مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هفتم، شماره هیجدهم، تابستان ۱۳۹۶ (۵۶-۴۱)

Crop Biotech.
Summer (2017) 18: 41-56.

بررسی تنوع ژنتیکی و ارتباط برای صفات مرفوفنولوژیک و مقاومت به بیماری سفیدک پودری در ژرم‌پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR، IRAP و iPBS

حوریه مسعودی[۱]، حسین صبوری[۲*]، فاختک طلیعی[۳]، جبار آلت جعفربای[٤]
۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس
۲. دانشیار گروه تولیدات گیاهی دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس
۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس
٤. مربی پژوهش، بخش تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹٦/۵/۱۰)

Genetic diversity and association analysis for morphophenolgic traits and resistance to Powdery mildew using ISSR, IRAP and iPBS markers

Hooriyeh Masoudi[1], Hosein Sabouri[2*], Fakhtak Taliey[3], Jabbar Alat Jafarby[4]
1. M.Sc. Student of Agricultural Biotechnology, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
2. Assocate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.
4. Academic member, Seed and Plant Improvement Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran.
(Received: Mar. 13, 2017 - Accepted: Aug. 1, 2017)

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط برای صفات مورفوفنولوژیک و مقاومت به بیماری سفیدک پودری در ژرم‌پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR، IPBS و IRAP ، ۱۱۵ ژنوتیپ گندم در سال زراعی ۹٤-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. ژنوتیپ‌ها از تنوع بالایی برخوردار بوده و بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری از لحاظ کلیه صفات مورد ارزیابی بجز طول دانه وجود داشت. به‌منظور ارزیابی تنوع مولکولی در ٦۰ ژنوتیپ گندم، تکثیر از ۸ آغازگر ISSR، IPBS و IRAP استفاده شد. از ٦۱ باند تشکیل شده ٤۷ باند چند شکل بودند. تعداد باندهای چند شکل از ۲ تا ۱٤ به ازای هر آغازگر متفاوت بود. بیشترین و کمترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر نوع ISSR و iPBS به ترتیب با ۱۰۰ و ۵۰ درصد بود. همچنین در این بررسی واکنش ٦۰ ژنوتیپ و لاین گندم در برابر قارچ عامل بیماری در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه خوشه‌ای لاین‌ها را در سه گروه حساس، مقاوم و حدواسط قرار داد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین به روش LSD، لاین‌های ۱۲۷ و ۸۰۱ مقاوم‌ترین لاین‌ها بودند در حالی که لاین‌های ۳۹۰، ۵۱۵ و ۸۳۳ بیشترین حساسیت را نسبت به بیماری نشان دادند. تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات نشان داد که ٥٦ آلل با صفات در ارتباط هستند و آلل PR50-6 بیشترین ارتباط را با صفات مورد ارزیابی داشت. با استفاده از نتایج این پژوهش ژنوتیپ‌های برتر می‌توانند برای مراحل بعدی به‌نژادی گزینش شوند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، نشانگرهای مولکولی، تجزیه ارتباط، سفیدک پودری، گندم.

Abstract

In order to evaluation of genetic diversity and association analysis of morpho-phonological traits and mildew disease of wheat germplasm, 115 wheat genotypes were planted in the research field of Gonbad Kavous University as RCBD design with 3 replications in 2015-16. According to the results, there was a significant difference between all measured traits except grain length. In order to evaluation of molecular diversity in 60 wheat genotypes, 8 ISSR, IPBS and IRAP primers were used. Out of 61 bands produced in total, 47 bands were polymorph. The number of polymorphic bands was different range from 2 to 14 bands for each primer. The maximum percent of polymorphism with %100 polymorphism belonged to PRI-46 primer, and the minimum percent of polymorphism with %50 polymorphism belonged to PRI-59, PRI -10 and PRI-5 primers. In this study, also 60 genotypes and lines of wheat were evaluated in-vitro against Bgt. Cluster analysis of data of Powdery mildew caused was grouped lines in three groups of sensitive, resistance and median using UPGMA algorithm and Euclidian distance. Mean comparison using LSD indicated that lines 127 and 801 were high resistance but lines 390, 515 and 833 were susceptible to Bgt. Association analysis between markers and traits morpho-phenological showed that a total of 56 alleles showed a connection between the characters and PR50-6 allele associated most relevant to the characters. Based on results of this research, the higher genotypes could be screened for advanced wheat breeding steps.

Keywords: Genetic diversity, Molecular markers, Association analysis, Resistance, Wheat.

* نویسنده مسئول: حسین صبوری
E-mail: hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین صفات فیزیولوژیک و موفولوژیک در جمعیت‌های مختلف، همبستگی آنها با عملکرد دانه و وراثت پذیری بالا سبب می‌شود که بتوان از آن‌ها به عنوان شاخص‌های گزینش در کنار روش‌های نوین مولکولی در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر استفاده کرد (Pierre *et al*., 2010). با توجه به افزایش تقاضای جهانی و کشوری برای گندم، اصلاح ارقامی با پتانسیل بالاتر عملکرد و کیفیت دانه، ضروری به نظر می‌رسد (Vanda & Hoshmand, 2011). تنوع ژنتیکی اساس بیشتر برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی بوده و انجام گزینش منوط به وجود تنوع ژنتیکی مطلوب از نظر ویژگی‌های مورد بررسی است (Ashrafi Parchin *et al*., 2011).

نخستین ارزیابی‌های تنوع، بر اساس نتایج مورفولوژی و ارزیابی صفات زراعی بوده است که هنوز هم عمدتاً بدلیل سادگی آن‌ها و البته بسته به هدف محقق و میزان دقت، مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه از نشانگرهای DNA به‌عنوان ابزاری مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم‌پلاسم و تعیین مکان ژن‌های مقاومت به بیماری و تنش‌های محیطی و همچنین رابطه بین اجداد وحشی و رقم‌های اصلاح‌شده در گیاهان استفاده می‌شود (Condon *et al*., 2008). ارزیابی تنوع به روش‌های مختلفی انجام می‌شود، اما در این میان روش‌هایی که در سطح مولکولی و بر اساس ماده ژنتیکی صورت می‌گیرد، جدیدتر، آسان‌تر، سریع‌تر و شاید قابل اعتمادتر از سایر روش‌ها باشند. در بررسی تنوع ژنتیکی ۴۸ رقم گندم نان و ۵۱ رقم گندم دوروم در کشور پرتغال که با استفاده از ۱۸ آغازگر ISSR انجام شد در مجموع ۹۶/۳ درصد چندشکلی برای ارقام گندم نان و ۹۸/۵ درصد چندشکلی برای ارقام گندم دوروم گزارش کردند (Carvalho *et al*., 2009). این پژوهشگران اشاره کردند که ISSR بازتاب خوبی از تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای، بین گونه‌ای و بین ارقام‌ها را نشان می‌دهد. به منظور بررسی ۸ رقم گندم (*Triticum aestivum* L.) از ۵ آغازگر ISSR و ۲ آغازگر SSR استفاده گردید و از مجموع ۴۳ باند تکثیر شده توسط ۵ آغازگر ISSR، ۲۹ باند (۶۷/۴۴ درصد) چندشکلی مشاهده شد (Zhu *et al*., 2011). تعداد باندهای چند شکل تکثیر شده توسط هر یک از آغازگرهای ISSR در دامنه ۳ تا ۸ باند بود و میانگین تعداد باندها برای هر پرایمر ۴/۸ بود و آغازگر UBC-849 قادر به تشخیص تمام ارقام مورد مطالعه بود. شباهت ژنتیکی بین ذخایر هیبریدهای تریتیکاله با استفاده از ۱۴ نشانگر ISSR را بررسی گردید و گزارش گردید که نشانگر ISSR یک روش قابل‌اعتماد برای شناسایی کروماتین *A. juvenalis* در تریتیکاله و هم‌چنین تخمین شباهت ژنتیکی بین هیبریدها و فرم‌های والدی است (Gradzielewska *et al*., 2012). اهداف این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم از طریق برخی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و نشانگرهای مولکولی ISSR, IPBS, IRAP و تعیین روابط ژنتیکی آن‌ها جهت شناسایی والدین مناسب برای برنامه‌های اصلاحی و ژنتیکی بود.

