

همخوانی گروه‌بندی رقم‌ها و رگه‌های پیشرفته سویا با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره و شاخص‌های تحمل به تنش خشکی در دو منطقه رشت و گنبد کاووس

احمدرضا دادرسی^۱، حبیب‌الله سمیع‌زاده^۲ و حسین صبوری^{۳*}

۱ و ۲. دانش‌آموخته دکتری و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳. دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۲۷)

چکیده

پیچیدگی کنترل ژنتیکی تحمل به خشکی، استفاده از روش‌های مولکولی در کنار روش‌های زیست‌سنجی (بیومتری) را برای بهبود این صفت در گیاهان پرهیزناپذیر می‌سازد. این پژوهش با شمار ۱۲۱ رقم و رگه (لاین) پیشرفته سویا در دو محیط عادی (نرمال) و تحت تنش خشکی به همراه ۲۱ نشانگر ریز ماهواره مرتبط با تحمل به تنش خشکی در دو منطقه رشت و گنبد کاووس اجرا شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر پایه شاخص تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، شاخص میانگین عملکرد (MP) و شاخص پایداری (YI) و همچنین عملکرد بوته در شرایط عادی و تنش با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در هر دو منطقه، آن‌ها را به سه خوشه حساس، نیمه‌حساس و متحمل منتسب کرد. بنا بر نتایج، ژنوتیپ‌های شماره ۸، ۹، ۱۱، ۲۵، ۳۴، ۳۷، ۴۲، ۴۴، ۴۹، ۶۳، ۶۶ و ۸۶ در هر دو منطقه به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل شناسایی شدند. تجزیه خوشه‌ای بر پایه نشانگرهای ریز ماهواره نیز رقم‌ها و رگه‌ها را به سه گروه تقسیم کرد. مقایسه دو نمودار درختواره‌ای (دندروگرام) بیانگر همخوانی شایان توجه بین آن‌ها بود. تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام نیز نشان داد که نشانگرهای Satt454، Satt142، Satt648 و Satt345 ارتباط معنی‌داری با شاخص‌های تحمل به خشکی دارند و به‌طور متغیر بین ۴ الی ۱۵ درصد از تغییرات آن‌ها را توجیه کردند. این نتایج می‌تواند تأییدی بر نقش این نشانگرها در پیوسته بودن با نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به تنش خشکی باشد و انتظار می‌رود بتوان از آن‌ها در برنامه‌های بهبود عملکرد سویا در رویارویی با تنش خشکی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، رگرسیون گام‌به‌گام، شاخص حساسیت، کمبود آب.

مقدمه

تنش خشکی به‌عنوان یک محدودیت بزرگ در تولید و عملکرد پایدار سویا به شمار می‌آید. خشکسالی هرساله آسیب و زیان‌های هنگفتی به محصولات گیاهی در جهان به‌ویژه ایران که به‌عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌آید، وارد می‌سازد (Zare et al., 2004). از سوی دیگر پایه ژنتیکی تحمل به تنش خشکی بسیار پیچیده است و به‌نژادی سویا برای تحمل به تنش خشکی یکی از هدف‌های چالش‌برانگیز در بهبود این گیاه است. اما آنچه بدیهی است برای دستیابی به یک گیاه سویای بهبودیافته و

سویا به‌عنوان یکی از هشت گیاه روغنی در بازارهای بین‌المللی با پنبه، بادام‌زمینی، آفتابگردان، شلغم روغنی، کتان، نارگیل و هسته خرما در رقابت است. بر پایه گزارش سازمان خواروبار کشاورزی (فائو) سطح زیر کشت سویا در جهان در سال ۲۰۱۲ حدود ۱۰۴۹۹۷۲۵۳ هکتار با میانگین عملکرد ۲۳۰۳ کیلوگرم در هکتار سطح زیر کشت سویا و در ایران در سال ۲۰۱۲ حدود ۸۰۰۰۰ هکتار و با میانگین عملکرد حدود ۲۵۰۰ کیلوگرم در هکتار بوده است (FAO, 2014).

