر، دریا، زاگرس، چمران، تاجن، دز، بهار، s-87-18، چاری، شیروودی، اوهاری، آرتا، پاستور، گنبد، s-87-20، دنا، بهرنگ، دری‌ناک، باز، سیروان، فانگ‌چن و کویر (Chis رقم شاهد چینی بهاره).

Figure 6. The image of the banding pattern of PCR products of primer number 4 for the studied cultivars. Sample numbers 1 to 17 (top) and 18 to 34 (bottom) show Pishtaz, Moghan 3, Chamran 2, Rasul, Karkheh, Wibil, Karun, Marvarid, Sirand, Nik-Nejad, Hirmand, Maron, Gohar, Darya cultivars, Zagros, Chamran, Tajen, Dez, Bahar, s-87-18, Chari, Shiroudi, Ohari, Arta, Pastor, Gonbad, s-87-20, Dena, Behrang, Dari-Nak, Baz, Sirvan, Fang-Chen, and Kavar (Chis for Chinese spring as a control)

بومی شمال غرب ایران با استفاده از نشانگر ISSR صورت گرفت، میزان باندهای چندشکل ۸۲/۲ درصد گزارش گردید (Sofalian *et al.*, 2009). میانگین شاخص PIC در آغازگرهای مورد استفاده برابر ۰/۲۸ بود و آغازگر 23-ISSR با ۰/۴۱ بیشترین و آغازگر 7-ISSR با ۰/۱۷ کمترین میزان PIC را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). PIC، محتوای اطلاعات چندشکلی، یکی از پارامترهای مهم جهت مقایسه نشانگرها از نظر قدرت تمایز آنها است. میزان PIC برای نشانگرهای غالب حداکثر ۰/۵ است و مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی و قدرت تفکیک بالای آن نشانگر دارد (Carvalho *et al.*, 2009). اگرچه این شاخص برای مقایسه دو نوع سیستم

الگوهای باندهای محصولات PCR آغازگرهای ISSR پس از آشکارسازی با رنگ اتیدیوم بروماید روی دستگاه ژل داکيومنت به صورت یک (حضور باند) و ۰ (عدم حضور باند) امتیازدهی شدند و مورد تجزیه قرار گرفتند (یک نمونه از تصاویر الگوی بانندی محصولات PCR مربوط به آغازگر ۴ در شکل ۶ ارائه شده است). در مجموع، ۱۲۸ باند با میانگین درصد چندشکلی ۹۳/۲۷ درصد برای ۱۱ آغازگر مورد استفاده تکثیر گردید (جدول ۳). به طور متوسط، هر آغازگر ۱۱/۶۹ باند تولید نمود و آغازگر 4-ISSR با ایجاد ۱۷ باند، بیشترین و آغازگر 7-ISSR با ایجاد ۵ باند کمترین تعداد باند را به خود اختصاص دادند. در مطالعه‌ای که با هدف بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های

میزان هتروزایگوتی این جمعیت پایین بود. در مطالعه حاضر، میزان شاخص شانون ۰/۴۱ به دست آمد. شاخص اطلاعات شانون یکی از روش‌های اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی است. میزان این شاخص بین صفر تا یک متغیر است و چنانچه این مقدار به صفر نزدیک باشد میزان یکنواختی ژنتیکی بیشتر و هراندازه به یک نزدیک باشد میزان تفاوت و تنوع ژنتیکی بالاتری را در جمعیت به نمایش می‌گذارد (Shannon, 1948). تعداد آلل مشاهده شده ارقام ۱/۹۵ و تعداد آلل مؤثر ۱/۴۳ به دست آمدند. در مطالعه تحسین و همکاران (Tehseen et al., 2022)، جامعه‌ای متشکل از ۶۰۰ نژاد بومی جمع‌آوری شده از هشت کشور مختلف از جمله ایران که بذور آنها در بانک ژن ICARDA نگهداری می‌شود، شاخص‌های نئی و شانون، تعداد آلل مشاهده شده و تعداد آلل مؤثر محاسبه شدند و برای ارزیابی و تفسیر تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. در مطالعه‌ای که ابوسدا و همکاران (۲۰۲۳) با استفاده از آغازگر ISSR بر روی ژنوتیپ‌های گندم انجام دادند، در مجموع ۱۵۰ باند چندشکل با محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۱۱ تا ۰/۳۶ درصد گزارش نمودند (Abouseada et al., 2023). شایان ذکر است که نحوه محاسبه و میزان PIC با شاخص تنوع ژنی نئی مشابه است و تنها در مواردی که برای هر آغازگر بیش از یک جایگاه امتیازدهی شوند این دو معیار باهم تفاوت دارند (Yadav et al., 2024).