مواد و روش‌ها

در این بررسی ابتدا ۱۱۵ ژنوتیپ گندم از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گنبد کاووس تهیه شد. ژنوتیپ‌ها بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار کشت شدند. صفات روز تا سبز شدن، روز تا خوشه‌دهی، روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی و ارتفاع در مزرعه و صفات عملکرد بیولوژیک، طول پدانکل، طول ریشک، طول برگ، وزن برگ، وزن دانه، وزن هر خوشه، وزن کل خوشه‌ها، وزن هزار دانه، وزن دانه‌های هر خوشه، قطر پدانکل، قطر دانه، طول دانه، تعداد دانه در سنبله، تعداد کل خوشه‌ها، عملکرد اقتصادی، شاخص برداشت، تعداد سنبلچه، طول دوره پر شدن دانه و عملکرد کاه در آزمایشگاه زراعت

دانشگاه گنبد کاووس ثبت گردید. از بین ۱۱۵ ژنوتیپ گندم مورد بررسی تعداد ۶۰ ژنوتیپ انتخاب شدند و واکنش آن‌ها نسبت به بیماری سفیدک پودری گندم مورد ارزیابی قرار گرفت. جدایه قارچ عامل بیماری (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) از بخش تحقیقات پاتولوژی غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در آزمایشگاه روی رقم حساس گندم بولانی در دمای ۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ ٪ در طول مدت این بررسی تکثیر و نگهداری شد. برای ارزیابی ارقام گندم در مقابل عامل بیماری، بذور مورد نیاز هر رقم به مدت ۱۰ دقیقه با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و بر روی کاغذ فیلتر مرطوب در تشتک پتری قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی، بذور به گلدان حاوی خاک منتقل شده و با تناوب ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۲ درجه سلسیوس و ۸ ساعت تاریکی بادمای ۲۰ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۷۰ ٪ به مدت یک هفته نگهداری شدند. آلوده سازی ژنوتیپ‌های گندم به روش زیر انجام شد. برگ اول گیاهچه‌های یک هفته‌ای بریده شد و در سه تکرار و دو بار در قالب طرح کاملاً تصادفی روی محیط آب آگار ۵ درصد حاوی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیمیدازول داخل تشتک های پتری‌دیش پخش شدند. نمونه‌های آماده شده داخل اتاقک مکعبی با اسپورهای *B. graminis* (به نسبت ۵ اسپور در میلی‌متر مربع) آلوده شده و پس از آن به اتاقک رشد منتقل شدند. یک هفته بعد از آلوده‌سازی، تعداد کلنی رشد یافته در سطح۲ سانتی‌متر مربع هر برگ شمارش شدند (Eichmann *et al.*, 2006; Babaeizad *et al.,* 2009). استخراج DNA به روش CTAB (Saghi Maroof *et al.*, 1994) و تعیین کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد. از بین ۱۱۵ نمونه تعداد ۶۰ نمونه که DNA آن‌ها از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند انتخاب گردید. پس از انجام واکنش PCR الکتروفورز DNA تکثیری روی ژل اکریل‌آمید ۶ درصد انجام گرفت و رنگ‌آمیزی به روش رنگ‌آمیزی سریع نیترات نقره (An *et al.*, 2009; Byun *et al.*, 2009) صورت گرفت. تنوع ژنتیکی برای صفات مرفوفنولوژیک ارقام با استفاده از مارکرهای ترانسپوزونی IPBS، IRAP و مارکرهای ISSR شناسایی شدند. تجزیه و تحلیل داده‌های مرفوفنولوژیک با استفاده از نرم‌افزارهای EXCEL، SAS و SPSS و داده‌های مولکولی بعد از امتیازبندی باندها به‌صورت صفر و یک، با استفاده از نرم‌افزارهای Popgene و تجزیه ارتباط داده‌های مورفولوژیکی و داده‌های حاصل از نشانگرها از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

نوع آغازگر	نام آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال (تاج داوون)
IPBS	PRI-59	AGAGAGGCTCGGATACCA	50 تا 55 درجه سانتی‌گراد
IRAP	PRI-50	CACTTCAAATTTTGGCAGCAGCGGATC	62 تا 67 درجه سانتی‌گراد
ISSR	PRI-46	GTTGTTGTTGTTGTTGTTA	42 تا 47 درجه سانتی‌گراد
IPBS	PRI-44	CTTCTAAGCGCCA	50 تا 55 درجه سانتی‌گراد
IRAP	PRI-35	ATTCTCGTCCGCTGCGCCCCTACA	62 تا 67 درجه سانتی‌گراد
ISSR	PRI-28	GTGTGTGTGTGTGTGTT	42 تا 47 درجه سانتی‌گراد
IPBS	PRI-17	AGCCTGAAAGTGTTGGGTTGTCG	62 تا 67 درجه سانتی‌گراد
IPBS	PRI-15	CTCATGATGCCA	50 تا 55 درجه سانتی‌گراد
IPBS	PRI-10	ACCTAGCTCACGATGCCA	50 تا 55 درجه سانتی‌گراد
IPBS	PRI-5	AACCTGGCTCAGATGCCA	55 تا 60 درجه سانتی‌گراد

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هفتم، شماره هیجدهم، تابستان ۱۳۹۶ (۵۶-۴۱)

Crop Biotech.
Summer (2017) 18: 41-56.

نتایج و بحث

ارزیابی‌های مزرعه‌ای

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند به‌جز صفت وزن دانه که در سطح پنج درصد معنی‌دار بود و صفت طول دانه که اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشاهده نگردید (جدول ۲). همچنین تجزیه واریانس داده‌های واکنش به بیماری بر روی ۶۰ ژنوتیپ مورد بررسی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد (P<۰/۰۱) بین واکنش ژنوتیپ‌ها به بیماری سفیدک پودری بر اساس تعداد کلنی ظاهر شده، وجود داشت (جدول ۳). نتایج به‌دست آمده حاکی از وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در بین ژنوتیپ‌ها بوده که می‌تواند برای برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین، ژنوتیپ‌های ۱۰۹، ۸۳۳، ۷۰۹، ۶۸۵، ۸۰۱ و ۸۴۹ دارای بالاترین عملکرد بودند. دو لاین ۱۲۷ و ۸۰۱ مقاوم‌ترین لاین‌ها بودند در حالی که لاین‌های ۳۹۰، ۵۱۵ و ۸۳۳ بیشترین حساسیت را نسبت به بیماری نشان دادند. به‌طور کلی با توجه به تجزیه رگرسیون و صفات تعداد پنجه در مترمربع، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیک، تعداد پنجه هربوته، تعداد کل سنبله‌ها و ارتفاع بیشترین تغییرات عملکرد را توجیه کرده و با توجه به بیشترین همبستگی این صفات با عملکرد دانه، ارقام ۸۴۹، ۸۴۴، ۸۲۷، ۸۰۱، ۷۳۸، ۷۰۹، ۵۷۵ و ۱۰۹ از لحاظ این صفات دارای ارزش بالاتری بوده و ارقام با عملکرد بالاتر معرفی شدند.

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات مورفوفنولوژیک و واکنش به بیماری در ۱۱۵ ژنوتیپ مختلف گندم مورد بررشی در این تحقیق

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		عملکرد بیولوژیک	تعداد کل پنجه در متر مربع	تعداد پنجه در بوته	عمکرد کاه	طول دوره پرشدن دانه	عملکرد اقتصادی	شاخص برداشت	وزن کل سنبله‌ها	تعداد روز تا خوشه دهی	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	تعداد روز تا سبزشدن	تعداد دانه در سنبله
تکرار	2	2977290^{ns}	16235.24^{ns}	60.57^{*}	2367168^{ns}	7.85^{ns}	258148.7^{ns}	23.70^{ns}	12144.22^{ns}	28.07^{**}	6.63^{ns}	0.02^{ns}	4.89^{ns}
رقم	114	24516723^{**}	48647.46^{**}	29.39^{**}	16245478^{**}	15.90^{**}	3298182.8^{**}	67.32^{**}	50517.50^{**}	47.00^{**}	19.90^{**}	0.69^{**}	65.46^{**}
خطا	225	11810629	22174.14	15.190	8392913	4.18	835707.5	29.87	22966.18	3.11	3.10	0.13	19.150
ضریب تغییرات		17.56	22.16	25.81	19.59	6.29	19.12	22.09	21.0091	1.42	1.12	2.89	10.42

**، * و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار.

ادامه جدول ۲. تجزیه واریانس صفات مورفوفنولوژیک و واکنش به بیماری در ۱۱۵ ژنوتیپ مختلف گندم مورد بررشی در این تحقیق