در پژوهشی روی سویا به بررسی ۱۸۴ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب حاصل تلاقی Kefeng1 و Nannong1138-2 در شرایط تنش کمبود آب و شرایط عادی (نرمال) در مزرعه و گلخانه پرداخته شد (Du *et al.*, 2009b) و ۱۹ QTL در ارتباط با عملکرد دانه در بوته در هر دو شرایط تنش و عادی، شمار ۱۰ QTL در ارتباط با شاخص حساسیت به خشکی شناسایی شدند. ۱ QTL روی گروه پیوستگی K برای عملکرد دانه در مزرعه و ۲ QTL روی گروه پیوستگی C2 برای عملکرد دانه در بوته در گلخانه، و دیگر QTLها در دو محیط ثابت بودند آن‌ها اظهار داشتند شناسایی QTLهای مشترک برای عملکرد دانه در بوته و شاخص حساسیت به خشکی در چند محیط مختلف می‌تواند به‌طور شایان توجهی باعث بهبود بازده انتخاب در شرایط تنش خشکی در سویا باشد. همچنین در پژوهش دیگری (Du *et al.*, 2009a) با استفاده از همان جمعیت، ۱۷ QTL برای صفات مرتبط با وضعیت آب برگ در شرایط تنش خشکی در مزرعه و گلخانه شناسایی شدند. در این پژوهش QTLهایی برای صفات مرتبط با وضعیت آب گیاه ردیابی شدند که در هر دو شرایط مزرعه و گلخانه وجود داشتند.

Abdel-Haleem *et al.* (2011) به‌منظور شناسایی نواحی ژنگانی (ژنومی) کنترل‌کننده ریشه‌های فیبری از یک جمعیت رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب مشتق از تلاقی PI416937 و Benning استفاده کردند. در بین سازوکارهای مقاومت به خشکی، پرهیز از خشکی در ژنوتیپ‌ها با استفاده از ریشه‌های فیبری مرتبط با مقاومت به خشکی شناسایی شده است. آنان پژوهش خود را در دو سال در شرایط مزرعه‌ای بدون آبیاری انجام دادند. در این تحقیق پنج (Satt383) QTL Gm01، Gm03 (Satt339)، Gm08 (Satt429)، Gm20 (Sat_299) و Gm04 (Sct_191) شناسایی شدند که در کل ۵۱ درصد از تغییرات فنوتیپی را توجیه کردند.

تعیین اعتبار QTLها و تأیید نشانگرهای پیوسته به این نواحی شناسایی‌شده یک گام اساسی و ضروری پیش از انجام برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر است (Nicholas, 2006). لذا افزون بر لزوم مکان‌یابی

متحمل باید از ابزار و راهکارهای دقیق همچون ارزیابی فنوتیپی گسترده و مناسب در مزرعه همراه با شناسایی صفات فیزیولوژیکی مطلوب در محیط‌های طبیعی استفاده کرد (Miladinović *et al.*, 2015).

استفاده از شاخص‌های تحمل و حساسیت یکی از راهکارهای متداول گذشته در انتخاب و شناسایی رقم‌های متحمل و حساس است. به باور Fernandez (1992) شاخص تحمل به تنش (STI) می‌تواند برای انتخاب رقم‌هایی که عملکرد بالا در شرایط تنش و بدون تنش دارند و به‌عنوان رقم‌های پایدار (کلاس A) نام‌گذاری می‌شوند، استفاده شود. Bouslama & Schapaugh (1984) شاخص پایداری عملکرد (YSI) را در پژوهشی روی سویا و Gavuzzi *et al.* (1997) شاخص عملکرد (YI) را با بررسی روی غلات معرفی کردند. شاخص عملکرد (YI) موجب رتبه‌بندی رقم‌ها برحسب میزان عملکرد تولیدی آن‌ها در محیط تنش می‌شود. شاخص پایداری عملکرد (YSI) نشان‌دهنده میزان مقاومت ژنتیکی رقم به تنش است، در نتیجه رقمی با میزان بالای شاخص عملکرد باید عملکرد بالایی در هر دو محیط تنش و بدون تنش تولید کند.

