



"مقاله پژوهشی"

تجزیه‌ی ارتباطی برخی از نشانگرهای SSR با شاخص‌های مقاومت به زنگ قهوه‌ای در تعدادی از ارقام گندم نان

سارا علی محمدزاده^۱، علی اصغر نصراله نژادقمی^۲، خلیل زینلی نژاد^۳، سیده ساناز رمضانپور^۴ و محمدعلی دهقان^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسوول: nasrollahnejad@gu.ac.ir)

۳ و ۴- اعضای هیئت علمی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۵- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۱۱

صفحه: ۱۷۷ تا ۱۸۸

چکیده

زنگ قهوه‌ای با نام علمی *Puccinia recondite.tritici* یکی از بیماری‌های مهم گندم در دنیا محسوب می‌شود. اطلاع از ژن‌های مقاومت و انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم برای به‌نژادگران گندم دارای اهمیت زیادی است. این پژوهش به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای و تجزیه ارتباطی برای شاخص‌های مرتبط با مقاومت در گندم نان با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR انجام شد. در این پژوهش ۳۲ رقم گندم نان در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی عراقی محله گرگان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. ژنوتیپ‌ها از نظر صفات نوع آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه ارتباطی با استفاده از دو روش رگرسیون گام به گام و روش تک نشانگری بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند. بیش‌ترین ضریب همبستگی مثبت بین صفت نوع آلودگی و درصد آلودگی و سپس بین درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مشاهده شد. نتایج رگرسیون گام به گام نشان داد که در مجموع نه نشانگر SSR با حداقل یکی از سه صفت مورد بررسی پیوستگی معنی‌دار داشته‌اند. ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای SSR از ۲۴/۱ درصد (درصد آلودگی) تا ۹۵/۹ درصد (تیپ آلودگی) متغیر بود. نشانگر *Xgwm344* در صفت نوع آلودگی و درصد آلودگی به‌ترتیب با ۶۲ و ۵۸/۳ درصد و پس از آن *Xgwm547* در صفت تیپ آلودگی با ۵۱/۶ درصد بیش‌ترین ضریب تبیین را به‌عنوان نشانگر سرگروه به خود اختصاص دادند. نتایج روش تک نشانگری نشان داد که نشانگرهای *Xgwm146*، *Xgwm344*، *Xgwm547*، *Xwmc317*، *Xcfa2257*، *Xbare159* با هر سه صفت و نشانگر *Xgwm582* با دو صفت تیپ آلودگی و درصد آلودگی پیوستگی نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از هر دو روش پنج نشانگر *Xgwm146*، *Xgwm344*، *Xgwm547*، *Xwmc317* و *Xbare159* با هر سه صفت مقاومت پیوستگی نشان دادند و نشانگر *Xbare8* با هیچ کدام از صفات پیوستگی نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: گندم، زنگ برگی، مقاومت به بیماری، نشانگر ریزماهوره

مقدمه

دادرزایی و همکاری (۹) میزان خسارت زنگ قهوه‌ای بر عملکرد گندم در اهواز را بر روی کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی به‌میزان ۲۵/۲ درصد برآورد کردند. کاهش عملکرد ناشی از زنگ قهوه‌ای با کاهش وزن دانه و کاهش تعداد دانه در سنبله همراه است (۳۲). روش‌های متفاوتی برای مبارزه با این بیماری وجود دارد که شامل روش‌های زراعی، مبارزه شیمیایی و مقاومت ژنتیکی می‌باشد اما از بین این روش‌ها مقاومت ژنتیکی جزء مؤثرترین روش‌های مبارزه با زنگ‌ها است که کاهش هزینه را برای کشاورز به‌دنبال دارد (۱۸). مقاومت از خصوصیات ژنتیکی میزبان است که متخصصین اصلاح نباتات از آن برای ایجاد ارقام مقاوم استفاده می‌کنند. بررسی و ارزیابی مقاومت لاین‌ها و ارقام گندم نسبت به نژادهای زنگ قهوه‌ای در منطقه برای حفظ ارقام کنونی و یا معرفی ارقام جدید ضرورت دارد (۳۱). مهاجر وطن و همکاران (۲۳) تنوع ژنتیکی مناسبی را در بین ارقام گندم نسبت به زنگ قهوه‌ای مشاهده کردند. روش گزینش به کمک نشانگر

گندم یکی از محصولات مهم غذایی جهان است که ۱۷ درصد محصول جهانی، نزدیک به نیمی از تغذیه مردم جهان و ۲۰ درصد پروتئین و کالری غذای انسان را شامل می‌شود و هر ساله تقاضای جهانی برای تهیه آن افزایش می‌یابد (۱۳). با توجه به وسعت سطح زیر کشت گندم و قدمت زراعت آن، این گیاه در طول دوره رشد مورد حمله بسیاری از عوامل بیماری‌زا از جمله زنگ‌ها قرار می‌گیرد (۱۸). اپیدمی زنگ قبل از گلدهی یا همزمان با آن اتفاق می‌افتد و آلودگی خوشه زیان فراوانی به بار می‌آورد (۱۱). از میان سه زنگ گندم، زنگ قهوه‌ای با عامل *Puccinia triticina* Syn. *recondita* Rob Ex Desm f. sp. *Triticum* Eriks & Henn که به زنگ برگی نیز معروف است، از رایج‌ترین و گسترده‌ترین بیماری‌ها می‌باشد (۳۲). این بیماری با توجه به شرایط زراعی، زمان اپیدمی شدن بیماری و مرحله رشد گیاه باعث کاهش عملکرد به‌میزان ۵ تا ۱۵ درصد می‌شود (۲۲).

رقم حساس بولانی نیز به‌عنوان رقم گسترش‌دهنده بیماری زنگ در حاشیه آزمایش و بعد از هر پنج ردیف، در یک ردیف در داخل آزمایش کشت گردید. آلودگی به‌صورت طبیعی با استفاده از سیستم میست در خزانه زنگ انجام گرفت. صفات مورد مطالعه در مزرعه شامل تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری بود. صفت تیپ آلودگی براساس مقیاس صفر تا ۹ به‌روش مک‌نیل و همکاران (۲۱) ثبت شد. درصد بیماری با استفاده از روش تبدیل‌یافته کاب در سه زمان با فاصله هفت روز صورت گرفت (۲۴). سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)^۲ با استفاده از فرمول ویلکاکسون و همکاران (۳۶) محاسبه گردید (فرمول ۱). تمام یادداشت‌برداری‌ها روی چهار بوته از هر خط انجام شد.