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات											
		عملکرد بیولوژیک	تعداد کل پنجه در متر مربع	تعداد پنجه در بوته	عمکرد کاه	طول دوره پرشدن دانه	عملکرد اقتصادی	شاخص برداشت	وزن کل سنبله‌ها	تعداد روز تا خوشه دهی	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	تعداد روز تا سبزشدن	تعداد دانه در سنبله
تکرار	2	2977290^{ns}	16235.24^{ns}	60.57^{*}	2367168^{ns}	7.85^{ns}	258148.7^{ns}	23.70^{ns}	12144.22^{ns}	28.07^{**}	6.63^{ns}	0.02^{ns}	4.89^{ns}
رقم	114	24516732^{**}	48647.46^{**}	29.39^{**}	16245478^{**}	15.90^{**}	3298182.8^{**}	67.32^{**}	50517.50^{**}	47.00^{**}	19.90^{**}	0.69^{**}	65.46^{**}
خطا	225	11810629	22174.14	15.190	8392913	4.18	835707.5	29. 87	22966.18	3.11	3.10	0.13	19.150

* نویسنده مسئول: حسین صبوری
E-mail: hos.sabouri@gmail.com

ضریب تغییرات	17.56	22.16	25.81	19.59	6.29	19.12	22.09	21.0091	1.42	1.12	2.89	10.42

**، * و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار.

جدول ۳. تجزیه واریانس واکنش به بیماری سفیدک پودری در ۶۰ ژنوتیپ گندم

منابع تغییر	درجه آزادی	بیماری سفیدک پودری گندم
رقم	59	127.29**
خطا	120	2
ضریب تغییرات		18

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد.

تجزیه رگرسیون و علیت

با توجه به جدول تجزیه رگرسیون مرحله‌ای (جدول۴)، صفت عملکرد دانه در متر مربع به‌عنوان متغیر وابسته در مقابل دیگر صفات قرار گرفت. صفت تعداد کل پنجه در متر مربع اولین صفتی بود که وارد مدل شد و ۶۳ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه کرد و سپس صفات شاخص برداشت و عملکرد بیولوژیک به‌ترتیب وارد مدل شدند و به‌ترتیب مجموعاً ۸۱ و ۸۹ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه نمودند (Mass *et al*., 1996). نیز با تجزیه رگرسیون مرحله‌ای در گندم نان نشان دادند که عملکرد دانه به تعداد پنجه‌های بارور وابسته می‌باشد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. بر اساس نتایج به‌دست آمده صفت تعداد کل پنجه در مترمربع بیشترین اثر را بر روی عملکرد داشت، به‌طوری که نتایج به‌دست آمده نیز نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۸۴۹ (Golestan/4/BABAX/LR42//BABAX* (2/3/VIVITSI (520EB2th)/5/ARTA)، ۱۴۸ (NG8319//SHA4/LIRA CMBW90M2302-6M-010M/3/WBLL1*2/TUKURU)، ۱۰۹ (NG8319//SHA4/LIRA CMBW90M2302-6M-010M…/3/ALDAN/CIANO67//PASTOR) و ۴۳۸ (PARSI//Nanjing 8201/Kauz) با داشتن تعداد پنجه بیشتر نسبت به سایر ارقام دارای عملکرد بالاتری نیز بودند.

تجزیه علیت بر اساس نتایج رگرسیون مرحله‌ای انجام شد. در این راستا صفت عملکرد دانه در مترمربع به‌عنوان متغیر وابسته و صفات عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت، تعداد کل پنجه در متر مربع به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند (جدول ۵). نتایج حاصل از تجزیه علیت نشان داد که صفت شاخص برداشت بیشترین اثر مستقیم را بر عملکرد دانه در مترمربع داشت (۰/۶۴۰). کمترین اثر مستقیم مربوط به صفت تعداد کل پنجه در مترمربع بود (۰/۱۵۰). بعد از شاخص برداشت، صفت عملکرد بیولوژیک بیشترین اثر مستقیم را بر عملکرد دانه داشت (۰/۵۶۶). اثر غیرمستقیم عملکرد بیولوژیک از طریق تعداد کل پنجه در مترمربع مثبت بود (۰/۱۲۱۵). اثر غیرمستقیم صفت تعداد کل پنجه در متر مربع از طریق عملکرد بیولوژیک مثبت و قابل توجه بود. (۰/۴۵۸) در تحقیقی که توسط (Norkhalaj *et al*., 2010) انجام شده است اظهار شد که بزرگترین اثرات مستقیم و مثبت بر عملکرد دانه مربوط به صفات عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت بود و بزرگترین تأثیر مستقیم و منفی مربوط به صفت ارتفاع گیاه بود. همچنین (Syed Aghamiri *et al*., 2010) بیان کردند که بر اساس نتایج تجزیه علیت صفت عملکرد بیولوژیک (۰/۹۹۲) دارای بیشترین اثر مستقیم و مثبت بر عملکرد دانه بود و با نتایج این تحقیق مشابه است.

تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورفوفنولوژیک

تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورفوفنولوژیک با

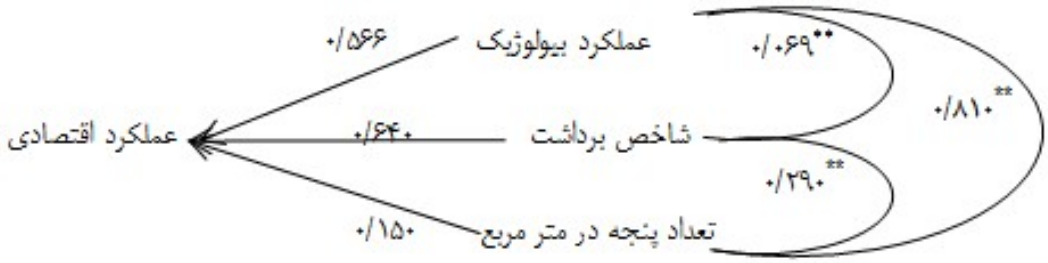
استفاده از روش وارد ، ژنوتیپ‌ها را در دو گروه[1] تقسیم‌بندی کرد (شکل ۲). در این پژوهش برای نشان دادن ارزش هر یک از گروه‌ها از نظر صفات مورد ارزیابی، درصد انحراف میانگین هر یک از خوشه‌ها از میانگین کل محاسبه شد (جدول ۶). گروه اول از نظر شاخص برداشت در سطح متوسط بود به‌جز ژنوتیپ‌های ۶۰، ۱۶، ۶۵۵، ۱۵، ۹۲۳ و ۹۲۶ که شاخص برداشت پایینی داشتند و در مقابل، ژنوتیپ‌های گروه دوم از لحاظ شاخص برداشت ارزش بالاتری داشتند. از لحاظ عملکرد بیولوژیک و تعداد پنجه در متر مربع ژنوتیپ‌های گروه اول دارای ارزش بالاتری نسبت به گروه دوم بودند. گروه اول صفات مهمی چون عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد پنجه در متر مربع، وزن هزار دانه، وزن کل سنبله‌ها در متر مربع و تعداد سنبله در متر مربع برای اصلاح در جهت افزایش عملکرد دانه

را به همراه دارد. بنابراین طبق نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای و سایر نتاج از این تحقیق، ژنوتیپ‌های گروه اول نسبت به گروه دوم ارزش بیشتری داشنه و توصیه می‌شوند. (Arzani, 2002) در تحقیق خود به منظور گروه بندی ۴۵۰ ژنوتیپ مورد مطالعه از تجزیه خوشه ای استفاده نمود و بر این اساس مجموعه ژرم پلاسم تحت بررسی را به داخل ۱۷ کلاستر مجزا طبقه بندی کرد. طبق نتایج حاصل از این تحقیق تعداد پنجه در مترمربع همبستگی بالایی با عملکرد دانه داشت و همچنین در تجزیه رگرسیون اولین صفتی بود که وارد مدل شد و در تجزیه علیت نیز اثر مستقیم و مثبت داشت، بنابراین برای بهبود عملکرد به‌کارگیری راه‌کارهایی برای بالا بردن تعداد پنجه در متر مربع ضروری می‌باشد.