از سوی دیگر روش‌ها و فناوری‌های مولکولی اصلاح نباتات یک بخش پایه‌ای در برنامه‌های اصلاحی است. در بین این روش‌ها، راهکاری که بیش از همه مورد توجه بوده و استفاده می‌شود، انتخاب به کمک نشانگر، به‌عنوان یک متمم برای روش‌های اصلاح سنتی است. در سویا نیز به روش‌های مختلف از فناوری‌های مولکولی استفاده شده است. شمار گسترده‌ای از نشانگرهای مولکولی در سویا استفاده شده است. اما کاربرد نشانگرها هنگامی که با صفات کمی و QTLها همراه می‌شوند، ساده نیست. برای صفات پیچیده‌ای مانند عملکرد هنوز نشانگرهای پیوسته به QTL به‌طور گسترده به‌کار گرفته نشده‌اند. چون QTLها برای صفات مختلف با استفاده از زمینه‌های ژنتیکی مختلف شناسایی می‌شوند اما به‌طور مستقیم در برنامه‌های اصلاحی برای به‌ترادگران قابل‌استفاده نیستند و هنوز یک شکاف بین اصول بنیادی و تحقیقات کاربردی در این زمینه وجود دارد (Burton & Miranda, 2013).

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های صحرائی

در این پژوهش شمار ۱۲۱ فرد شامل ۱۰۰ رگه پیشرفته از نسل F7 تلاقی‌های مختلف به همراه ۲۱ رقم سویا در دو محیط عادی و با تنش خشکی در دو منطقه رشت و گنبدکاووس در بهار و تابستان ۱۳۹۳ به اجرا در آمد. اطلاعات رقم‌ها و رگه‌های موردبررسی در جدول ۱ ارائه شده است.

QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی، باید این نواحی به همراه نشانگرهای پیوسته شناسایی شده تعیین اعتبار شوند. یکی از روش‌هایی که می‌تواند میزان اعتبار نشانگرهای شناسایی شده را ارزیابی کند، بررسی همخوانی گروه‌بندی افراد بر پایه نشانگرهای مولکولی و داده‌های فنوتیپی به دست آمده از آزمایش در شرایط عادی و تحت تنش خشکی است. که این پژوهش نیز با این هدف به اجرا درآمد.