فرمول ۱) $AUDPC = \sum_{i=1}^k \frac{1}{2} (S_i + S_{i+1}) * d$

که در آن S_i درصد آلودگی مشاهده‌شده در مرحله i ام، k تعداد دفعات ارزیابی بیماری و d فاصله بین دو ارزیابی است. به‌منظور آنالیز مولکولی و ارزیابی ارتباط میان نشانگرهای مولکولی و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری، نمونه‌هایی برگری از ۳۲ ژنوتیپ گندم نان در مرحله سه برگری جمع‌آوری شد و استخراج DNA با روش دوپیل و دوپیل (۱۰) انجام گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده از روش بارگذاری بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده گردید. واکنش‌های PCR مربوط به نشانگرهای SSR در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر در چرخه‌های حرارتی با چهار مرحله شامل واسرشته‌سازی اولیه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت چهار دقیقه، مرحله تکثیر شامل ۴۰ چرخه: واسرشته‌سازی با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو دقیقه، اتصال بسته به دمای ذوب آغازگر به‌مدت ۶۰ ثانیه و بسط با دما ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۹۰ ثانیه، سپس مرحله بسط نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. واکنش فوق با دستگاه peQlab انجام گرفت. در ضمن ترکیبات PCR شامل پنج میکرولیتر مخلوط واکنش PCR (2X) و آب دوبرار تقطیر اتوکلاو شده، یک میکرولیتر نشانگر پیشرو و پسر و سه میکرولیتر DNA الگو بود. پس نمونه‌ها درون دستگاه الکتروفورز بارگذاری شدند. پس از پایان الکتروفورز رنگ‌آمیزی ژل‌ها به‌روش نیترا نقره انجام گرفت و از الگوی باندهای عکس‌برداری شد. جهت بررسی وجود ارتباط بین صفات مورفولوژیک با نشانگرهای SSR بر روی کروموزوم 2B، 3B، 7B گندم، ۹ جفت نشانگر SSR مورد استفاده قرار گرفت که مشخصات و توالی هر کدام از آن‌ها در جدول (۲) آورده شده است (۳۴، ۲۷). برای بررسی ارتباط نشانگرهای SSR با صفات فنوتیپی از دو روش استفاده شد. در روش اول تجزیه رگرسیون چندگانه به‌روش گام به گام برای سه صفت در رقم گندم نان استفاده شد. بدین صورت که در هر بار انجام تجزیه یکی از صفات مرتبط با مقاومت به‌عنوان متغیر وابسته (Y) و کلیه نشانگرهای سرگروه به‌عنوان متغیرهای مستقل (X) در تجزیه وارد شدند. در روش دوم (آزمون تک نشانگری) صفات مورد نظر بر اساس طرح کاملاً تصادفی نامتعادل آزمون گردیدند. در این طرح آلل‌ها به‌عنوان تیمار و تعداد افراد دارای آن آلل به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شدند. آلل یا آلل‌هایی که تنها یک بار در جمعیت مورد مطالعه دیده شدند از ادامه این تجزیه کنار

نقش مهمی در مکان یابی ژن‌های مقاومت ایفا می‌کند و مطالعات وسیعی در این زمینه انجام گرفته است (۷، ۱۴). گزینش به کمک نشانگر برای صفات مرتبط با کیفیت و مقاومت به آفات و بیماری‌ها در برخی گیاهان زراعی و به‌خصوص گندم به‌کار گرفته شده است زیرا نشانگرهای DNA با کارآمدی بسیار بهتر و در زمان کمتر راندمان انتخاب صفات زراعی مهم را در برنامه‌های اصلاحی افزایش دادند (۳۵). در روش گزینش به کمک نشانگر همبستگی بین نشانگرهای DNA و صفات مهم زراعی مانند مقاومت به عوامل بیماری‌زا، حشرات، نماتدها، تحمل به تنش‌های غیرزنده مورد بررسی قرار می‌گیرد. در این روش نشانگرهایی که در مجاورت ژن هدف قرار دارند شناسایی و انتخاب می‌شوند به این ترتیب این روش به شناسایی گیاهان حامل ژن‌های هدف به‌طور هم‌زمان و بدون قرار گرفتن در معرض هجوم پاتوژن یا حشره در نسل‌های اولیه کمک خواهد کرد (۴). ریزماهوره‌ها توالی‌های تکراری دو تا شش نوکلئوتیدی هستند که به تعداد فراوان و به‌صورت یکنواخت در سطح ژنوم یوکاریوت‌ها و در نواحی رمزکننده و غیررمزکننده DNA پراکنده‌اند (۱۵ و ۶). این جایگاه‌های ژنی از تنوع بسیار بالای آلی برخوردار هستند و بر طبق قوانین مندل و به‌صورت هم‌بازر به نتاج منتقل می‌شوند و سطوح بسیار بالای چندشکلی را در تعداد توالی تکرار شونده از خود نشان می‌دهند (۲۸). ریزماهوره‌ها در گیاهان جهت تهیه نقشه ژنتیکی گندم، بررسی چندشکلی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مهم زراعی به‌کار برده شده‌اند (۱۱، ۱۲، ۲۵). آیبونگ و همکاران (۲) با استفاده از مارکرهای SSR یک ژن جدید مقاومت به زنگ قهوه‌ای را روی کروموزوم 5DL شناسایی کردند. باهار و همکاران (۵) در ۵۷ لاین پیشرفته گندم وجود ژن‌های مختلف مقاومت به زنگ قهوه‌ای را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها به کمک مارکر توانستند در تمام لاین‌های مورد بررسی وجود ژن *Lr32* را تایید نمایند که نشان از کارایی مطلوب این روش می‌باشد. تا به حال بیش از ۷۰ ژن مقاومت به زنگ قهوه‌ای شناسایی شده است که بیشتر آن‌ها کدکننده مقاومت از نوع اختصاصی^۱ و در مرحله گیاهچه‌ای هستند (۲۰). لینگ‌ژئی و همکاران (۱۹) تا زمان پژوهش خود تعداد ژن‌های مقاومت کشف شده را بیش از ۱۰۰ تا گزارش کردند. از آنجایی که بیماری زنگ قهوه‌ای دارای نژادهای متفاوتی است ضرورت دارد تا مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف گندم، نسبت به این نژادهای بیماری‌زا بررسی گردد تا بتوان با استفاده از استراتژی‌های اصلاحی از اپیدمی شدن این بیماری ممانعت نمود و میزان خسارت آن را کاهش داد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تجزیه ارتباطی و تنوع ژنتیکی مقاومت به بیماری زنگ قهوه‌ای در ۳۲ رقم گندم نان (جدول ۱)، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی عراقی محله اجرا گردید. بذور هر رقم در ردیفی به طول یک و نیم متر و تعداد ۲۰ بذر روی هر ردیف با فاصله‌ی هفت سانتی‌متر کشت شد.

گذاشته شدند. پس از معنی‌دار شدن تیمار، مقایسه میانگین با روش t-استیودنت انجام گرفت تا آلی که در صفت مورد نظر تأثیرگذار بود، مشخص شود. داده‌ها با نرم‌افزار Excell مرتب و با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه گردید.

جدول ۱- ارقام گندم نان برای مطالعه مقاومت به زنگ قهوه‌ای

Table 1. Bread wheat cultivars for the study of resistance to brown rust

ارقام	ردیف	ارقام	ردیف	ارقام	ردیف	ارقام	ردیف	ارقام	ردیف	ارقام	ردیف
۳	مغان	۳۱	اروندموتانت	۲۵	مارکوئیس	۱۹	سایسون	۱۳	کراس امید	۷	بولانی
۲	سومایتری	۳۲	بولیوی	۲۶	مروذشت	۲۰	شعله	۱۴	کراس شاهی	۸	آذر ۲
-	-	-	سرداری	۲۷	آرژانتین	۲۱	پاستور	۱۵	گوهر	۹	سرخ تخم
-	-	-	البرز	۲۸	شیرودی	۲۲	دز	۱۶	طوس	۱۰	کرج ۱
-	-	-	گوهرذشت	۲۹	برکت	۲۳	آلموت ۱	۱۷	اینیا	۱۱	بیستون
-	-	-	فروتانا	۳۰	الموت ۲	۲۴	استار	۱۸	سومالی	۱۲	آذر ۱

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای SSR استفاده شده در این پژوهش

Table 2. Specifications of SSR markers used in this study

نام آغازگر	توالی آغازگر 3' → 5'	جایگاه کروموزومی	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)	اندازه باند مورد انتظار
CFA2257	R: CCATTATGTAATGCTTCTGTTTGA F: GATACAATAGGTGCCTCCGC	7B	۶۰	۱۴۰
BARC182	R: CGCAAAACCGCATCAGGGAAGCACCAAT F: CCATGGCCAACAGCTCAAGGTCTC	7B	۵۱	۱۲۰
BARC8	R: GCGGGGGCGAAACATACACATAAAAAACA F: GCGGGAATCATGCATAGAAAACAGAA	1B	۵۱	۲۶۲
GWM582	R: TCTTAAGGGTGTATACATA F: AAGCACTACGAAAATATGAC	1B	۵۰	۱۵۱
BARC159	R: CGCCGATAGTTTTCTAATTTCTGA F: CGCAATTTATTATCGGTTTTAGGAA	2B	۵۱	۲۳۰
WMC317	R: TCACGAAACCTTTTCCTCCTCC F: TGCTAGCAATGCTCCGGGTAAC	2B	۶۱	۱۴۵
GWM547	R: TTCTGCTGCTGTTTTCAATTTAC F: TTCTGCTGCTGTTTTCAATTTAC	3B	۶۰	۱۸۵
GWM344	R: ATTTGAGTCTGAAAGTTTGA F: CAAGGAAATAGCGCGTAACT	7B	۵۵	۱۳۱
GWM146	R: CTCTGGCATTGCTCCTTGG F: CCAAAAAAACTGCCTGCATC	7B	۶۰	۱۶۲