نشانگری پیشنهاد شده است، اما معمولاً از آن برای مقایسه کارایی نسبی آغازگرها در ایجاد چندشکلی نیز استفاده می‌گردد. طبق گزارش آتس سانمزوگلو و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی ۲۷ ژنوتیپ گندم نان در مواجهه با تنش کم‌آبی با استفاده از مارکرهای SSR و ISSR، میزان پلی‌مورفیسم ۷۵/۸ درصد و متوسط محتوای اطلاعات چند شکل ۰/۵۵ محاسبه شد (Ateş-Sönmezoğlu et al., 2022). سفالیان و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای بومی گندم‌های شمال غرب ایران با استفاده از مارکر ISSR، میزان پلی‌مورفیسم را ۸۲/۲٪ گزارش کردند (Sofalian et al., 2008). در سایر مطالعات بر روی گندم، مقادیر PIC در حدود ۲۱ تا ۲۳ و یا ۳۷ تا ۴۹ درصد گزارش شدند (Goli et al., 2017; Kakaei et al., 2012). تفاوت در تعداد باندهای تولیدشده به منشأ متفاوت ژنوتیپ‌های گندم و همچنین نوع و توان آغازگرهای مورد مطالعه منسوب گردیده است.

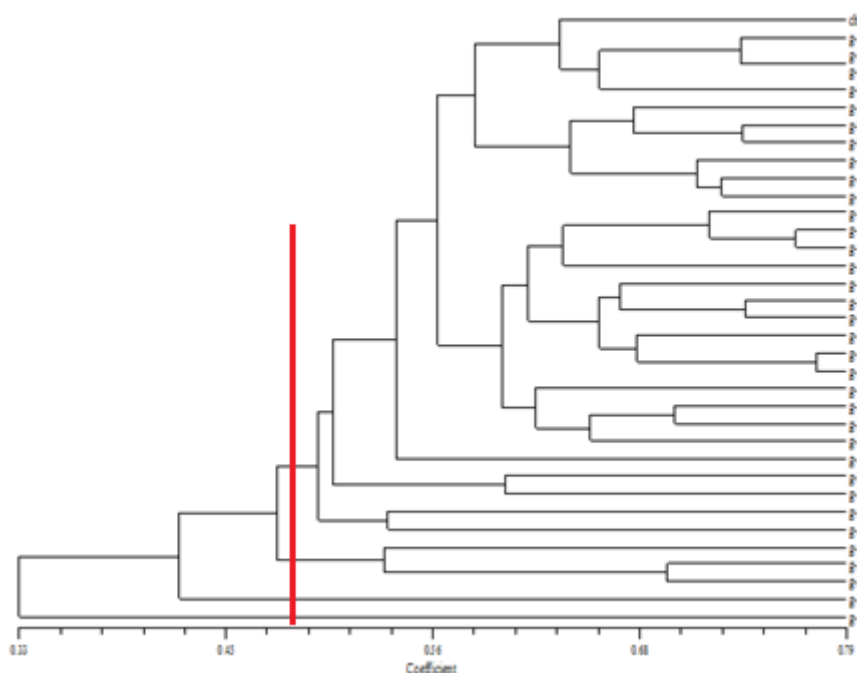
به‌منظور درک عمیق‌تر از ویژگی‌های ژنتیکی جامعه مورد بررسی، شاخص‌های نئی و شانون، تعداد آلل مشاهده شده و تعداد آلل مؤثر نشانگرها محاسبه گردیدند. شاخص تنوع ژنی نئی برای ارقام مورد مطالعه ۰/۲۶ بود. این شاخص میزان هتروزایگوسیتی را بیان می‌نماید و مقدار آن بسته به تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها بین صفر تا نیم متغیر است. هر اندازه شاخص نئی به ۰/۵ نزدیک‌تر باشد هتروزایگوسیتی در آن جمعیت بالاتر است (Nei, 1975). پس بر اساس شاخص نئی،