جدول ۱. اطلاعات رقم‌ها و رگه‌های موردبررسی در این تحقیق

Table 1. Information of studied varieties and lines in the present study

Row	Characterize	Row	Characterize	Row	Characterize
1	Nemaha × Savoy (1)*	51	Sahar × Katoul (9)	101	Sahar × K779 (5)
2	Nemaha × Savoy (2)	52	Hamilton × Gorgan 3 (3)	102	Sepide × K778 (3)
3	Nemaha × Savoy (4)	53	Williams × Katoul (9)	103	For a × Macon (3)
4	Nemaha × Savoy (5)	54	Williams × Katoul (5)	104	For a × LD 10 (1)
5	Kottman × Kitimisharo (1)	55	Williams × Katoul (4)	105	Williams × K778 (2)
6	Kottman × Kitimisharo (2)	56	Sahar × Williams (8)	106	Crawford × Lan (3)
7	Kottman × Kitimisharo (3)	57	Williams × Katoul (2)	107	Crawford × Vilana (4)
8	Spry × Kitimisharo (1)	58	Sahar × Williams (10)	108	Williams × Vilana (4)
9	Spry × Kitimisharo (2)	59	Sahar × K778 (1)	109	Mustang × Delsoy 4210
10	Spry × Kitimisharo (4)	60	Sahar × K778 (3)	110	Spry × Savoy
11	Spry × Kitimisharo (5)	61	Sahar × K778 (7)	111	Pershing × Epps
12	Charleston × Mustang (1)	62	Clary × Nigeria (10)	112	Williams × Diana (1)
13	Charleston × Mustang (2)	63	Sahar × Hamilton (3)	113	Sahar × Collombus (3)
14	Charleston × Mustang (3)	64	Sahar × Hamilton (4)	114	Sahar × Collombus (13)
15	Spry × Savoy (3)	65	Sahar × Hamilton (8)	115	Sahar × Crawford (1)
16	Spry × Savoy (4)	66	Graham × Nigeria (9)	116	Black Williams × Lan (4)
17	Spry × Savoy (5)	67	Sahar × Hamilton (10)	117	Black Williams × Epps (10)
18	Williams × K778 (3)	68	Graham × Nigeria (2)	118	Sahar × K188(5)
19	Williams × K778 (4)	69	Clary × Nigeria (9)	119	Sahar × Hamilton (1)
20	Williams × K778 (5)	70	Graham × Nigeria (8)	120	Sahar × LBK (1)
21	Williams × Hamilton (1)	71	Graham × Nigeria (8)	121	DPK × Fora(1)
22	Williams × Hamilton (2)	72	Graham × Nigeria (5)		
23	Williams × Hamilton (3)	73	Clary × Nigeria (5)		
24	Williams × Hamilton (4)	74	Clary × Nigeria (3)		
25	Hamilton × Katoul (12)	75	H7		
26	Hamilton × Williams (2)	76	L17		
27	Hamilton × Williams (3)	77	WEb		
28	Gorgan3 × K778 (1)	78	PE		
29	Gorgan3 × K778 (2)	79	DW		
30	Gorgan3 × K778 (3)	80	M7		
31	Gorgan3 × K778 (8)	81	M9		
32	Gorgan 3 × K778 (9)	82	sari		
33	Gorgan3 × K778 (10)	83	Caspian		
34	Gorgan3 × K778 (11)	84	Sahar		
35	Gorgan3 × K778 (12)	85	Katoul		
36	Gorgan3 × Williams (2)	86	Williams		
37	Gorgan3 × Williams (4)	87	SG20		
38	Gorgan3 × Williams (7)	88	Safiabadi		
39	Hamilton × Katoul (8)	89	L504		
40	Hamilton × Katoul (4)	90	Selection 7		
41	Gorgan3 × Katoul (4)	91	Selection 53		
42	Sahar × Gorgan 3 (1)	92	Selection 55		
43	Sahar × Gorgan 3 (3)	93	Selection 81		
44	Hamilton × Katoul (3)	94	Selection106		
45	Hamilton × Katoul (2)	95	Selection 170		
46	Sahar × Katoul (3)	96	Hamilton × Sepid (8)		
47	Sahar × Katoul (4)	97	Sahar × Sepide (1)		
48	Sahar × Katoul (5)	98	Sepide × T1SRF (5)		
49	Sahar × Katoul (7)	99	Hamilton × Fora (3)		
50	Sahar × Katoul (8)	100	Hamilton × K778 (3)		

*: برای هر رگه، تلاقی تشکیل‌دهنده آن به همراه شماره رگه مربوطه در نسل F7 درون پرانتز آورده شده است.

*: For each line, its cross of constituent presented in the brackets with line number in F7 generation.

$$SSI = \frac{1 - \left(\frac{Y_S}{Y_P}\right)}{1 - \left(\frac{Y_S}{Y_{PN}}\right)}$$

$$TOL = (Y_P - Y_S)$$

$$GMP = \sqrt{Y_P \cdot Y_S}$$

$$STI = \frac{Y_P \cdot Y_S}{(Y_P)^2}$$

$$YI = \frac{Y_S}{Y_P}$$

$$YSI = \frac{Y_S}{Y_P}$$

در رابطه‌های بالا عملکرد بوته هر رقم یا رگه به‌عنوان Y در نظر گرفته شد و Y_p و Y_s به ترتیب به معنی عملکرد بوته در شرایط تنش و عادی بود.

پس از ثبت داده‌ها، در آغاز مفروضه‌هایی مانند عادی بودن توزیع اشتباه‌های آزمایشی و وجود داده‌های پرت امتحان شد. پس از اطمینان از برقراری مفروضه‌ها، ضریب‌های همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت و عملکرد دانه در شرایط عادی و تنش محاسبه شد. سپس تجزیه خوشه‌ای بر پایه شاخص‌های تحمل به تنش در دو منطقه رشت و گنبدکاووس با استفاده از روش Ward انجام شد.