نتایج و بحث

Xgwm547-3B تعداد هفت باند، نشانگرهای *Xwmc317-3B* و *Xcfa2257-7B* و *Xgwm582-1B* تعداد شش باند و *Xbarc159-2B* به ترتیب تعداد پنج و هشت باند را نشان دادند (جدول ۱، ۱۱ و ۱۴). در ضمن الگوی الکتروفورزی نشانگر *Xcfa2257-7B* برای برخی از ژنوتیپها آورده شد (شکل ۱).

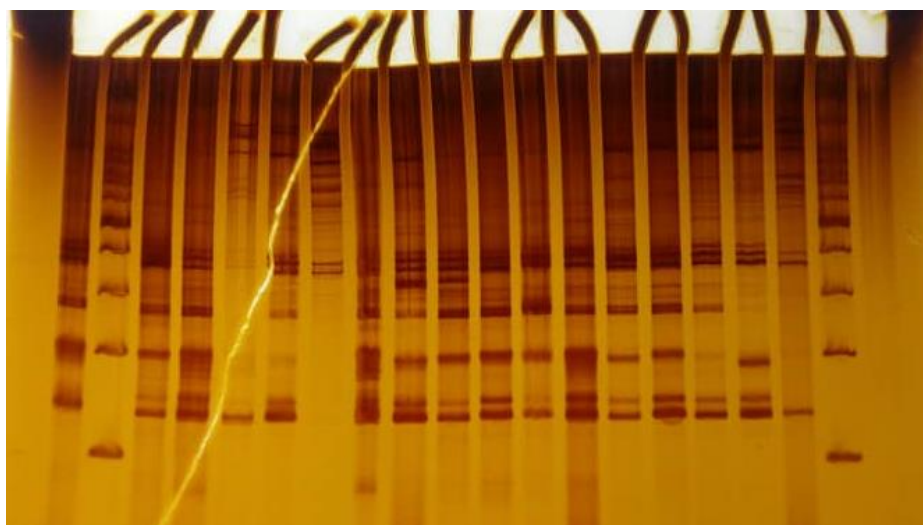
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام از لحاظ صفات نوع آلودگی، درصد آلودگی و شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۳). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بین ارقام از نظر صفات مذکور تنوع وجود دارد. نتایج الکتروفورز نشان داد نشانگرهای *Xgwm146-7B*، *Xwmc344-4B* و

جدول ۳- میانگین مربعات صفات نوع آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC

Table 3. Mean Squares of Infection Type, Infection Percentage and AUDPC

منابع تغییرات	درجه آزادی	نوع آلودگی	درصد آلودگی	AUDPC
تیمار	۳۱	۱۳/۳۰**	۶۰۲/۴۷**	۷۰۹۹/۳۱**
خطا	۶۴	۱/۳۶	۱۱۱/۵۳	۱۳۶۱/۴۶
ضریب تغییرات (%)		۲۱/۸۰	۱۶/۵۲	۱۶/۳۶

ns: غیرمعنی‌دار، **: معنی‌داری در سطح یک درصد



شکل ۱- الگوی باندی نشانگر *Xcfa2257-7B* (از سمت چپ به ترتیب چاهک اول گندم بهاره چینی (Ch.S)، چاهک دوم و نوزدهم سایز مارکر (M) صد جفت بازی، چاهک سوم تا ۱۹ به ترتیب ۱۷ ژنوتیپ اول جدول شماره ۱)

Figure 1. Band pattern of *Xcfa2257-7B* marker (from the left, respectively, the first well of Chinese spring wheat (Ch.S), the second well and the nineteenth marker size (M), one hundred pairs, the third well, up to 19, respectively, of the first 17 genotypes. 1

نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که بین صفات مرتبط با مقاومت همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد که نشان‌دهنده وجود رابطه مستقیم بین این صفات می‌باشد (جدول ۴). به عبارت دیگر با افزایش یکی از آن‌ها دیگری نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای که توسط علی و همکاران (۳)، شا و همکاران (۳۰) و صفوی و همکاران (۲۹) انجام گرفت همبستگی بالایی بین شاخص‌ها با یکدیگر وجود داشت که با نتایج به‌دست آمده از این مطالعه مطابقت داشت.

نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که بین صفات مرتبط با مقاومت همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد که نشان‌دهنده وجود رابطه مستقیم بین این صفات می‌باشد (جدول ۴). به عبارت دیگر با افزایش یکی از آن‌ها دیگری نیز افزایش می‌یابد. در مطالعه‌ای که توسط علی و همکاران (۳)، شا و همکاران (۳۰) و صفوی و همکاران (۲۹) انجام گرفت همبستگی بالایی بین شاخص‌ها با یکدیگر وجود داشت که با نتایج به‌دست آمده از این مطالعه مطابقت داشت.

جدول ۴- همبستگی بین صفات مرتبط با مقاومت

Table 4. Correlation between traits related to resistance

AUDPC	درصد آلودگی	تیپ آلودگی	تیپ آلودگی
	۱	۱	درصد آلودگی
۱	۰/۹۳**	۰/۹۶**	AUDPC
		۰/۹۱**	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

به ترتیب مقادیر ضریب تبیین رگرسیون ساده و چندگانه را نشان می‌دهد. ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای SSR از ۲۴/۱ درصد (درصد آلودگی) تا ۹۵/۹ درصد (تیپ آلودگی) متغیر بود. نشانگر *Xgwm344* در صفت تیپ آلودگی و درصد آلودگی به ترتیب با ۶۲ و ۵۸/۳ درصد و پس از آن *Xgwm547* در صفت تیپ آلودگی با ۵۱/۶ درصد بیش‌ترین ضریب تبیین را به‌عنوان نشانگر سرگروه به‌خود اختصاص دادند (جدول ۵).

نتایج حاصل از رگرسیون نشانگرهای SSR ارتباط معنی‌داری میان ۶۱ نشانگر را با صفات بررسی شده نشان داد. بیش‌ترین تعداد باند تولیدشده مربوط به آغازگر *Xgwm344* برای صفت تیپ آلودگی (هفت باند) و کمترین تعداد باند (یک باند) برای دو صفت درصد آلودگی و AUDPC به ترتیب مربوط به آغازگرهای *Xcfa2257* و *Xgwm547* بود. جدول ۵ نتایج رگرسیون ساده و چندگانه را نشان می‌دهد. ستون دوم تعداد نشانگرهای واردشده در مدل و ستون سوم و چهارم

جدول ۵- نشانگرهای سر گروه پیوسته با صفات و میزان تغییرات توجیه شده این صفات به کمک نشانگرهای SSR

Table 5. Continuous markers with the attributes and the amount of variation explained by SSR markers