جدول ۳- تعداد کل باند و محتوای اطلاعات چندشکل در آغازگرهای ISSR مورد استفاده

نام آغازگر	توالی آغازگر	درصد GC	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)	تعداد باندهای تولید شده	تعداد باندهای چندشکل	درصد باندهای چندشکل (PIC)
ISSR-23	5-CACACACACACACAGT-3	50.0	51	7	6	0.41
ISSR-5	5-GTGTGTGTGTGTGTGC-3	57.9	56	13	13	0.30
ISSR-10	5-CACACACACACACAATC-3	47.4	52	13	10	0.20
ISSR-9	5-CACACACACACACAGCG-3	58.8	52	15	14	0.29
ISSR-1	5-GAGAGAGAGAGAGAATG-3	47.1	50	14	13	0.29
ISSR-3	5-CACACACACACACAGCC-3	58.8	52	9	9	0.30
ISSR-6	5-ACACACACACACACAGCG-3	57.9	56	15	13	0.31
ISSR-7	5-TGTGTGTGTGTGTGATC-3	47.4	52	5	5	0.17
ISSR-4	5-AGAGAGAGAGAGAGAGGCC-3	57.9	56	17	16	0.24
ISSR-14	5-AGAAGAGAGAGAGAGACT-3	47.4	52	10	10	0.23
ISSR-20	5-CCACTCTCTCTCTCTCT-3	51.2	56	10	10	0.40
Total			128	119		
Average			11.69	10.81		0.285

فاصله گرفتن رقم مارون از سایر ارقام هم از نظر صفات مورفولوژیک در شرایط تنش و بدون تنش و هم از نظر نشانگرهای ISSR بود (شکل‌های ۴، ۵ و ۷). مطابقت نتایج کلاسترینگ نشانگرهای ISSR با داده‌های مورفولوژیک، بار دیگر توانایی و اعتبار این نشانگر در ارزیابی تنوع ژنتیکی جوامع را به اثبات می‌رساند؛ ضمن این که می‌تواند مؤید دقت و صحت داده‌های این آزمایش نیز باشد. در مطالعه‌ای که با استفاده از نشانگر ISSR صورت گرفت، از ۹۵ نوار چندشکل مربوط به هشت آغازگر ISSR برای گروه‌بندی ۲۰ ژنوتیپ گندم استفاده شد (Abou-Deif et al., 2013). در این مطالعه، دندروگرام نمونه‌ها با روش UPGMA نشان داد که آغازگر ISSR در تشخیص و شناسایی زمینه ژنتیکی و منشأ جغرافیایی ژنوتیپ‌های گندم موفق عمل نمود (Abou-Deif et al., 2013).

تجزیه کلاستر برای گروه‌بندی ارقام برای نشانگرهای ISSR با استفاده از روش UPGMA مبتنی بر ضرایب تشابه جاکارد انجام گرفت (شکل ۷). مقدار ضریب همبستگی کوفتیک نیز ارتباط بین دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه را تایید نمود. ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر الگوی آلل‌های ISSR در چهار گروه قرار گرفتند؛ عمده ارقام در گروه اول (۳۰ رقم) جای داشتند، گروه دوم شامل دو رقم دنا و بهرنگ بود، و ارقام کارون و مارون هر یک به تنهایی در گروه‌های سوم و چهارم قرار گرفتند (شکل ۷). تعداد و ماهیت گروه‌های دندورگرمی وجود شباهت و البته تفاوت ارقام از نظر نشانگرهای ISSR را اثبات نمودند. قرارگرفتن ارقام کارون، مارون، دنا و بهرنگ در گروه‌های متفاوت نسبت به عمده ارقام، بیانگر فاصله ژنتیکی و تفاوت در ساختار ژنی آنها با سایر ارقام بود. نکته قابل توجه دیگر نتایج تجزیه کلاستر در این مطالعه،