آزمایش‌های مولکولی

برای انجام بررسی‌های مولکولی در آغاز از برگ‌های جوان و سالم در مرحله انتهای رشد رویشی نمونه‌برداری شد. آنگاه استخراج DNA به روش CTAB انجام گرفت (Saghai-Marouf *et al.*, 1984). کمیت و کیفیت DNA با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) و ژل آگارز تعیین و سپس DNAها با نسبت‌های مناسب و موردنیاز رقیق‌سازی شدند. در این آزمایش از نشانگرهای SSR پیوسته به QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی استفاده شد. انتخاب این نشانگرها بر پایه اطلاعات پایگاه اطلاعاتی <http://soybase.org> و مقاله‌های معتبر به شمار ۲۵ نشانگر انجام شد. از این شمار ۲۱ نشانگر الگوی نواری قابل امتیازدهی تولید کردند که در تجزیه و تحلیل استفاده شد. جدول ۱ اطلاعات مرتبط با نشانگرهای ریز ماهواره موردبررسی در این پژوهش را نشان می‌دهد.

طرح آزمایشی مورد استفاده بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. هر کرت آزمایشی سه ردیف به طول ۲ متر با فاصله خطوط کاشت ۳۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف، ۱۰ سانتی‌متر داشت. تراکم بوته حدود ۳۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. تاریخ کاشت هفته آخر اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۳ بود. در طی دوره رشد برای مبارزه با علف‌های هرز، وجین دستی و همچنین علف‌کش سوپرگلانت استفاده شد. عملیات کاشت برای هر دو محیط (تنش آبی و بدون تنش آبی) و هر دو منطقه یکسان و به‌صورت دستی انجام شد. نخستین آبیاری بی‌درنگ پس از کاشت صورت گرفت. برای محیطی که آبیاری عادی داشت، میزان آب آبیاری و دوره تناوب با توجه به رابطه‌های موجود در منابع (Alizadeh, 2011) به‌گونه‌ای اعمال شد که رطوبت خاک در محدوده رطوبتی ظرفیت زراعی تا بیشینه تخلیه رطوبتی (MAD) باقی بماند و آبیاری در محیط تنش تا استقرار گیاه در زمین (حدود ۵ تا ۶ برگ) همسان محیط بدون تنش انجام شد و پس‌از آن، تنش آبی اعمال شد. زمان اعمال تنش برابر با شرایط رطوبتی ۲۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی در نظر گرفته شد. تعیین این زمان نیز با نمونه‌برداری از خاک از عمق ۳۰ سانتی‌متر برای تعیین میزان رطوبت انجام شد. به‌منظور جلوگیری از تأثیر بارندگی در مزرعه تحت تنش خشکی در منطقه رشت، از پوشش پلاستیکی استفاده شد. پس از رسیدگی صفات مختلف عملکردی از جمله شمار غلاف در بوته، شمار دانه در بوته، شمار غلاف‌های پوک، عملکرد دانه و وزن هزاردانه اندازه‌گیری شد. برای این منظور، پنج بوته به‌طور تصادفی از خطوط میانی و با احتساب حاشیه، از هر کرت انتخاب شد.

به‌منظور محاسبه شاخص‌های تحمل و تعیین رقم‌های متحمل‌تر به تنش، از شاخص‌های SSI (Fischer & Maurer, 1978)، TOL (Rosielle & Hamblin, 1981)، GMP (Fernandez, 1992)، STI (Fernandez, 1992)، YI (Gavuzzi *et al.*, 1997) و YSI (Bousslama & Schapaugh, 1984) استفاده شد که به ترتیب از رابطه‌های زیر به دست آمدند.

جدول ۲. اطلاعات نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده در این پژوهش