صفات	تعداد نشانگر [*]	R ² _{max}	R ² _T	نشانگر سر گروه	طول نشانگر (جفت باز)
تیپ آلودگی	۳	۰/۱۳۱	۰/۳۰۵	<i>Xgwm146</i>	۱۶۲
درصد آلودگی	۲	۰/۱۱۰	۰/۳۴۹	<i>Xgwm146</i>	۱۶۲
AUDPC	۴	۰/۱۶۶	۰/۴۰۸	<i>Xgwm146</i>	۱۶۲
درصد آلودگی	۱	۰/۰۷۱	۰/۲۴۱	<i>Xcfa2257</i>	۱۴۰
تیپ آلودگی	۳	۰/۵۱۶	۰/۶۲۰	<i>Xgwm547</i>	۱۸۵
درصد آلودگی	۳	۰/۵۱۴	۰/۵۹۷	<i>Xgwm547</i>	۱۸۵
AUDPC	۱	۰/۴۱۸	۰/۴۱۸	<i>Xgwm547</i>	۱۸۵
تیپ آلودگی	۴	۰/۲۶۹	۰/۵۱۳	<i>Xwmc317</i>	۱۴۵
درصد آلودگی	۵	۰/۱۸۰	۰/۵۴۳	<i>Xwmc317</i>	۱۴۵
AUDPC	۵	۰/۱۱۶	۰/۴۴۵	<i>Xwmc317</i>	۱۴۵
تیپ آلودگی	۲	۰/۱۶۹	۰/۳۷۸	<i>Xbarc159</i>	۲۳۰
درصد آلودگی	۳	۰/۱۴۸	۰/۳۸۷	<i>Xbarc159</i>	۲۳۰
AUDPC	۲	۰/۱۴۳	۰/۳۳۵	<i>Xbarc159</i>	۲۳۰
تیپ آلودگی	۷	۰/۶۲۰	۰/۹۵۹	<i>Xgwm344</i>	۱۳۱
درصد آلودگی	۵	۰/۵۸۳	۰/۸۸۴	<i>Xgwm344</i>	۱۳۱
AUDPC	۵	۰/۴۸۴	۰/۸۳۱	<i>Xgwm344</i>	۱۳۱
تیپ آلودگی	۳	۰/۱۷۲	۰/۳۲۴	<i>Xbarc182</i>	۱۲۰
AUDPC	۳	۰/۱۳۳	۰/۳۶۶	<i>Xbarc182</i>	۱۲۰

R²_{max} = بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر و R²_T = ضریب تبیین در مجموع نشانگرها

آلودگی با ۲۲ نشانگر، درصد آلودگی با ۱۹ و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری با ۱۹ نشانگر را نشان داد. همه مدل‌های رگرسیونی برای نشانگر SSR و برای تمام صفات در سطح پنج درصد و یک درصد معنی‌دار بودند. از میان نشانگرهای بررسی شده در مجموع ۶۱ باند با حداقل یکی از صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری پیوستگی نشان دادند که اکثر نشانگرها (باندها) با هر سه صفت پیوستگی داشتند.

ارتباط معنی‌دار ۶۱ باند (نشانگر) به تفکیک صفات و تعداد متفاوت نشانگرهای SSR و معنی‌دار بودن مدل رگرسیون آن‌ها برای نشانگر اول (متغیر مستقل اول) و نیز کل نشانگرهای پیوسته با شاخص بیماری مورد نظر (کل متغیرهای مستقلی که وارد مدل رگرسیون شده‌اند) در جدول (۶) آمده است. نتایج نشان می‌دهد که مدل ساده برای نشانگر *Xgwm146* معنی‌دار نشد اما برای تمام نشانگرهای دیگر و همه مدل‌ها نتیجه معنی‌داری به دست آمد. با توجه به این توضیحات معنی‌داری مدل رگرسیون در صفت تیپ

جدول ۶- تجزیه رگرسیون چندگانه گام به گام برای سه صفت مقاومت به زنگ قهوه‌ای به عنوان متغیرهای وابسته و نشانگرهای آگاهی بخش به عنوان متغیرهای مستقل با استفاده از تمام باندهای SSR

Table 6. Stepwise multiple regression analysis for the three characteristics of brown rust resistance as dependent variables and awareness markers as independent variables using all SSR bands

مدل کامل (همه متغیرهای وارد شده به مدل)		مدل ساده (اولین متغیر وارد شده به مدل)		نشانگر سر گروه		صفت
MS _{Complete}	df	MS _{max}	df	منبع تغییرات		
۱۳/۹۸*	۳	۱۸/۰۳*	۱	X	Xgwm146	تیپ آلودگی
۳/۷۱	۲۸	۳/۹۸	۳۰	Y		
۷۲۵/۵۲**	۳	۶۴۸/۶۰	۱	X	Xgwm146	درصد آلودگی
۱۴۴/۶۰	۲۸	۱۸۴/۶۹	۳۰	Y		
۷۵۰۵/۴۹**	۴	۱۲۲۲۵°	۱	X	Xgwm146	AUDPC
۱۶۱۱/۹۸	۲۷	۲۰۴۴/۰۰۴	۳۰	Y		
۵۰۰/۶۲*	۳	۴۴۷/۷۴°	۱	X	Xcfa2257	درصد آلودگی
۱۶۸/۵۹	۲۸	۱۹۲/۵۹	۳۰	Y		
۲۸/۴۳**	۳	۷۱/۰۴**	۱	X	Xgwm547	تیپ آلودگی
۱/۸۶	۲۸	۲/۲۱	۳۰	Y		
۱۲۴۰/۷۱**	۳	۳۱۹۹/۷۴**	۱	X	Xgwm547	درصد آلودگی
۸۹/۴۰	۲۸	۱۰۰/۸۶	۳۰	Y		
۳۰۷۴۱**	۱	۳۰۷۴۱**	۱	X	Xgwm547	AUDPC
۱۴۲۶/۸۱	۳۰	۱۴۲۶/۸۱	۳۰	Y		
۱۷/۶۴**	۴	۳۷/۱۰**	۱	X	Xwmc317	تیپ آلودگی
۲/۴۷	۲۷	۳/۳۴	۳۰	Y		
۶۷۶/۴۰**	۵	۱۱۲۳/۱۲°	۱	X	Xwmc317	درصد آلودگی
۱۰۹/۳۶	۲۶	۱۷۰/۰۸	۳۰	Y		
۸۱۸۳/۹۳**	۴	۸۵۵۴/۱۴**	۱	X	Xwmc317	AUDPC
۱۵۱۱/۴۷	۲۷	۲۱۶۶/۳۸	۳۰	Y		
۲۶/۰۴**	۲	۲۳/۲۶°	۱	X	Xbarc159	تیپ آلودگی
۲/۹۴	۲۹	۳/۸۰	۳۰	Y		
۸۰۴/۴۴**	۳	۹۲۱/۲۸°	۱	X	Xbarc159	درصد آلودگی
۱۳۶/۱۵	۲۸	۱۷۶/۸۰	۳۰	Y		
۱۲۳۲۹**	۲	۱۰۵۲۵°	۱	X	Xbarc159	AUDPC
۱۶۸۵/۷۸	۲۹	۲۱۰۰/۶۹	۳۰	Y		
۱۸/۸۵**	۷	۸۵/۳۱**	۱	X	Xgwm344	تیپ آلودگی
۰/۲۲	۲۴	۱/۷۳	۳۰	Y		
۱۱۰۱/۷۹**	۵	۳۶۳۴/۹۹**	۱	X	Xgwm344	درصد آلودگی
۲۷/۵۶	۲۶	۸۶/۳۵	۳۰	Y		
۱۲۲۲۶**	۵	۲۵۶۵۳**	۱	X	Xgwm344	AUDPC
۴۷۵/۵۲	۲۶	۱۲۶۳/۱۰	۳۰	Y		
۱۴/۸۵°	۳	۲۳/۶۶°	۱	X	Xbarc182	تیپ آلودگی
۳/۳۱	۲۸	۳/۷۹	۳۰	Y		
۸۹۸۷/۶۱**	۳	۹۸۱۰/۳۵°	۱	X	Xbarc182	AUDPC
۱۶۶۲/۶۶	۲۸	۲۱۲۴/۵۰	۳۰	Y		

** معنی‌دار در سطح یک درصد، * معنی‌دار در سطح پنج درصد X*** رگرسیون و Y*** انحراف می‌باشند.

مولکولی حاصل از ۱۰ جفت آغازگر SSAP روی ۸۷ ژنوتیپ بومی و ۲۱ رقم زراعی گندم دوروم انجام دادند که بین هر کدام از شش صفت زراعی و ۷۴ نشانگر چند شکل ارتباط وجود داشت که در نهایت ۳۲ نشانگر SSAP رابطه معنی‌داری با حداقل یکی از شش صفت زراعی داشتند.