1. WARD

جدول ۴. نتایج رگرسیون مرحله‌ای برای عملکرد دانه در ۱۱۵ ژنوتیپ مختلف گندم

صفت	ضرایب رگرسیون	ضریب تبیین (R^2)	F	خطای استاندارد
تعداد کل پنجه در متر مربع	0.62	0.63	192.48	640.52
شاخص برداشت	0.81	0.81	250.56	455.11
عملکرد بیولوژیک	0.89	0.89	315.34	344.33



شکل ۱. نمودار تجزیه علیت نشان‌دهنده ارتباطات بین صفات و اثرات مستقیم آنها

جدول ۵. تجزیه ضرایب همبستگی به اثرهای مستقیم و غیرمستقیم برای عملکرد دانه در ۱۱۵ ژنوتیپ مختلف گندم

صفات	اثرات مستقیم	اثرات غیرمستقیم			همبستگی کل با عملکرد اقتصادی
		عملکرد بیولوژیک	شاخص برداشت	تعداد کل پنجه در مترمربع	
عملکرد بیولوژیک	0.566	–	-0.044	0.121	0.643**
شاخص برداشت	0.640	-0.039	–	0.043	0.644**
تعداد کل پنجه در متر مربع	0.150	0.458	0.185	–	0.794**

**: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد.

جدول ۶. میانگین گروه‌ها و انحراف آن‌ها از میانگین کل برای صفات مورد بررسی در ۱۱۵ ژنوتیپ مختلف گندم

صفات	گروه 1		گروه 2		میانگین کل
	میانگین	انحراف	میانگین	انحراف	
ارتفاع بوته	(91.03) a	-2.18	(85.45) b	3.40	88.85
تعداد روز تا خوشه‌دهی	(123.47) a	0.60	(125.00) a	-0.93	124.07
تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	(156.73) a	0.11	(156.45) a	-0.17	156.56
تعداد روز تا سبز شدن	(12.77) a	0.02	(12.81) a	-0.02	12.79
طول پدانکل	(23.00) a	-0.92	(30.66) b	1.42	32.08
طول سنبله	(9.13) a	-0.15	(8.75) a	0.23	8.98
طول ریشک	(5.33) a	-0.10	(5.09) a	0.14	5.23
طول برگ پرچم	(21.61) a	-0.42	(20.35) a	0.77	21.12
وزن برگ پرچم	(0.12) a	0.00	(0.11) a	0.01	0.12
قطر پدانکل	(2.88) a	-0.01	(2.86) b	0.01	2.86
تعداد دانه در سنبله	(42.16) a	-0.19	(41.67) a	0.30	41.97
قطر دانه	(2.84) a	0.02	(2.88) a	-0.02	2.86
طول دانه	(5.74) a	0.01	(5.73) b	0.00	5.73
وزن دانه	(0.03) a	0.00	(0.03) a	0.00	0.03

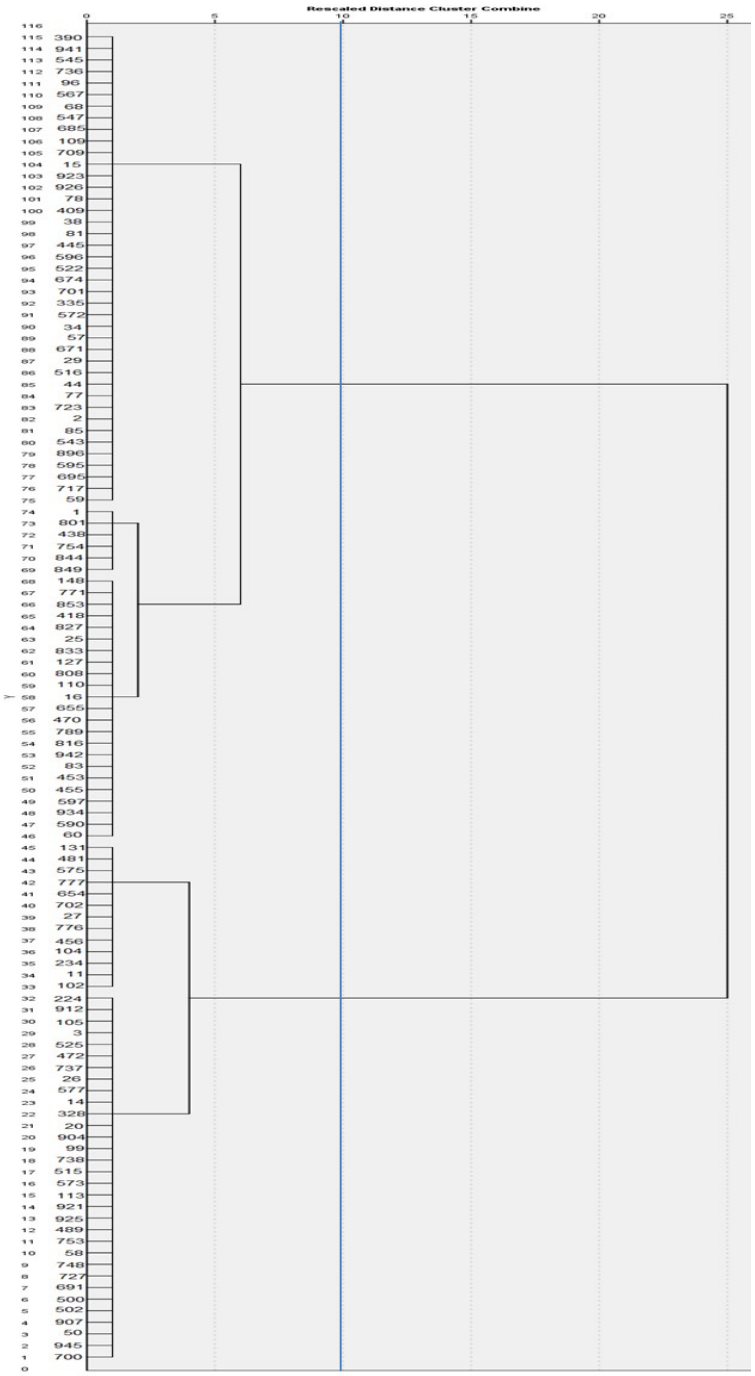
* نویسنده مسئول: حسین صبوری
E-mail: hos.sabouri@gmail.com

تعداد کل سنبله‌ها	(585.56) a	-43.45	(474.52) a	67.59	542.11
وزن کل سنبله‌ها	(792.06) a	-70.73	(611.31) a	110.02	721.33
وزن هزار دانه	(30.64) a	-0.10	(30.39) a	0.15	30.54
شاخص برداشت	(24.19) a	0.55	(25.60) a	-0.86	24.74
عملکرد دانه	(5154.98) a	-347.72	(4197.37) b	582.89	4780.28
تعداد سنبلچه	(16.08) a	0.12	(16.38) a	-0.18	16.20
تعداد بوته سبز شده	(51.39) a	-1.79	(46.82) a	2.78	49.60
طول دوره پر شدن دانه	(32.98) a	-0.49	(31.73) a	0.79	32.49
عملکرد کاه	(16228.59) a	-1444.76	(12536.41) a	2247.42	14783.83
تعداد پنجه در متر مربع	(740.67) a	-68.94	(564.49) a	107.24	671.73
عملکرد بیولوژیک	(21383.57) a	-1819.48	(16733.87) a	2830.31	19564.09
تعداد پنجه هر بوته	(15.98) a	-0.86	(13.75) b	1.35	15.10

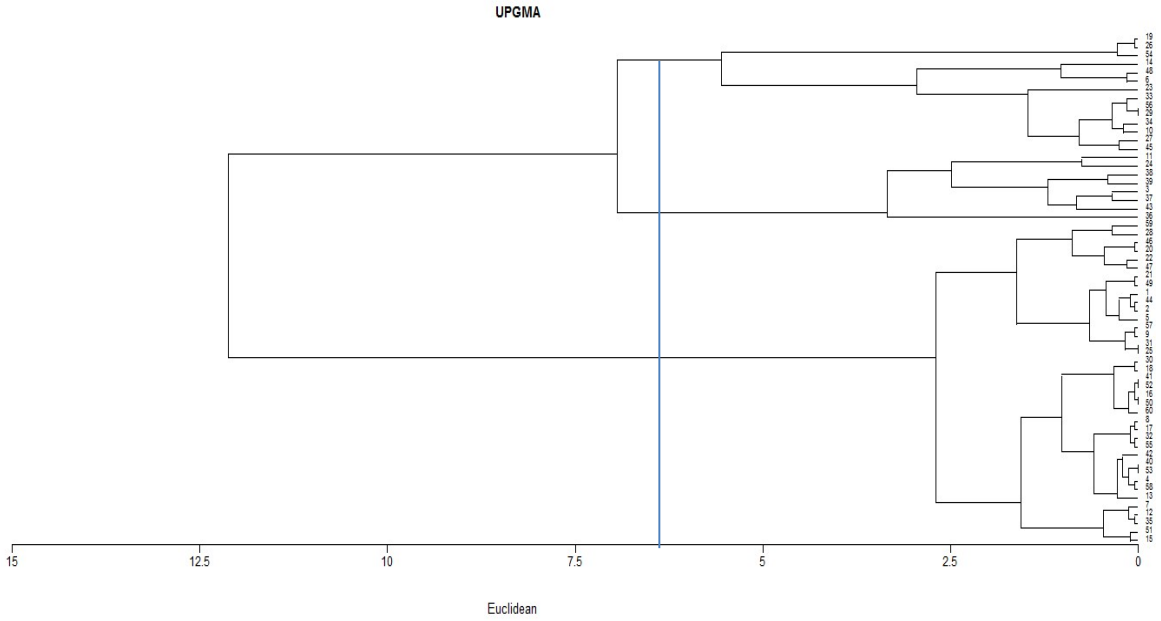
اختلاف دو گروه دارای علامت‌های متفاوت از نظر آماری و در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است.