Table 2. Information of used microsatellite markers in the present study

Marker name	Forward sequence	Reverse sequence
Sat_343	GCGCAACCATAGCCTCTAAAGTAATAAGTT	GCGGGCTTCTTTATGTTCTGCTGATA
Sat_345	GCGGTAGGTACGATCATAATCGTGTGACTATT	GCGAAGTGGGAAATCAATTCTCACGAGATTG
Satt339	TAATATGCTTTAAGTGGTGTGGTTATG	GTTAAGCAGTTCCTCTCATCAGC
Sat_091	CTTCTGGATAGTTGGGACTGATA	GGAACAGGTCTGTGAAAAGTTAT
Satt572	GCGGAGCATGTAAATCCAGCCTATTGA	GCGGGCTAACTTATGTTACTAAACAAT
Satt471	GCGCCAAAACCTATCTAGTAATTCCT	GGGCTATCAAATTGACTAAAAGCCAAA
Satt454	GCTTTCTTAGAACACAAAATTACAAG	CAACCATGATAAAATGTGAGTGTAG
Satt648	ATGATTCGACTAATGAATAGTTTT	GGCACAGTAACGAAGAGTAT
Sat_171	GCGCTCTCTTTTTTTCACTTTC	GCGCGTGGGATTTTGGTATTTTT
Satt385	AATCGAGGATTCACCTTGAT	CATTGGGCCACACAACAAC
Sat_312	GCGCCTCCATTACTTCGGATTAGTTA	GCGAACGCAACAAATAATCAAAACATC
Satt210	GCGAAAACGTCAGGTCAATGACTGAAA	GCGGGGCTTAGATATAAAAAAAGATG
Satt478	CAGCCAAAGCAAAAAGATAAATAATA	TCCCCACAAGAGAACAAAGAGT
Satt581	CCAAAGCTGAGCAGCTGATAACT	CCCTCACTCCTAGATTATTTGTTGT
Satt302	GCGAAGTGTAGTTTACTAAAAATAAGTG	GCGGACTGAATTAATATTGGTGTGAATT
Satt142	GGACAACAACAGCGTTTTTAC	TTTGCCACAAAGTTAATTAATGTC
Sat_175	GCGTCATTGTTAAAACCTTAGTGTCTAATAAA	GCGGTCAAAGTCAGTTAGTGAAAGAGA
Satt317	GCGGAACAACTTTCTATACATGATAACA	GCGGGTATATTTTTGTACATAAGTTGGAA
Satt249	GCGGCAAATTGTTATTTGTGAGAC	GGCCAGTGTGAGGGATTTAGA
Satt287	GGGGTGAATGAATGTCAAGATGA	GCGCGAGGTATCAACACAATTACT
Satt458	TTGGGTTGACCGTGAGAGGGAGAA	GCGAACCACAAACAACAATCTTCA
Satt154	AGATACTAACAAGAGGCATAAAACT	AAAGAAAACGGAACATAACTACATT
Sat_292	GCGGCCCCCAATTATTATATGTTTC	GCGAAGGGTTTAGCTTTGCTTATG
Satt650	CAGTTGGCTGGTCAAATC	TCTGGGTTACTTTTATTTGTC
Sat_418	GCGTCATGTCGCTACTAA	GCGTGGCTACACAACCTTTT

فنونتیپی و مولکولی میزان همخوانی آن‌ها با استفاده از محاسبه همبستگی منتل با استفاده از نرم‌افزار GenStat 12th بررسی و میزان توانایی این نشانگرها در شناسایی رگه‌ها و رقم‌های متحمل بحث شد. همچنین به منظور تعیین تأثیرگذارترین نشانگرها در ارتباط با شاخص‌های تحمل به تنش تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام بین نشانگرهای ریز ماهواره و شاخص‌های تحمل با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver. 22 انجام شد. هر یک از شاخص‌ها و عملکرد بوته به‌عنوان متغیر وابسته و همه نشانگرها به‌عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

بررسی همبستگی عملکرد رگه‌ها و رقم‌ها با شاخص‌های تحمل و حساسیت برای تعیین برترین شاخص‌های تحمل یا حساسیت که بتوانند برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل استفاده شوند، ضریب‌های همبستگی بین شاخص‌های خشکی هر منطقه و عملکرد دانه در شرایط مختلف برآورد شدند. ضریب‌های یادشده برای دو منطقه در جدول ۳ درج شده‌اند.

برای انجام PCR، بر پایه دمای اتصال هر آغازگر و مطابق روش Li *et al.* (2008) انجام شد. در ادامه DNA به‌دست‌آمده از افزایش نشانگرها توسط الکتروفرز عمودی با استفاده از ژل پلی‌اکریل‌آمید و اسرشته‌ساز ۶ درصد جداسازی و با روش رنگ‌آمیزی نیترا نقره قابل‌رؤیت شد (Sanguinetti *et al.*, 1994). سرانجام داده‌های مولکولی نمونه‌ها از لحاظ نشانگرهای مورد استفاده به ثبت رسیدند. در ادامه ماتریس ژنتیکی همانندی با ضریب‌های مختلف همانند جاکارد، ضریب تطابق ساده و نی تشکیل شد و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، برابر الگوریتم‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای مانند ادغام برحسب میانگین گروه‌ها (UPGMA)، اتصال همسایگی، دورترین همسایگی و نزدیک‌ترین همسایگی با استفاده از نرم‌افزارهای مختلف مانند MEGA 5، GGT2، Popgen 32.0 و NTSYSpc انجام شد و مناسب‌ترین نمودار درختواره‌ای بر پایه معیارهای مختلف مانند ضریب همبستگی کوفنتیک و ساختار مناسب نمودار درختواره‌ای با کمترین زنجیره‌ای شدن افراد تعیین شد.