بررسی ارتباط نشانگرهای SSR با صفات فنوتیپی

نشانگر Xgwm146-7B هفت آلل بر روی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تولید کرد. آلل ۱۵۲bp چون تنها در یک ژنوتیپ دیده شد از ادامه آنالیز حذف شد. مطابق جدول (۷) نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه‌های آلی نشانگر Xgwm146-7B از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور می‌باشد.

در مطالعه‌ای یو و همکاران (۳۷) با استفاده از روش انتخاب به کمک مارکر، ارتباط بین صفت مقاومت به بیماری بلایت با مارکر RAPD را بررسی کردند که با انجام تجزیه رگرسیون گام به گام، دو نشانگر eAAEmCAG183 و eAAEmCAG333 در مجموع ۵۱/۱ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند و نهایتاً همبستگی بالایی بین صفت مقاومت به بیماری باکتریایی با باند حاصل از این نشانگر را گزارش کردند. حاتم سروری و همکاران (۱۶) در مطالعه‌ای با استفاده از تجزیه مولکولی، دو QTL مرتبط با مقاومت به بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در گندم را بر روی بازوی کوتاه کروموزوم‌های 3B و 5B در جمعیت مورد ارزیابی شناسایی کردند که مجموعاً ۱۶ درصد از تغییرات سطح زیر منحنی پیشرفت آلودگی را توجیه کردند. رشیدی منفرد و همکاران (۲۶) پژوهشی برای ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی با استفاده از شش صفت زراعی و ۷۴ نشانگر

جدول ۷- تجزیه واریانس نشانگرهای *Xgwm547-3B* و *Xwmc344-4B*، *Xgwm146-7B* با صفات مورد مطالعه

Table 7. Analysis of variance for *Xgwm146-7B*, *Xwmc344-4B* and *Xgwm547-3B* markers with studied traits

صفه	درجه آزادی	میانگین مربعات <i>Xgwm146-7B</i>	میانگین مربعات خطا	میانگین مربعات <i>Xwmc344-4B</i>	میانگین مربعات خطا	میانگین مربعات <i>Xgwm547-3B</i>	میانگین مربعات خطا
تیپ آلودگی	۶	۱۲/۹۶**	۲/۳۸	۱۶/۲۹**	۱/۵۸	۱۲/۹۶**	۲/۳۸
درصد آلودگی	۶	۵۷۷/۰۱**	۱۱۰/۵۳	۶۸۹/۸۸**	۸۳/۴۴	۵۵۷/۰۱**	۱۱۰/۵۳
AUDPC	۶	۵۶۰/۱۱۶*	۱۵۹۷/۵۴	۷۰۵۰/۶۷**	۱۲۴۹/۶۶	۵۶۰/۱۱۶**	۱۵۹۷/۵۴

** معنی داری در سطح یک درصد، * معنی داری در سطح پنج درصد

با توجه به جدول (۸) برای صفت تیپ آلودگی و AUDPC، تیمار پنج (آلل ۱۵۹bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار هفت (بیشترین مقدار تیپ آلودگی و AUDPC) با روش t-استیودنت اختلاف معنی دار نشان داد (تیپ آلودگی، $p=0.001$ و

اما با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت. از آنجایی که صفت تیپ آلودگی و AUDPC کمتر به مفهوم مقاومت بیشتر است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

جدول ۸- میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xgwm146-7B*

Table 8. Mean of treatments for infection type, percentage of infection and AUDPC in marker *Xgwm146-7B*

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
نشانگر آلل <i>Xgwm146-7B</i>	۱۵۴	۱۵۵	۱۵۶	۱۵۸	۱۵۹	۱۶۰	۱۶۲
میانگین (تیپ آلودگی)	۴/۵۵	۴/۸۵	۵/۳۲	۳/۹۹	۳/۸۳	۴/۲۴	۸/۴۴
میانگین (درصد آلودگی)	۵۴/۹۹	۶۰/۹۵	۶۳/۰۵	۵۴/۵۸	۵۶/۶۶	۵۸/۷۴	۸۴/۷۱
میانگین (AUDPC)	۲۱۱/۹۴	۲۱۴/۱۶	۲۲۲/۶۳	۱۹۶/۸۷	۱۸۶/۶۶	۲۱۱/۴۵	۲۹۰/۰۸

برای صفت درصد آلودگی، تیمار چهار (آلل ۱۵۸bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار هفت به روش t-استیودنت اختلاف معنی داری نشان داد ($p=0.002$) اما با سایر تیمارها اختلاف معنی داری نداشت. از آنجایی که درصد آلودگی کمتر مطلوب است، لذا این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود (جدول ۸). مطابق جدول (۷) نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه های آلی نشانگر *Xwmc344-7B* از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی داری وجود داشت. این مطلب

برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در تیمارها برای میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xwmc344-7B* marker

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
آلل	۱۲۰	۱۲۵	۱۲۶	۱۲۷	۱۲۹	۱۳۰	۱۳۱
میانگین (تیپ آلودگی)	۲/۶۶	۳/۱۶	۳/۶۶	۴/۸۳	۴/۹۱	۶/۰۷	۷/۶۶
میانگین (درصد آلودگی)	۴۶/۱۰	۴۹/۵۸	۵۵/۵۵	۶۰/۸۳	۵۹/۱۶	۶۸/۷۴	۷۹/۱۶
میانگین (AUDPC)	۱۷۸/۸۸	۱۷۴/۹۹	۱۸۸/۶۱	۲۱۰	۲۱۴/۳۷	۲۴۵	۲۷۲/۲۴

جدول ۹- میانگین تیمارها برای میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xwmc344-7B*

Table 9. Mean of treatments for infection type, infection percentage, and AUDPC at *Xwmc344-7B* marker

که بین ارقام متعلق به گروه های آلی نشانگر *Xgwm547-3B* از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی داری وجود داشت. این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور بود. مطابق جدول ۱۰ برای صفت تیپ آلودگی و AUDPC، تیمار پنج (آلل ۱۸۲bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار هفت با روش t-استیودنت اختلاف معنی دار نشان داد (تیپ آلودگی، $p=0.001$ و AUDPC، $p=0.004$). از آنجایی که تیپ آلودگی و AUDPC کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

برای صفت AUDPC تیمار دو (آلل ۱۲۵bp) دارای کمترین میانگین بود. این تیمار با تیمار شش و هفت اختلاف معنی دار داشت (به ترتیب مقدار p-value عبارتند از 0.003 و 0.0001). از آنجایی که AUDPC کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مناسب برای انتخاب در نظر گرفته شود. با توجه به نتایج به دست آمده نشانگر *Xgwm344* بر روی کروموزوم 7B با صفات مرتبط با مقاومت پیوستگی نشان داد. حریرا و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه ژن *Lr14a* روی کروموزوم 7B با نشانگر *Xgwm344* با فاصله ژنتیکی یک سانتی مورگان پیوستگی مشاهده کردند. با توجه به جدول (۷) نتایج آزمون F نشان داد

جدول ۱۰- میانگین‌ها تیمارها برای میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xgwm547-3B*
 Table 10. Averages of treatments for the trait type, infection percentage and AUDPC in *Xgwm547-3B* marker

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
آلل	۱۷۵	۱۷۷	۱۷۹	۱۸۰	۱۸۲	۱۸۴	۱۸۵
میانگین (تیپ آلودگی)	۴/۵۵	۴/۸۵	۵/۳۲	۳/۹۹	۳/۸۳	۴/۲۴	۸/۴۴
میانگین (درصد آلودگی)	۵۴/۹۹	۶۰/۹۵	۶۳/۰۵	۵۴/۵۸	۵۶/۶۶	۵۸/۷۴	۸۴/۷۱
میانگین (AUDPC)	۲۱۱/۹۴	۲۱۴/۱۶	۲۲۲/۶۳	۱۹۶/۸۷	۱۸۶/۶۶	۲۱۱/۴۵	۲۹۰/۰۸

ژنوتیپ دیده شد از ادامه تجزیه حذف شد. مطابق جدول (۱۱) نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه‌های آلی نشانگر *Xwmc317-2B* از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور می‌باشد.