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس واکنش به بیماری سفیدک پودری

تجزیه خوشه‌ای داده‌ها با استفاده از الگوریتم UPGMA و بر اساس فاصله اقلیدسی، لاین‌ها را در سه گروه حساس، مقاوم و حدواسط قرار داد (شکل۳). گروه اول از لحاظ مقاومت به بیماری سفیدک پودری نسبت به سایر گروه‌ها حساس‌تر بوده و تعداد کلنی بیشتری در واحد سطح نسبت به گروه‌های دوم و سوم بر روی سطح برگ ژنوتیپ‌های این گروه تشکیل شد. گروه دوم در برابر بیماری سفیدک پودری نیمه حساس بودند. گروه سوم که بزرگترین گروه نیز بود نسبت به گروه‌های اول و دوم مقاومتر بودند. بیشترین تعداد ژنوتیپ‌های گروه اول تجزیه خوشه‌ای براساس مقاومت به بیماری سفیدک پودری در گروه پنجم تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرها و در گروه دوم تجزیه خوشه‌ای حاصل از ژنوتیپ‌ها قرار داشت وژنوتیپ‌های ۴۸۱، ۵۷۷ و ۷۳۷ در گروه‌های ذکر شده مشترک بودند. تعداد ۲۷ ژنوتیپ گروه سوم از تجزیه کلاستر حاصل از بیماری سفیدک پودری شامل ۴۵۳، ۷۵۴، ۴۷۰، ۱، ۷۲۳، ۲، ۶۰، ۹۶، ۵۴۷، ۵۴۵، ۳۳۵، ۷۰۱، ۸۰۸، ۱۴۸، ۷۸۹، ۹۴۲، ۸۱، ۵۷۲، ۸۵۳، ۷۰۹، ۶۹۵، ۸۱۶، ۴۴، ۷۸، ۵۹۵، ۸۰۱ و ۱۲۷ از لحاظ صفات مهمی مانند عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، تعداد پنجه در متر مربع، وزن هزار دانه، وزن کل سنبله‌ها در متر مربع و تعداد سنبله در متر مربع ارزش بالایی داشتند و همچنین مقاومت بالایی به بیماری سفیدک پودری نشان دادند. ژنوتیپ‌های ۳۹۰، ۶۸، ۵۱۶، ۵۴۳، ۷۵۴ و ۸۳۳ نیز از لحاظ صفات عملکردی ذکر شده ارزش بالایی داشتند ولی نسبت به بیماری سفیدک پودری حساس بودند.



شکل ۲. تجزیه خوشه‌ای ۱۱۵ ژنوتیپ گندم مورد بررسی بر اساس صفات مورفوفنولوژیک



شکل ۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای واکنش ۶۰ ژنوتیپ گندم نسبت به بیماری سفیدک پودری
۱۲۷:۱۵، ۸۰۱:۵۱، ۵۹۵:۳۵، ۱۰۴:۱۲، ۷۸:۷، ۱۰۵:۱۳، ۹۲۱:۵۸، ۴۴:۴، ۶۹۵:۵۳، ۸۱۶:۴۰، ۷۰۹:۴۲، ۸۵۳:۵۵، ۵۷۲:۳۲، ۳۲۸:۱۷، ۸۱:۸، ۹۴۲:۶۰، ۷۸۹:۵۰، ۱۴۸:۱۶، ۷۰۱:۵۲، ۸۰۸:۴۱، ۳۳۵:۱۸، ۵۴۵:۳۰، ۵۰۰:۲۵، ۵۴۷:۳۱، ۹۶:۹، ۹۱۲:۵۷، ۶۰:۵، ۲:۲، ۷۲۳:۴۴، ۱:۱، ۷۷۷:۴۹، ۴۷۰:۲۱، ۷۵۴:۴۷، ۴۷۲:۲۲، ۴۵۳:۲۰، ۷۵۳:۴۶، ۵۲۵:۲۸، ۹۳۴:۵۹، ۶۵۵:۳۶، ۷۱۷:۴۳، ۶۷۱:۳۷، ۳۸:۳، ۶۸۵:۳۹، ۶۷۴:۳۸، ۴۸۹:۲۴، ۱۰۲:۱۱، ۷۳۷:۴۵، ۵۱۶:۲۷، ۹۹:۱۰، ۵۷۷:۳۴، ۹۰۷:۲۹، ۵۴۳:۵۶، ۵۷۳:۳۳، ۴۸۱:۲۳، ۶۸:۶، ۷۷۱:۴۸، ۱۱۳:۱۴، ۸۳۳:۵۴، ۵۱۵:۲۶، ۳۹۰:۱۹.

ارزیابی‌های مولکولی

معیارهایی برای تنوع مولکولی

تعداد آلل تشخیص داده شده در هر جایگاه برای نمونه‌های مورد بررسی یک شاخص خوبی از تنوع ژنتیکی می‌باشد (Nevo, 1978). نتایج (جدول۷) نشان داد که از میان ۸ آغازگر مورد بررسی، ۵ آغازگر چند شکلی مناسبی داشتند. آغازگرهای مورد استفاده در مجموع توانستند ۶۱ مکان را شناسایی کنند که ۴۷ مکان از آن‌ها چندشکلی را نشان دادند. از ۶۱ باند تشکیل شده ۷۷/۰۵ درصد از باندها چندشکل بودند و ۳۳/۹۵ درصد از باندها یک‌شکل بودند و نیز میانگین درصد چندشکلی ۷۲/۶۰ درصد بود، با توجه به این درصد چندشکلی می‌توان انتظار داشت که این نشانگرها یک ابزار قدرتمند در شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های گندم عمل نمایند. نشانگر PRI-50 با ۱۵ باند بیشترین تعداد باند و ترکیب نشانگری PRI-10 با ۴ باند کمترین تعداد باند را داشتند. آلل‌های چندشکل شناسایی شده برای هر نشانگر از ۲ تا ۱۴ آلل متغییر بود و به طور متوسط ۵/۸۷۵ آلل بود. محتوای اطلاعات چندشکل نیز بین ۰/۳۱ تا ۰/۴۱ متغیر بود و به‌طور متوسط ۰/۳۶۱ بود. بیشترین مقدار شاخص شانون برای ترکیب نشانگری PRI-5 با مقدار ۰/۵۵۰ به‌دست آمد، هر چند اختلاف چندانی با سایر آغازگرها نداشت. برآورد شاخص نی نشان داد میزان تنوع از ۰/۳۴ تا ۰/۳۶ متغییر است و آغازگر PRI-5 با مقدار ۰/۳۶ بیشترین و ترکیب آغازگری PRI-10 با مقدار ۰/۳۴ کمترین مقدار شاخص نی را داشتند و نیز میانگین این شاخص ۰/۳۶۵ برآورد شد. بالا بودن شاخص شانون و تنوع نی در آغازگر مذکور نشان‌دهنده این است که نسبت به شاخص