در نهایت افزون بر مقایسه نمودار درختواره‌ای

جدول ۳. ضریب‌های همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت با عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط عادی و تنش

Table 3. Correlation coefficients between sensitive and tolerance indices with genotypes yield under normal and stress

	TOL	YI	YSI	MP	GMP	STI	SSI
Yield under Rasht normal conditions	0.904**	0.412**	-0.478**	0.947**	0.795**	0.770**	0.487**
Yield under Rasht drought conditions	-0.007	0.502**	0.501**	0.676**	0.869**	0.854**	-0.501**
Yield under Gonbad normal conditions	0.869**	0.551**	-0.553**	0.944**	0.868**	0.857**	0.553**
Yield under Gonbad drought conditions	0.086	0.530**	0.298**	0.786**	0.885**	0.873**	-0.298**

شاخص‌های مورد استفاده در تمایز کلاس ژنوتیپ‌ها، میانگین شاخص‌ها برای هر گروه و انحراف میانگین کل برای همان شاخص محاسبه شد. نتایج به دست آمده در جدول ۴ ارائه شده است. مطابق روش به کاررفته توسط Rashidi *et al.* (2007) اگر میانگین یک شاخص در یک گروه، از میانگین کل آن شاخص بالاتر باشد، آن گروه از نظر آن شاخص ارزش بیشتری از میانگین کل ژنوتیپ‌ها خواهد داشت و چنانچه برای همه شاخص‌ها برتر از میانگین کل باشد می‌توان نام گروه متحمل را به آن گروه اختصاص داد و برعکس اگر پایین‌تر باشد، گروه حساس خواهد بود. همان‌گونه که در جدول ۴ آورده شده است برای هر دو منطقه رشت و گنبدکاووس ژنوتیپ‌ها به سه گروه جداسازی شدند. گروه متحمل در رشت و گنبدکاووس به ترتیب شامل ۴۲ و ۲۹ ژنوتیپ، گروه نیمه حساس به ترتیب شامل ۳۸ و ۵۸ ژنوتیپ و گروه حساس به ترتیب شامل ۴۱ و ۳۴ ژنوتیپ بود. در هر دو منطقه گروه‌های متحمل از لحاظ همه شاخص‌های مورد بررسی برتر از میانگین کل بودند و گروه حساس میزان‌های بسیار پایین‌تری را به خود اختصاص دادند.