شکل ۷- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ارقام گندم بر مبنای مارکرهای ISSR با روش UPGMA. نمونه‌های ۱ تا ۳۴ به ترتیب ارقام پشستاز، مغان ۳، چمران ۲، رسول، کرخه، ویبیل، کارون، مروارید، سیرند، نیک‌نژاد، هیرمند، مارون، گهر، دریا، زاگرس، چمران، تاجن، دز، بهار، s-87-18، چاری، شیروودی، اوهاری، آرتا، پاستور، گنبد، s-87-20، دنا، بهرنگ، دری‌ناک، باز، سیروان، فانگ‌چن و کویر (Chis رقم شاهد چینی بهار) را نشان می‌دهند.

Figure 7. The dendrogram resulting from the clustering of wheat cultivars based on ISSR markers with the UPGMA method. Samples 1 to 34 represent Pishtaz, Moghan 3, Chamran 2, Rasul, Karkheh, Wibil, Karun, Marvarid, Sirand, Niknejad, Hirmand, Maron, Gohar, Darya, Zagros, Chamran, Tajen, Dez, Bahar, s-87-18, Chari, Shiroudi, Ohari, Arta, Pastor, Gonbad, s-87-20, Dena, Bahrang, Dari-Nak, Baz, Sirvan, Fang-Chen, and Kavir, respectively (Chis for Chinese spring as a control).

مارون، اوهاری، s-87-18 و زاگرس عملکرد نسبتاً مشابهی تحت هر دو شرایط آبیاری و دیم نشان دادند. تجزیه کلاستر بر مبنای داده‌های مورفولوژیکی و ISSR نشان داد که به استثنای مارون، سایر ارقام در سه گروه مجزا تفکیک شدند. تجزیه داده‌های مولکولی نشان داد که آغازگرهای ISSR در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گندم توانمند بودند و از میان آنها آغازگر s-23-23 دارای بالاترین میزان PIC بود. در بهره‌برداری از نتایج این تحقیق، توجه به این نکته ضروری است که چون جامعه مورد بررسی ارقام اصلاح شده با سابقه کشت در مناطق مختلف هستند، به‌کارگیری مستقیم یا انتقال ژن از ارقام یادشده در بالا که احتمالاً حاوی ژن‌های مطلوب برای بهبود عملکرد دانه بویژه در شرایط کم‌آبی هستند، بسیار ساده‌تر و با سرعت بالاتر انجام خواهد گرفت.

### نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی ۳۴ رقم گندم مورد کشت در ایران و عملکرد آنها تحت دو شرایط کشت دیم و کشت آبی مورد مطالعه قرار گرفتند تا درک جامعی از پتانسیل تولید و میزان تنوع ژنتیکی در شرایط تنش کم‌آبی به دست آید. نتایج بررسی خصوصیات مورفولوژیک و شاخص‌های مبتنی بر نشانگرهای مولکولی نشان می‌دهند که تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی در جامعه ارقام گندم وجود دارد و یافتن ارقامی با قدرت تحمل بالاتر به تنش کم‌آبی و یا مناسب کشت در شرایط دیم امکان‌پذیر است. بالاترین میزان عملکرد دانه در شرایط آبیاری متعلق به ارقام کرخه، بهرنگ و آرتا و در شرایط دیم متعلق به s-87-18، باز و زاگرس بود. همچنین، ارقام کارون،

### References

- Abdollahi Mandoulakani, B., Shahnejat Bushehri, A., Tabatabaei, B., Ghannadha, M., & Omidi, M. (2002). Assessment of genetic diversity among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum*) using RAPD-PCR technique. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 2-34(3), 447-454. [In Persian]
- Abou-Deif, M.H., Rashed, M.A., Sallam, M.A.A., Mostafa, E.A.H., & Ramadan, W.A. (2013). Characterization of twenty wheat varieties by ISSR markers. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 15(2), 168-175.
- Abouseada, H.H., Mohamed, A.S.H., Teleb, S.S., Badr, A., Ibrahim, S.D., Ellmoubi, F.Y. & Ibrahim, M. (2023). Genetic diversity analysis in wheat cultivars using SCoT and ISSR markers, chloroplast DNA barcoding and grain SEM. *BMC Plant Biology*, 23(1):193. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04196-w>