نشانگرهای به کار رفته، تنوع ژنتیکی درون جمعیت را بهتر توجیه می‌کند. بررسی کلی آماره‌های تنوع ژنتیکی نشان داد که از بین ۸ ترکیب آغازگری، سه ترکیب PRI-28 ، PRI-46 و PRI-50 نسبت به سایر ترکیبات نشانگری مقادیر بالاتری را به خود اختصاص دادند. در حقیقت می‌توان اذعان داشت که در تمایز ژنوتیپ‌ها نقش بارزتری ایفا می‌کنند. کمترین درصد چندشکلی با مقدار ۵۰ درصد به آغازگرهای PRI-10 ، PRI-5 و PRI-15 اختصاص یافت. آغازگرهای PRI-46 و PRI-50 و PRI-28 با داشتن بالاترین میزان درصد چندشکلی به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۳/۳۳ و ۸۷/۵ درصد نشانگرهای مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم بودند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، ۰/۳۶۱ برآورد شد که نشانگر PRI-28 با ۰/۴۱ بیشترین و PRI-10 با ۰/۳۱ کمترین PIC را نشان دادند. هم‌چنین کمترین شاخص نشانگری MI به نشانگر PRI-10 با مقدار ۰/۳۱ و بالاترین شاخص نشانگری MI هم با مقدار ۴/۴۹ به نشانگر PRI-50 تعلق گرفت. شاخص شانون یا آنتروپی شانون اولین بار از تئوری اطلاعات شانون به‌دست آمد (Shannon and Weaver, 1949). آغازگر PRI-50 بیشترین مقدار شاخص شانون را با مقدار ۰/۵۵ و آغازگر PRI-10 با مقدار ۰/۵۲ کمترین میزان شاخص شانون را داشتند. بارکر (1999) پیشنهاد کرد که به منظور کاهش خطای استاندارد تخمین فاصله‌ای، نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در مطالعات فاصله ژنتیکی باید بیشتر از ۴ آلل داشته باشند، بنابراین نشانگرهای ریز ماهواره در این مطالعه برای آنالیزهای تنوع ژنتیکی مناسب می‌باشند. تفاوت بین تعداد آلل و تعداد آلل مؤثر، حضور آلل‌های نادر را نشان می‌دهد که در یک یا تعداد کمی ژنوتیپ وجود دارد و می‌توان برای شناسایی آن‌ها استفاده شود. بیشترین میزان شاخص نشانگری در آغازگر PRI-50 با مقدار ۴/۴۹ مشاهده شد که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالاتر این آغازگر نسبت به سایر آغازگرها است و کمترین شاخص نشانگری هم مربوط به آغازگر PRI-10 بود. در آزمایشی از ۱۰ آغازگر ISSR برای شناسایی تنوع ژنتیکی ارقام و لاین های اصلاحی گندم استفاده شد که مجموعاً ۸۶ نوار تولیدشده، ۶۹ نوار از بین آن‌ها چندشکلی نشان دادند (۸۰/۲ درصد) (Najaphy *et al.*, 2011). با توجه به نتایج حاصل می‌توان بیان داشت که جایگاه ژنی PRI-50 به‌دلیل داشتن درصد چندشکلی، شاخص نشانگری و محتوای اطلاعات چندشکلی بیشتر، بیشتزین تنوع را بر روی جمعیت مورد مطالعه داشته است.

جدول ۷. نتایج حاصل از بررسی ۶۰ ژنوتیپ گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR و IPBS و IRAP

نام آغازگر	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چندشکل	درصد چندشکلی	MI	PIC	I	H_E	N_E
PRI-28	8	7	87.50	2.51	0.41	0.5433	0.3578	1.5570
PRI-46	6	6	100	2.22	0.37	0.5433	0.3578	1.5571
PRI-50	15	14	93.33	4.49	0.39	0.5446	0.3578	1.5601
PRI-17	8	6	75	1.62	0.36	0.5444	0.3578	1.5571
PRI-59	6	3	50	0.52	0.35	0.5491	0.3630	1.5699
PRI-15	8	6	75	1.53	0.34	0.5391	0.3509	1.5504
PRI-5	6	3	50	0.54	0.36	0.5509	0.3648	1.5754
PRI-10	4	2	50	0.31	0.31	0.5260	0.3425	1.5221
میانگین	7.625	5.875	72.60	1.71	0.36	0.542	0.365	1.556

MI: شاخص نشانگری، PIC: محتوای اطلاعات چندشکلی، I: شاخص شانون، H_E: شاخص تنوع ژتنیکی نی، N_E: تعداد آلل مؤثر.

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای ISSR، IRAP و IPBS

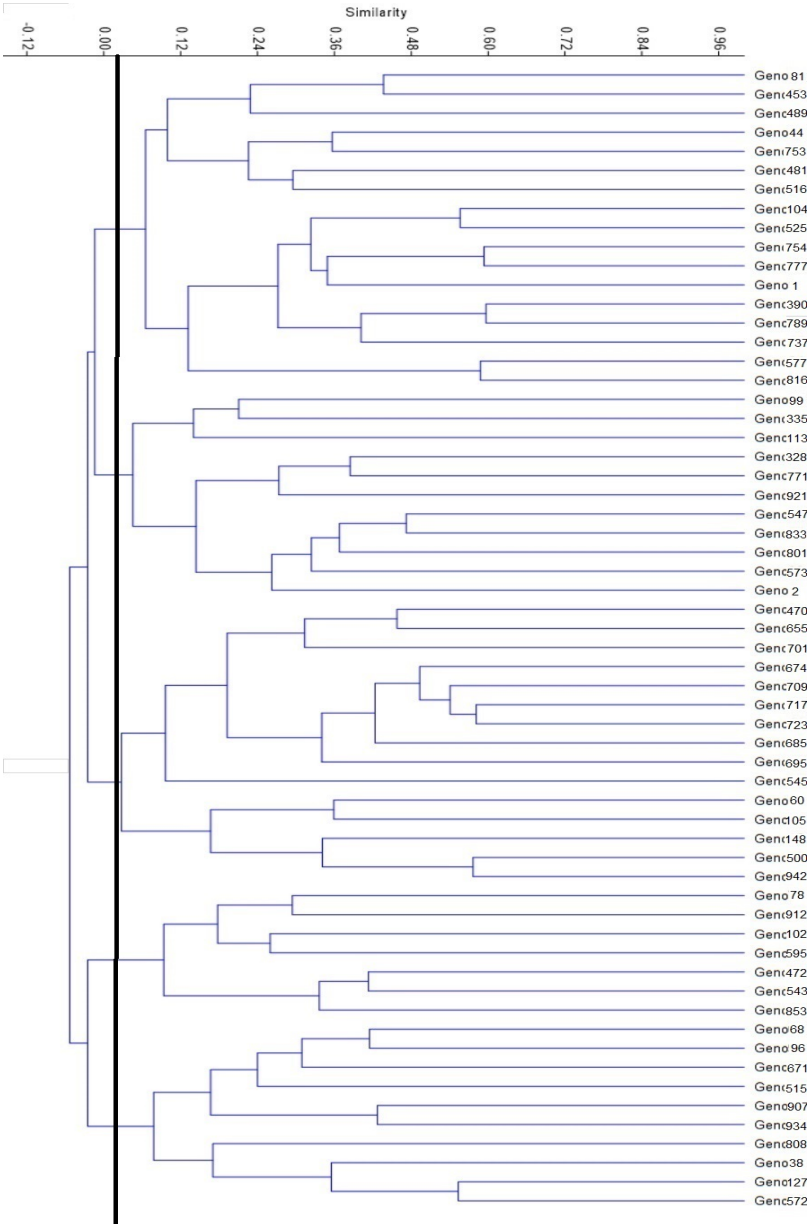
گروه‌بندی ۶۰ ژنوتیپ با تجزیه کلاستر بر اساس روش UPGMA و ضریب تشابه ژاکارد انجام شد و برش دندروگرام ژنوتیپ‌ها را به پنج گروه تقسیم کرد (شکل۴). گروه پنجم و گروه دوم به ترتیب با دارا بودن تعداد ۱۷ و ۷ ژنوتیپ بزرگترین و کوچکترین گروه بودند. نتایج نشان داد، ژنوتیپ‌هایی که در یک گروه قرار گرفته‌اند باوجود تفاوت‌های ظاهری دارای تعداد توالی‌های تکراری مشابه هستند. افراد داخل گروه‌ها دارای شباهت‌هایی بودند، برای مثال در بزرگترین گروه یعنی گروه پنجم ژنوتیپ‌های ۸۱۶، ۷۸۹، ۷۷۷، ۷۳۷، ۷۵۳، ۷۵۴، ۵۲۵، ۵۷۷، ۵۱۶، ۴۸۹، ۴۸۱، ۳۹۰، ۴۵۳، ۴۴ و ۸۱ دارای شجره مشابه بودند. Roldan-Ruiz (2001) اظهار داشتند ازآن‌جایی‌که نشانگرهای ISSR جزء نشانگرهای تصادفی هستند بنابراین قرارگیری ژنوتیپ‌های متفاوت از نظر ظاهری شاید به دلیل تکثیر مناطق غیر رمز کننده توسط آغازگرهای مورداستفاده در این بررسی باشد. البته تأثیر عوامل محیطی در بروز صفات ریخت‌شناسی نیز مورد توجه می‌باشد.