در ضمن تیمار چهار (آلل ۱۸۰bp) برای صفت درصد آلودگی دارای کمترین میانگین بود. این تیمار با تیمار هفت اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p=0.0002$). از آنجایی که درصد آلودگی کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می‌تواند به‌عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود. برای نشانگر *Xwmc317-2B* آلل ۱۸۵bp چون تنها در یک

جدول ۱۱- تجزیه واریانس نشانگرهای *Xwmc317-2B* و *Xcfa2257-7B* با صفات مورد مطالعه
 Table 11. Analysis of variance of *Xwmc317-2B* and *Xcfa2257-7B* markers with studied traits

صفه	درجه آزادی	میانگین مربعات <i>Xwmc317-2B</i>	میانگین مربعات خطا	میانگین مربعات <i>Xcfa2257-7B</i>	میانگین مربعات خطا
تیپ آلودگی	۵	۱۸/۳۷**	۱/۷۰	۱۱/۷۳**	۳/۰۳
درصد آلودگی	۵	۸۰۱/۱۱**	۸۶/۶۳	۴۵۷/۲۵*	۱۵۱/۵۱
AUDPC	۵	۷۸۴۲/۶۱**	۱۳۴۲/۴۸	۵۶۶۹/۷۶*	۱۷۳۸/۳۳

** معنی‌داری در سطح یک درصد، * معنی‌داری در سطح پنج درصد

برای درصد آلودگی $p_{15}=0.02$ ، $p_{16}=0.002$ و AUDPC $p_{16}=0.008$ ، $p_{15}=0.04$ از آنجایی که کم‌تر بودن این صفات با مقاومت بیشتر در ارتباط است، در نتیجه این آلل می‌تواند به‌عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

برای هر سه صفت (جدول ۱۱) تیمار یک (آلل ۱۳۰bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار پنج و شش (بیشترین مقدار) با روش t -استیودنت اختلاف معنی‌دار نشان داد (برای تیپ آلودگی $p_{16}=0.001$ ، $p_{15}=0.01$)

جدول ۱۲- میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xwmc317-2B*
 Table 12. Mean treatments for infection type, infection percentage, and AUDPC in the *xwmc317-2B* marker

تیمار <i>Xwmc317-2B</i>	۱	۲	۳	۴	۵	۶
آلل	۱۳۰	۱۳۵	۱۳۸	۱۴۰	۱۴۳	۱۴۵
میانگین (تیپ آلودگی)	۲/۶۶	۳/۶۶	۳/۸۸	۴/۷۴	۶/۳۲	۷/۷۸
میانگین (درصد آلودگی)	۴۶/۶۶	۵۲/۴۹	۵۶/۱۰	۵۶/۲۴	۷۱/۱۰	۷۹/۷۸
میانگین (AUDPC)	۱۶۲/۳۳	۱۹۴/۴۴	۱۹۱/۵۲	۲۱۴/۲۷	۲۴۷/۹۱	۲۷۴/۴۳

دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار پنج با روش t -استیودنت اختلاف معنی‌دار نشان داد (به ترتیب صفات $p=0.002$ ، $p=0.003$ و $p=0.004$). تیمار یک با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار نداشت. از آنجایی که تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می‌تواند به‌عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

برای نشانگر *Xcfa2257-7B* نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱۳). این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور می‌باشد. برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و صفت AUDPC در نشانگر *Xcfa2257-7B* تیمار یک (آلل ۱۳۳bp)

جدول ۱۳- میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xcfa2257-7B*
 Table 13. Mean treatments for infection type, infection percentage and AUDPC at *Xcfa2257-7B* marker

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶
آلل	۱۳۳	۱۳۵	۱۳۸	۱۳۹	۱۴۰	۱۴۱
میانگین (تیپ آلودگی)	۳/۴۴	۴/۹۲	۴/۷۴	۴/۳۹	۷/۴۰	۴/۳۳
میانگین (درصد آلودگی)	۵۰/۵۵	۵۹/۸۱	۶۰/۸۲	۶۰/۶۶	۷۶/۶۶	۵۹/۱۶
میانگین (AUDPC)	۱۸۴/۷۲	۲۱۲/۵۹	۲۰۴/۱۶	۲۱۷	۲۷۱/۱۶	۲۰۴/۱۶

داشت. این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور می‌باشد.

مطابق جدول (۱۴) نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه‌های آلی نشانگر *Xgwm582-1B* از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی اختلاف معنی‌داری وجود

جدول ۱۴- تجزیه واریانس نشانگرهای *Xgwm582-1B* و *Xbarc159-2B* با صفات مورد مطالعه

Table 14. Analysis of variance of *Xgwm582-1B* and *Xbarc159-2B* markers with studied traits

صفه	درجه آزادی	میانگین مربعات <i>Xgwm582-1B</i>	میانگین مربعات خطا	درجه آزادی	میانگین مربعات <i>Xbarc159-2B</i>	میانگین مربعات خطا
تیپ آلودگی	۷	۱۰/۴۸**	۲/۶۷	۴	۱۴/۰۱**	۲/۹۷
درصد آلودگی	۷	۴۶۱/۹۹**	۱۲۴/۶۴	۴	۶۲۴/۸۰**	۱۳۵/۶۴
AUDPC	۷	۳۹۷/۲۶ ^{ns}	۱۹۰۶/۱۱	۴	۷۲۴۰/۷۵**	۱۶۱۳/۲۱

**معنی داری در سطح یک درصد و ns غیر معنی دار

برای صفت تیپ آلودگی و درصد آلودگی در نشانگر *Xgwm582-1B* تیمار پنج (آلل ۱۴۹bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار هفت با روش t-استیودنت اختلاف معنی دار نشان داد (برای تیپ آلودگی

$p=0.02$ و برای درصد آلودگی $p=0.002$). از آنجایی که تیپ آلودگی و درصد آلودگی کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

جدول ۱۵- میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی و درصد آلودگی در نشانگر *Xgwm582-1B*

Table 15. Averages of treatments for the trait type and percentage of infection in the *Xgwm582-1B* marker

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
آلل	۱۴۴	۱۴۶	۱۴۷	۱۴۸	۱۴۹	۱۵۰	۱۵۱	۱۵۳
میانگین (تیپ آلودگی)	۴/۵۰	۴/۴۹	۴/۶۶	۴/۵۱	۳/۴۹	۵/۵۸	۸/۵۳	۶/۵۰
میانگین (درصد آلودگی)	۵۴/۹۹	۵۸/۳۲	۵۴/۱۶	۵۹/۶۲	۵۲/۵۰	۶۷/۰۸	۸۴/۳۳	۷۲/۴۹

با توجه به نتایج به دست آمده نشانگر *Xgwm582* بر روی کروموزوم 1B با صفات مرتبط با مقاومت پیوستگی نشان داد. ژائو و همکاران (۲۰۰۸) در پژوهشی نتیجه گرفتند که ژن *LrZH84* روی کروموزوم 1B با نشانگرهای *Xgwm582* و *Xbarc8* با فاصله ژنتیکی ۳/۹ و ۵/۲ سانتی مورگان پیوستگی دارد. نشانگر *Xbarc159-2B* پنج آلل بر روی ژنوتیپ های مورد مطالعه تولید کرد. آلل ۱۲۹bp چون تنها در یک ژنوتیپ دیده شد از ادامه آنالیز حذف شد. نتایج آزمون F نشان داد که بین ارقام متعلق به گروه های آلی نشانگر *Xbarc159-2B* از نظر صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۱۴). این مطلب بیانگر ارتباط این نشانگر با صفات مذکور می باشد. برای صفت تیپ آلودگی در نشانگر *Xbarc159-2B* تیمار سه (آلل ۲۲۰bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار پنج با روش t-استیودنت اختلاف معنی دار نشان داد ($P=0.007$). تیمار سه با بقیه تیمارها اختلاف معنی دار نداشت. از آنجایی که تیپ آلودگی کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود.