- Ateş-Sönmezoglu, Ö., Çevik, E., & Terzi-Aksoy, B. (2022). Assessment of some bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought tolerance using SSR and ISSR markers. *Biotech Studies*, 31(2), 45-52. <http://doi.org/10.38042/biotechstudies.1159128>
- Carvalho, A., Lima-Brito J., Macess B., & Guedes-Pinto, H. (2009). Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. *Biochemical Genetics*, 47(3-4), 276-94. doi: 10.1007/s10528-009-9227-5. Epub 2009 Jan 31. PMID: 19184405.
- Doyle, J.J., & Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Duvnjak, J., Loncaric, A., Brkljacic, L., Samec, D., Sarcevic, H., Salopek-Sondi, B., & Spanic, V. (2023). Morpho-Physiological and hormonal response of winter wheat varieties to drought stress at stem elongation and anthesis stages. *Plants*, 12, 418. <https://doi.org/10.3390/plants12030418>
- Fernandez, G.C.J. (1992). Effective selection criteria for assessing stress tolerance. In: Kuo, C.G., Ed., Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and Other Food Crops in Temperature and Water Stress. *AVRDC Publication. Tainan*, 257-270.
- Garcia-Del Moral, L.F., Rharrabti, Y., Villegas, D. & Royo, C. (2003). Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions. *Agronomy Journal*, 95, 266-274. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.0266>.
- Goli, A., Jorjani I., Sabouri H. & Fallahi, H. (2017). Assessment of genetic diversity of facultative wheat genotypes belong to North of IRAN using ISSR markers. *Journal of Crop Breeding*. 8(20), 174-165. [In Persian]
- Jihad-e-Keshavarzi Report. (2022). <https://irma.ir/xjF4mQ>. [In Persian]
- Kakaei, M., Zebarjadi A., Mostafaie A., & Rezaeizad, A. (2012). Determination of drought tolerant genotypes in Brassica napus L. based on drought tolerance indices. *Journal of Crop Production*, 3(4), 107-124. [In Persian]
- Kamara, M.M., Rehan M., Mohamed A.M., El Mantawy R.F., Kheir A.M.S., Abd El-Moneim D., Safhi F.A., ALshamrani, S.M., Hafez, E.M., Behiry S.I., Ali, M.M.A., & Mansour, E. (2022). Genetic potential and inheritance patterns of physiological, agronomic and quality traits in bread wheat under normal and water deficit conditions. *Plants (Basel)*, 11(7), 952. doi: 10.3390/plants11070952. PMID: 35406932; PMCID: PMC9002629.
- Khodabandeh, N. (2005). Cereals. 3rd ed. Tehran University Press, Tehran, Iran. [In Persian]
- Khodadadi, Z., Omidi M., Etmian A., Ebrahimi A., & Pour-Aboughadareh, A. (2022). Molecular and physiological variability in bread wheat and its wild relative (*Aegilops tauschii* Coss.) species under water-deficit stress conditions. *BioTech*, 12(1), 3. doi: 10.3390/biotech12010003. PMID: 36648829; PMCID: PMC9844422.
- Kumar, P.K.C., Bellundagi A., Krishna H., Mallikarjuna M.G., Thimmappa R.K., Rai N., Shashikumara P., Sinha N., Jain N., Singh P.K., Singh G.P. & Prabhu, K.V. (2023). Development of bread wheat (*Triticum aestivum* L) variety HD3411 following marker-assisted backcross breeding for drought tolerance. *Frontiers in Genetics*, 14, 1046624. doi: 10.3389/fgene.2023.1046624
- Lu, Y., Yan, Z., Li I., Gao, C. & Liwei, S. (2020). Selecting traits to improve the yield and water use efficiency of winter wheat under limited water supply. *Agricultural Water Management*, 242, 106410, doi:10.1016/j.agwat.2020.106410.
- Miazzi, M.M., Babay E., De Vita P., Montemurro C., Chaabane R., Taranto F., & Mangini, G. (2022). Comparative genetic analysis of durum wheat landraces and cultivars widespread in Tunisia. *Frontiers in Plant Science*, 13:939609. doi: 10.3389/fpls.2022.939609
- Mohammadi, M., Ghannadha, M. R., & Taleci, A. (2002). Study of genetic variation within Iranian local bread wheat lines using multivariate techniques. *Seed and Plant Journal*, 18, 328-347. [In Persian]
- Nei, M. (1975). Molecular population genetics and evolution. *Frontiers in Biology*, 40, I-288. PMID: 1228006.
- Sadeghzadeh Ahari, D. (2006). Evaluation for tolerance to drought stress in promising dryland durum wheat genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 8(1), 30-45. [In Persian]
- Sadegh Ghol Moghadam, R., Saba, J., Shekari, F., & Roustaii, M. (2020). Study of relationships between root traits and yield and yield components of bread wheat under rainfed conditions. *Journal of Crop Breeding*, 12(36), 136-150. [In Persian]
- Shafazadeh, M., Yazdan Sepas, A., Amini, A., & Ghanadha, M. (2004). Study of terminal drought tolerance in promising winter and facultative wheat genotypes using stress susceptibility and tolerance indices. *Seed and Plant Journal*, 20(1), 57-71. doi: 10.22092/spij.2017.110607. [In Persian]
- Shannon, C.E. (1948). A mathematical theory of communication. *Bell System Technical Journal*, 27, 379-423.
- Sofalian, O., Chaparzadeh, N., & Dolati, M. (2009). Genetic diversity in spring wheat landraces from Northwest of Iran assessed by ISSR markers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37, 252–256. Doi:10.15835/nbha3723086.
- Sofalian, O., Chaparzadeh, N., Javanmard, A., & Hejazi, M.S. (2008). Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10, 465–8.