تجزیه ارتباط صفات مورفوفنولوژیک و مقاومت به بیماری سفیدک پودری

نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات فیزیولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه شد (جدول ۸) نتایج نشان داد که کلا ۵۶ آلل ارتباط بین صفات را نشان دادند. آلل PR50-6 با داشتن ۴ ارتباط بیشترین ارتباط را با صفات داشت که این صفات شامل تعداد روز تا سنبله‌دهی، طول برگ، تعداد دانه در سنبله و عملکرد اقتصادی بودند. همچنین آلل PR59-2 با صفات تداد روز تا سبز شدن، قطر دانه و وزن دانه ارتباط داشت. آلل PR28-2 با صفات طول دانه، شاخص برداشت و عملکرد کاه ارتباط داشت. آلل PR17-4 نیز با طول ریشک، قطر دانه و وزن دانه ارتباط داشت. سایر آلل‌ها نیز هرکدام با یک یا دو صفت ارتباط داشتند. بیشترین تعداد نشانگرها ابتدا با صفت وزن هزار دانه با ۶ نشانگر مرتبط بود و سپس با صفت وزن دانه با ۵ نشانگر و صفات قطردانه، عملکرد کاه، طول ریشک و تعداد دانه در سنبله با ۴ نشانگر و صفات عملکرد بیولوژیک، طول دانه و رسیدگی فیزیولوژیکی با ۳ نشانگر مرتبط بودند. همچنین تمام آلل‌ها با تمام صفات ارتباط معنی‌دار داشتند.

در مطالعه ۱۴۶ رقم جو بهاره با استفاده از ۲۳۶ نشانگر AFLP، ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات عملکرد و پایداری عملکرد را تعیین شد (Kraakman *et al*, 2004). رگرسیون چند گانه گام به گام نشان داد که ۱۸ تا ۲۰ نشانگر ۴۰ تا ۵۸ درصد تغییرات این دو صفت را تبیین کردند. ویرک و همکاران، رابطه بین صفات تاریخ گلدهی و تعداد پنجه را با نشانگرهای RAPD و ایزوزیم در ۴۷ نمونه برنج مورد مطالعه قرار دادند. رگرسیون چندگانه با استفاده از ۶۳ نشانگر RAPD و ۳۹ آلوزایم به عنوان متغیر مستقل و تاریخ گلدهی به عنوان متغیر وابسته نشان داد که ۲۹ نشانگر RAPD حدود ۹۹ درصد تغییرات را توجیه کردند. به عقیده این محققان، در صورتی که پیوستگی ژنتیکی علت اصلی رابطه بین نشانگرهای مولکولی و مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی باشد، یک مزیت رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات کمی، گزینش کارایی والدین به‌منظور ایجاد جوامع مورد استفاده در مکان‌یابی QTLهای یک صفت معین می باشد (Virk *et al*, 1996). از طرف دیگر، بدون توجه به دلایل وجود این روابط، کاربرد نشانگرهای مولکولی (که کم و بیش دارای توزیع تصادفی در ژنوم هستند) به همراه تجزیه رگرسیون چندگانه، کمک قابل توجهی در استفاده از تنوع زیستی گیاهان فراهم می‌نمایند. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفت بیماری سفیدک پودری نشان داد که فقط یک آلل ارتباط بین بیماری و نشانگرها را نشان

می‌دهد. آلل PR 46-5 با ضریب رگرسیون ۵/۰۹ و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد این ارتباط را نشان داد. در ایران سالاری۷۰ رقم تجاری گندم را در شرایط مزرعه نسبت به بیماری سفیدک پودری مورد آزمایش قرار داد که رقم سرخ تخم به عنوان حساسترین و رقم هیرمند به عنوان مقاومترین رقم، نسبت به جدایه‌های عامل بیماری در سیستان و بلوچستان بود (Salari, 2002). زو وهمکاران، به منظور بررسی ۸ رقم گندم از ۵ آغازگر ISSR و ۲ آغازگر SSR استفاده کردند و از مجموع ۴۳ باند تکثیر شده توسط ۵ آغازگر ISSR، ۲۹ باند (۶۷/۴۴ درصد) چندشکلی مشاهده شد (Zhu *et al*, 2011). تعداد باندهای چند شکل تکثیر شده توسط هر یک از آغازگرهای ISSR در دامنه ۳ تا ۸ باند بود و میانگین تعداد باندها برای هر پرایمر ۴/۸ بود و آغازگر UBC-849 قادر به تشخیص تمام ارقام مورد مطالعه بود.



شکل ۴. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای ISSR، IRAP و IPBS

جدول ۸. تجزیه ارتباط نشانگرها با صفات فنوتیپی مورد مطالعه

صفت	عرض از مبدا	پرایمر	خطای استاندارد	ضریب رگرسیون	F
عملکرد بیولوژیک	18836.685	PR 46-6	766.395	1830.819*	5.341
		PR 50-4	767.873	1778.209*	5.901
		PR 5-1	199.905	415.401*	5.603
تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	156.782	PR 15-3	0.100	-0.322**	7.994
		PR 50-7	0.715	1.993**	7.567
		PR 46-1	0.714	-1.703*	7.356
تعداد روز تا سنبله‌دهی	125.261	PR 15-3	0.152	-0.482**	9.663
		PR 50-6	1.087	-2.490**	7.810
تعداد روز تا سبز شدن	12.913	PR 59-2	0.024	-0.064**	5.855
		PR 50-12	0.137	0.315*	5.797
طول پدانکل	32.446	PR 5-2	0.213	0.447*	4.403
طول سنبله	8.792	PR 15-1	0.051	0.118*	5.443
طول ریشک	5.146	PR 17-4	0.017	-0.051*	7.894
		PR 25-2	0.149	0.391*	6.671
		PR 50-7	0.151	0.407**	6.426
		PR 50-5	0.151	-0.371*	6.760
طول برگ	20.928	PR 50-6	0.599	1.212*	4.092
وزن برگ	0.116	PR 15-1	0.001	0.002*	5.138
قطر پدانکل	2.950	PR 50-10	0.080	-0.174*	4.743
تعداد دانه در سنبله	41.207	PR 10-1	0.413	1.311**	5.761
		PR 50-6	1.165	3.195**	5.807
		PR 28-1	1.203	3.264**	5.575
		PR 46-5	1.199	-0.800*	5.876
قطر دانه	2.902	PR 50-14	0.025	-0.081**	7.854
		PR 28-3	0.025	-0.063*	7.257
		PR 59-2	0.005	0.018**	6.540
		PR 17-4	0.003	-0.011**	8.337
طول دانه	5.722	PR 50-3	0.049	0.174**	7.276
		PR 59-1	0.050	-0.135**	6.506
		PR 28-2	0.050	0.108*	6.217
وزن دانه	0.032	PR 28-6	0.001	-0.003**	10.082
		PR 5-2	0.001	0.000**	8.845
		PR 59-2	0.000	0.001*	8.609
		PR 15-5	0.001	-0.002*	8.865
		PR 17-4	0.000	0.000*	8.192
وزن کل سنبله‌ها	777.722	PR 46-2	35.632	-99.963**	5.180
		PR 17-6	35.632	83.656*	5.548
وزن هر سنبله	1.673	PR 15-5	0.071	-0.150*	4.504
وزن هزار دانه	32.027	PR 10-2	0.162	0.928**	10.483
		PR 5-1	0.246	-0.923**	11.087
		PR 28-4	0.776	-2.174**	9.433
		PR 50-1	0.792	-2.587**	8.844
		PR 46-4	1.017	-3.084**	8.429
		PR 50-14	1.031	2.167*	8.204
شاخص برداشت	25.667	PR 28-2	1.130	-3.138**	7.709
عملکرد اقتصادی	4760.166	PR 50-6	292.453	687.357*	5.524
وزن دانه‌های هر سنبله	1.093	PR 15-2	0.008	0.021*	6.683
تعداد سنبلچه	16.432	PR 15-4	0.045	-0.101*	5.073
تعداد بذور سبز شده	47.860	PR 17-3	2.051	5.134*	5.692
		PR 28-1	2.051	4.254*	5.160
عملکرد کاه	13905.055	PR 50-4	625.241	1970.884**	6.851
		PR 28-2	627.349	1650.541*	7.995
		PR 10-2	106.006	230.467*	7.254
تعداد پنجه هر بوته	15.669	PR 46-5	0.843	-2.132*	6.401
تعداد کل پنجه در متر مربع	726.530	PR 46-2	34.948	-96.596**	4.993
		PR 17-6	34.948	-82.133*	5.453
سفیدک پودری	6.912	PR 46-5	1.891	5.090*	7.247