جدول ۱۶- میانگین تیمارها برای صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و AUDPC در نشانگر *Xbarc159-2B*

Table 16. Mean Treatments for Infection Type, Infection Percentage and AUDPC in *Xbarc159-2B* Marker

تیمار	۱	۲	۳	۴	۵
آلل	۲۰۰	۲۱۵	۲۲۰	۲۲۵	۲۳۰
میانگین (تیپ آلودگی)	۳/۱۰	۴/۴۴	۲/۸۳	۵/۴۹	۶/۶۳
میانگین (درصد آلودگی)	۴۹/۹۹	۵۸/۰۵	۴۵/۸۳	۶۴/۷۱	۷۲/۶۱
میانگین (AUDPC)	۱۷۶/۹۴	۲۰۶/۱۱	۱۶۹/۱۶	۲۲۴/۵۸	۲۵۶/۴۰

برای صفت درصد آلودگی و صفت AUDPC در نشانگر *Xbarc159-2B* تیمار سه (آلل ۲۲۰bp) دارای کمترین میانگین بود. مقایسه میانگین این تیمار با تیمار پنج به روش t-استیودنت اختلاف معنی دار نشان داد (برای درصد آلودگی $p=0.005$ و برای AUDPC $p=0.008$). از آنجایی که تیپ آلودگی کمتر مطلوب است، در نتیجه این آلل می تواند به عنوان آلل مطلوب برای انتخاب در نظر گرفته شود. با توجه به نتایج به دست آمده از نشانگرهای SSR بر روی کروموزوم 1B، 2B، 3B و 7B برای صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نشانگر *Xgwm582-1B*، *Xgwm582-1B* با صفات تیپ آلودگی و درصد آلودگی و نشانگرهای *Xgwm547-3B*، *Xwmc317-2B*، *Xbarc159-2B*، *Xgwm344-7B*، *Xgwm146-7B* و *Xcfa2257-7B* با

صفات تیپ آلودگی، درصد آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری پیوستگی نشان دادند. در مطالعه ای که توسط ژان و همکاران (۲۰۱۱) انجام گرفت نشانگرهای مولکولی *LrBi16* و *Xgwm344* همبستگی زیادی با ژن *LrBi16* (ژن مقاومت غالب روی کروموزوم 7B) نشان دادند. مطابق تحقیقی که ژو و همکاران (۴۰) انجام دادند نشانگر *Xbarc159* در فاصله ژنتیکی ۲/۲ سانتی مورگان از ژن *LrNj97* که بر روی کروموزوم 2BL قرار دارد پیوستگی نشان داد. در پژوهش دیگر ژن *LrNj97* با نشانگر *Xwmc317* و *Xbarc159* به ترتیب با فاصله ژنتیکی ۴/۲ و ۲/۲ سانتی مورگان پیوستگی نشان داد (۳۳) که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. دو نشانگر *Xgwm344* و *Xwmc70* با ژن *LrFun* بر روی کروموزوم 7B پیوستگی نشان دادند (۳۳). در

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری و نشانگر *Xbarc182* با صفت تیپ آلودگی و پیشرفت بیماری و نشانگر *Xcfa2257* با درصد آلودگی پیوستگی نشان دادند.

کل نتایج آزمایش‌های مولکولی به‌روش تجزیه ارتباطی نشان داد که از بین نه نشانگر SSR مورد بررسی نشانگر *Xwmc317*، *Xgwm547*، *Xgwm344*، *Xgwm146* و *Xbarc159* با هر سه صفت تیپ آلودگی، درصد آلودگی و

منابع

1. Abedi, J., G. Mohammadi Nejad and A. Baghizadeh . 2019. Mapping of Loci Controlling Some of Agronomic Traits in Bread Wheat Under Drought Stress Conditions using Microsatellite Markers. *Journal of Crop Breeding*, 11:30 160-167 (In Persian).
2. Aiyong, Q.I., L.I. Xing, S.H.I. Lingzhi, L.I.U. Daqun and L.I. Zaifeng. 2015. Identification of a leaf rust resistance gene in the Chinese wheat line LB0288. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 51(2): 43-49.
3. Ali, S., S.J.A. Shah, I.K.H. Raman, K. Maqbool and W. Ullah. 2009. Partial resistance to yellow rust in introduced winter wheat germplasm at the North of Pakistan. *Australian Journal of Crop Science*, 3(1): 37 pp.
4. Arzani, A., A. Ahonemesh and M. Torabi. 2005. Genetic study of resistance of adult plants to brown rust in bread wheat. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 36(2): 373-363 (In Persian).
5. Bahar, A., I. Munira, A. Iqbala, M.A. Ahmada, I. Maqsoodb and M. Hafeezc. 2018. Molecular characterization of wheat advanced lines for leaf rust resistant genes using SSR markers. *Microbial Pathogenesis*, 123: 348-352.
6. Chao, S., P.J. Sharp, A.J. Worland, E.J. Warham, R.M.D. Koebner and M.D. Gale. 1989. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 78(4): 495-504.
7. Cherukuri, D.P., S.K. Gupta, A. Charpe, S. Koul, K.V. Prabhu, R.B. Singh and W.E. Weber. 2003. Identification of a molecular marker linked to an *Agropyron elongatum*-derived gene *Lr19* for leaf rust resistance in wheat. *Plant Breeding*, 122(3): 204-208.
8. Cobb, N.A. 1892. Contributions to an economic knowledge of the Australian rusts (Uredineae). *Agricultural Gazette of New South Wales*, 3: 44-48.
9. Dadrezaii, S., S.N. Tabatabai, A. Lakzadeh, A. Jafarnejad, F. Afshari and Z. Hassan Bayat. 2018. Evaluation of brown rust tolerance in selected bread wheat genotypes. *Aphate and Plant Diseases*. 86(1): 30-40 (In Persian).
10. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
11. Fazeli Nasab, B. and M.R. Naghavi. 2011. Use of microsatellite markers to identify resistant and susceptible species to rust species in different wheat cultivars. *Journal of Agricultural Knowledge*, 4(5) (In Persian).
12. Feizi, M., M. Solouki, B. Sadeghzadeh, B. Fakheri and S.A. Mohammadi. 2019. QTL Mapping for Higher Seed Zn Concentration and Content in Baley using SSR Markers. *Journal of Crop Breeding*, 11(30): 58-67 (In Persian).
13. Gupta, P.K., R.R. Mir, A. Mohan and J. Kumar. 2008. Wheat genomics: present status and future prospects. *International Journal of Plant Genomics*.
14. Gupta, S.K., A. Charpe, S. Koul, K.V. Prabhu and Q.M.R. Haq. 2005. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf-rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat. *Genome*, 48(5): 823-830.
15. Gupta, P., H. Balyan, K. Edwards, P. Isaac, V. Korzun, M.F. Gautier and M. Khairallah. 2002. Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. *Theoretical and applied genetics*, 105(2-3): 413-422.
16. Hatam Sarvari, K., H.R. Mazaheri laghab and M. Mardi. 2012. Identification of microsatellite markers associated with fusarium blight resistance genes in wheat. *Biotechnology in Agriculture*, 11(1) (In Persian)
17. Herrera-Foessel, S.A., R.P. Singh, J. Huerta-Espino, H.M. William, V. Garcia, A. Djurle and J. Yuen. 2008. Identification and molecular characterization of leaf rust resistance gene *Lr14a* in durum wheat. *Plant Dis*, 92: 469-473.
18. Knott, D.R. 1989. *The Wheat Rusts-Breeding for Resistance*. Springer-Verlag, Berlin, 201p.
19. Lingzhi, S.H.I., L.I. Zaifeng, W.A.N.G. Xiaodong, K.A.N.G. Zhanhai, Z.H.U. Lin, R.E.N. Zhikuan, L.I. Xing and L.I.U. Daqun. 2016. Genetic Analysis and Molecular Mapping of a Leaf Rust Resistance Gene in the Wheat Line 19HRWSN-129. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 52: 1-5.
20. McIntosh, R.A., J. Dubcovsky, W.J. Rogers, C. Morris, R. Appels and X.C. Xia. 2013. Catalogue of gene symbols for wheat, 2013-2014.
21. McNeal, F.H., C.F. Konzak, E.P. Smith, W.S. Tate and T.S. Russell. 1971. A uniform system for recording and processing cereal research data (No. REP-10904. CIMMYT).
22. Messmer, M.M., R., Seyfarth, M. Keller, G. Schachermayr, M. Winzeler, S. Zanetti, C. Fenillet and B. Keller. 2000. Genetic analysis of durable leaf rust resistance in winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 419-431.
23. Mohajervatan, F., A.A. Nasrollahnejad Ghomi, M. Kalate Arabi and M.A. Dehghan. 2016. Evaluation of resistance to leaf rust in some wheat cultivars in field and greenhouse conditions. *Journal of Crop Breeding*, 8(20): 70- 76 (In Persian).
24. Peterson, R.F., A.B. Campbell and A.E. Hannah. 1948. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canadian Journal of Research*, 26(5): 496-500.