- Takeda, S., & Matsuoka, M. (2008). Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes. *Nature Reviews Genetics*, (6), 444-57. doi: 10.1038/nrg2342. PMID: 18475268.
- Tehseen, M.M., Tonk, F.A., Tosun, M., Istipliler, D., Amri, A., Sansaloni, C.P., Kurtulus, E., Mubarik, M.S., & Nazari, K. (2022). Exploring the genetic diversity and population structure of wheat landrace population conserved at ICARDA gene bank. *Frontiers in Genetics*, 13, 900572. doi: 10.3389/fgene.2022.900572
- Wang, A., Yu, Z., & Ding, Y. (2009). Genetic diversity analysis of wild close relatives of barley from Tibet and the Middle East by ISSR and SSR markers. *Comptes Rendus Biologies*, 32(4), 393-403. doi: 10.1016/j.crvi. 2008.11.007
- Zahravi, M., Amirbakhtiar, N., Arshad, Y., Mosharraf Ghahfarrokhi, G., & Ahmadi, M. (2021). Identification of Heat Tolerant Genetic Sources in Bread Wheat Germplasm. *Journal of Crop Breeding*. 13(39), 228-238. URL: <http://jcb.sanru.ac.ir/article-1-1273-fa.html>. [In Persian]
- Xu, Z., Lai, X., Ren, Y., Yang, H., Wang, H., Wang, C., Xia, J., Wang, Z., Yang, Z., & Geng, H. (2023). Impact of Drought Stress on Yield-Related Agronomic Traits of Different Genotypes in Spring Wheat. *Agronomy*, 13(12), 2968. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122968>
- Yadav, J., Jasrotia, P., Jaglan, M.S., Sareen, S., Kashyap, P.L., Kumar, S., Yadav S.S., Singh, G., & Singh, G.P. (2024). Unravelling the novel genetic diversity and marker-trait associations of corn leaf aphid resistance in wheat using microsatellite markers. *PLoS One*, 22;19(2): e0289527. doi: 10.1371/journal.pone.0289527. PMID: 38386640; PMCID: PMC10883527.