** و * : به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

مقایسه سطوح تنوع بین تحقیقات مختلف دشوار است زیرا به تعداد الل‌های شناسایی شده در هر جایگاه، میزان تنوع ژنتیکی نمونه‌ها و نیز تعداد ژنوتیپ‌های مورد بررسی در تحقیق بستگی دارد. امروزه در گندم ۴۱ لوکوس با بیش از ۶۰ ژن/الل مقاومت به بیماری سفیدک پودری شناسایی شده‌اند (Alam *et al.,* 2011). در این تحقیق تنها یک پرایمر قادر به شناسایی واکنش ژنوتیپ‌های مورد بررسی به بیماری بود. که علت آن اندازه بزرگ ژنوم گندم و عدم تجزیه مولکولی قسمت‌های مختلف آن با استفاده از تعداد معدود نشانگر مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد. بنابراین انجام تحقیقات بیشتر با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف و متعدد ضروری به نظر می‌رسد. همچنین با توجه به اینکه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های گندم دارای مقاومت گیاه کامل (Adult resistance) نسبت به بیماری سفیدک می‌باشند لزوم بررسی واکنش گیاهان در مرحله بلوغ توصیه می‌گردد.

نتایج این مطالعه بیانگر کارآمدی نشانگرهای مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی میان رقم‌های گندم مورد مطالعه می‌باشد که وجود این تنوع می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گندم در جهت بهبود کمیت و کیفیت پیشنهاد شود. از آن جایی‌که تلاقی ارقام و توده‌هایی که از نظر مولکولی دورتر می‌باشند می‌تواند ارقامی با تنوع بیشتر را ایجاد نماید، نتایج این پژوهش می‌تواند در جهت برنامه‌ریزی‌های اصلاحی به‌منظور ایجاد ارقام متنوع‌تر برای صفات مختلف مدنظر قرار گیرد. هم‌چنین این بررسی‌ها می‌تواند به منظور حذف نمونه‌های تکراری در بانک ژن مفید واقع شود. تشخیص نشانگرهای مورد بررسی در این تحقیق که مرتبط با چندین صفت بودند می‌توانند مقدمه‌ای بر انجام تحقیقات دقیق‌تر در نواحی کاندید شناسایی‌شده در ژنوم باشند. نتایج نشان دادند که مجموعه نشانگرهای استفاده شده در این پژوهش برای اهدافی نظیر تمایز، شناسایی، ارزیابی تنوع و روابط ژنتیکی جمعیت‌های گندم سودمند بوده و همچنین می‌توانند برای مدیریت ذخایر توارثی از طریق شناسایی نمونه‌های تکراری و هم‌نام کارآمد باشند.

به منظور ارزیابی دقیق و جامع تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، مطالعات مقایسه‌ای در سطح سایر صفات مورفوفنولوژیکی و نشانگرهای مولکولی بسته به اهداف محقق پیشنهاد می‌شود. انتخاب و استفاده از تعداد بیشتری آغازگر با پراکنش کروموزومی بالا که بتوانند مکان‌های ژنی مختلف با تعداد آلل‌های بیشتر را تکثیر کنند، برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌تواند مؤثر باشد.

REFERENCES

Alam MA, Wang H (2011) Powdery Mildew Resistance Genes in Wheat: Identification and Genetic Analysis. J. Mol. Biol. 1(1): 20-39.

An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, and He XG (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry. Aug. 391(1):77-9.

Arzani A (2002) Grain yield performance of durum wheat germplasm under Iranian dry land and irrigated field conditions. Sabrao J. Breed. Genet. 34: 9-18.

Ashrafi Parchin R (2011) Evaluation of genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum*) genotypes using agronomic and morphological characters and molecular markers. M. Sc. Thesis, University of Razi, Kermanshah, Iran. (in Persian)

Barker JSF (1999) A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds. Proceeding of the 5th world congress on Genetics

Applied to Livestock productions. University of Guelph, Guelph. 21: 501-508.

Byun SO, Fang Q, Zhou H, and Hickford J.G (2009) An effective method for silver-staining DNA in large numbers of polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry. 385(1): 174-5.

Carvalho A, Lima-Brito J, Macas B, and Guedes-Pinto, H (2009) Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. Biochem. Genet. 47: 276-294.

Gradzielewska A (2012) Identification of hybrids between triticale and aegilops juvenalis (Thell) eig and determination of Jeuetic similwity with ISSR. Genet. Mol. Res. 13.11(3): 2147-55.

International Rice Genetics Symposium, Manilla, Philippines, 16-20 October: 307-316.

Kölliker R, Jones ES, Drayton MC, Dupal MP, Forster JW (2001) Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) marker for white clover (*Trifolium repens* L.). Theor. Appl. Genet. 102: 416-424.

Kraakman ATW, Niks RE, Van den berg PMMM, Stam P, Van Eeuwijk FA (2004) Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. Genetics 168(1): 435-46.

Kumar A, Hirochika, H (2001) Applications of retrotransposons as genetic tools in plant biology. Trend Plant Sci. 6(3).13.

Louis E, Dempte E (1987) An exact test for Hardy-Weinberg and multiple alleles. Biometrics 43(4): 805-11.

Maas EV, Lesch SM, Francois LE, Grieve CM (1996) Contribution of individual culms to yield of salt-stressed wheat. Crop Sci. 36: 142-149.

Najaphy A, Ashrafi Parchin R, Farshadfar E (2011) Evaluation of genetic diversity in wheat cultivars and breeding lines using inter simple sequence repeat markers. Biotech. Biotech. Equip. 10: 2634-2638.

Nevo E (1978) Genetic variation in natural populations: Patterns and Theory. T.P.B. 13: 121-127.

Norkhalaj M, Khodarahmi M, Amini A, Esmaielzade M, Sadegh Moghadam R (2010) Study on Correlation and Causation relations of Morphological traits in synthetic wheat liens. J. Agron. Plant Breed. 6(3): 7-17.

Pierre CS, Crossa J, Manes Y, Reynolds MP (2010) Gene action of canopy temperature in bread wheat under diverse environments. Theor. Appl. Genet. 120: 1107–1117.

Ramiz Tagi A, Mehraj AA, Alamdar CM (2007) Genetic identification of diploid and tetraploid wheat species with RAPD markers. Turk. J. Biol. 31:173-180.

Roldan-Ruiz FA, Gilliland TJ, Dubreuil P, Dillmann C, Lallemand J (2001) A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theor. Appl. Genet. 103: 1138-1150.

Saghi Maroof MA, Biyaoshev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barly species diversity, chromosomal location, and population dynamics. Processing of the academy of sciences, USA. 91: 4566-5570.

Salari M, Yazdani D, Okhovvat M, Akbari A (2002) Evaluation of resistance of some wheat cultivars to powdery mildew in Mazandaran. Appl. Entomology. Phytopathology 70: 25-36.

Shannon CE, Weaver W (1949) The Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press: Urbana, USA.

Syed Aghamiri SMM, Mostafavi Kh, Mohammadi A (2010) Relationships between yield and yield components under normal and drought stress in

barley genotypes using path analysis. The 5th conference of new ideas in agriculture, 1-3pp. Azad University of Khorasan, Iran.

VanBeuningen LT, Busch RH (1997) Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: Analysis of the coefficient of parentage matrix. Crop Sci. 37: 570-579.

Vanda M, Hoshmand S (2011) Genetic analysis of grain yield and related traits in durum genotypes using diallel. Iranian J. Crop Sci. 13(1): 206-218.

Virk PS, Ford-Lioyd BV, Jackson MT, Pooni HS, Clemeno TP, Newbury HJ (1996) Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. In: IRRI, Rice genetics III, Proceedings of The Third International Rice Genetics Symposium, Manilla, Philippines, 16-20 October: 307-316.

Zhu YF, Hu J, Han R, Wang Y, Zhu S (2011) Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivarsusing ISSR and fluorescence-labeled TP-M13-SSR markers. Aust. J. Crop Sci. 5(7): 846-850.