25. Rahmani Asl, R., I. Bernousi and B.A. Mandulakani. 2019. Study of Genetic Structure and Diversity of Iranian Wheat Lines and Cultivars using SSR Markers Journal of Crop Breeding, 10(28): 73- 82 (In Persian).
26. Rashidi Monfared, S., M. Mardi, A.A. Hosseinzadeh and M.R. Naghavi. 2008. Correlation analysis between important agronomic traits and SSAP retrotransposon markers in durum wheat samples. Journal of Modern Genetics, 3(2): 29-35 (In Persian).
27. Röder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. Genetics, 149(4): 2007-2023.
28. Rohlf, F.J. 2002. NTSYS-pc: numerical taxonomy system ver. 2.1. Setauket, NY: Exeter Publishing Ltd.
29. Safavi, S.A., A.B. Ahari, F. Afshari and M. Arzanlou. 2010. Slow rusting resistance in 19 promising wheat lines to yellow rust in Ardabil, Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 13(5): 240-244 (In Persian).
30. Shah, S.J.A., M. Imtiaz and S. Hussain. 2010. Phenotypic and molecular characterization of wheat for slow rusting resistance against *Puccinia striiformis* Westend. f. sp. *tritici*. Journal of Phytopathology, 158(6): 393-402.
31. Singh, R.P., J.C. Nelson and M.E. Sorrells. 2000. Mapping Yr28 and other genes for resistance to stripe rust in wheat. Crop Sci, 40: 1148-1155.
32. Singla, J., L. Lüthi, T. Wicker, U. Bansal, S.G. Krattinger and B. Keller. 2017. Characterization of *Lr75*: a partial, broad-spectrum leaf rust resistance gene in wheat. ??, 130(1): 112.
33. Somers, D.J., P. Isaac and K. Edwards. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Theor Appl Genet, 109(6): 1105-1114.
34. Song, Q.J., J.R. Shi, S. Singh, E.W. Fickus, J.M. Costa, J. Lewis, B.S. Gill, R. Ward and P.B. Cregan. 2005. Develop and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. Theor Appl Genet, 110: 550-560.
35. Uthayakumaran, S., Y. Listiohadi, M. Baratta, I.L. Batey and C.W. Wrigley. 2006. Rapid identification and quantitation of high-molecular-weight glutenin subunits. Journal of cereal science, 44(1): 34-39.
36. Wilcoxson, R.D., B. Skovmand and A.H. Atif. 1975. Evaluation of wheat cultivars for ability to retard development of stem rust. Annals of Applied Biology, 80(3): 275-281.
37. Yu, K., S.J. Park and V. Poysa. 2000. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. Journal of Plant Breeding, 119: 411-415.
38. Zhang, H., X. Xia, Z. He, X. Li, Z. Li and D. Liu. 2011. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrBi16* in Chinese wheat cultivar Bimai 16. Molecular breeding, 28(4): 527-534.
39. Zhao X.L., T. Zheng, X. Xia, Z. He, D. Liu, W. Yang, G. Yin and Z. Li. 2008. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* in Chinese wheat line Zhou 8425B. Theor Appl Genet, 117: 1069-1075.
40. Zhou, H., X. Xia, Z. He, X. Li, C. Wang, Z. Li and D. Liu. 2013. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrNJ97* in Chinese wheat line Neijiang 977671. Theoretical and Applied Genetics, 126(8): 2141-2147.

Correlation analysis of some SSR markers with brown Rust Resistance Indices in Some Bread Wheat Cultivars

Sara Ali Mohammadzadeh¹, Ali Asghar Nasrollahnezhad Ghomi², Khalil Zaynali Nezhad³, Seyedeh Sanaz Ramezanpour⁴ and Mohammad Ali Dehghan⁵

1- Master Student of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

2- Assistant Professor of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Corresponding Author: nasrollahnejad@gau.ac.ir)

3, 4- Faculty members of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

5- Faculty member of Golestan Agricultural Research and Training Center

Received: 13 November 2019

Accepted: 1 August 2020

Abstract

Leaf rust of wheat caused by *Puccinia recondite tritici* is one of the most important diseases of wheat in the world. It is important to know the resistance genes and genotypes for wheat breeders. This study was performed to investigate the genetic variation of resistance to brown rust disease and to analyze the association of resistance indices in bread wheat using SSR molecular markers. In this study, 32 bread wheat cultivars were planted in a randomized complete block design with three replications in 1965-1959 at the Iraqi Research Station in Gorgan. Genotypes were evaluated for traits such as infection type, percentage of infection and area under disease progression curve. Communication analysis was performed using two steps of stepwise regression and single marker based on completely unbalanced randomized design. Results of analysis of variance showed that genotypes were significantly different at 1% probability level for the studied traits. The highest positive correlation coefficient was observed between the type of infection and the percentage of infection and then between the percentage of infection and the area under the curve of disease progression. Stepwise regression results showed that in total nine SSR markers were significantly associated with at least one of the three traits studied. Coefficients of explanation for SSR markers varied from 24.1% (severity of infection) to 95.9% (infection type). *Xgwm344* marker in the infection type and infection percentage with 62% and 58.3% and *Xgwm547* marker in the infection type with 51.6% had the highest coefficient of explanation as group marker. Results of single marker method showed that markers *Xgwm146*, *Xgwm344*, *Xgwm547*, *Xwmc317*, *Xcfa2257* and *Xbarc159* with all three traits and *Xgwm582* marker with two traits of infection type and percentage of contamination. According to the results of both methods, five markers *Xgwm146*, *Xgwm344*, *Xgwm547*, *Xwmc317* and *Xbarc159* showed correlation with all three traits and *Xbarc8* marker did not show any association with any of the traits.

Keywords: Leaf rust, Microsatellite marker, Resistance to disease, Wheat