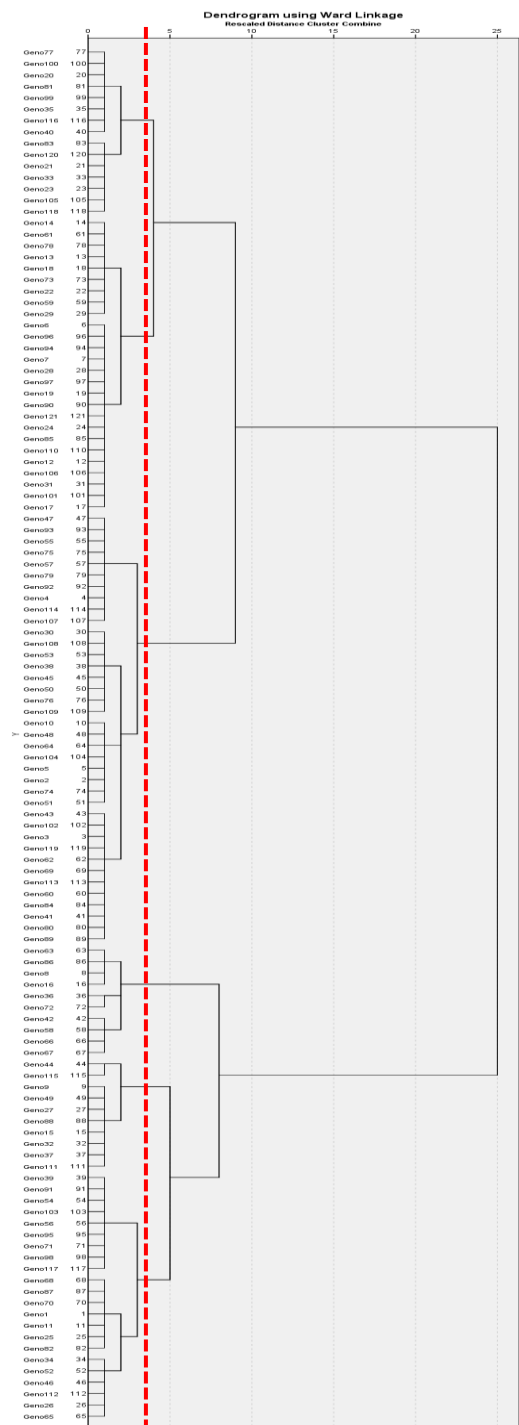
بدیهی است به‌نژادگران همواره به دنبال یافتن رقم‌ها و رگه‌هایی هستند که بتوانند پایداری عملکرد خود را در محیط‌ها و مکان‌های مختلف حفظ کنند و در چرخه زمان نوسان‌های کمتری را بروز دهند. لذا شناسایی رقم‌ها و رگه‌هایی که توانسته باشند در هر دو منطقه رشت و گنبدکاووس در گروه متحمل قرار گیرند بسیار ارزشمند خواهد بود. با دقت در نتایج مندرج در جدول ۴ مشاهده می‌شود که ۱۲ ژنوتیپ واجد این ویژگی بودند که عبارت‌اند از ژنوتیپ‌های شماره ۸، ۹، ۱۱، ۲۵، ۳۴، ۳۷، ۴۲، ۴۴، ۴۹، ۶۳، ۶۶ و ۸۶. بنابراین این ژنوتیپ‌ها نه تنها پایداری عملکرد بهتری در شرایط تنش نسبت به شرایط عادی داشتند

نتایج بیانگر این حقیقت است که به ترتیب شاخص‌های MP، GMP، STI و YI بیشترین ارتباط معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد را با عملکرد بوته در شرایط عادی و تنش در هر دو منطقه دارند. بنابراین در این پژوهش از آن‌ها به‌عنوان معیار شناسایی رقم‌ها و رگه‌های متحمل و حساس استفاده شد. با توجه به ماهیت این شاخص‌ها، رقمی که GMP، STI، MP و YI بالاتری داشته باشد به‌عنوان رقم متحمل شناخته می‌شود (Rezaei *et al.*, 2010; Jabbari *et al.*, 2009).

تجزیه خوشه‌ای شاخص‌های تحمل در رشت و گنبدکاووس

بنا بر نتایج تجزیه ضریب همبستگی بین شاخص‌ها و عملکرد در شرایط عادی و تنش، به‌منظور گروه‌بندی رقم‌ها و رگه‌های پیشرفته از شاخص‌های تحمل (STI)، (GMP)، (MP) و (YI) و همچنین عملکرد بوته در شرایط عادی و تنش در تجزیه خوشه‌ای در هر دو منطقه رشت و گنبدکاووس استفاده شد. این تجزیه به روش Ward بافاصله توان دوم اقلیدوسی انجام شد. شکل‌های ۱ و ۲ نمودارهای به دست آمده از این تجزیه را نشان می‌دهد. با مشاهده نمودارها، بهترین نقطه برش برای رسیدن به گروه‌هایی که بتوانند بیشینه اختلاف را از هم داشته باشند، نقطه‌ای بود که همه ژنوتیپ‌ها را به دو یا سه گروه تقسیم کند. آزمون تجزیه تابع تشخیص برای هر دو نقطه (تشکیل دو گروه و سه گروه) برای هر دو نمودار معنی‌دار به دست آمد. اما از آنجایی که تشکیل سه گروه منجر به جداسازی همه ژنوتیپ‌ها به گروه‌های حساس، نیمه حساس و متحمل می‌شد و ماهیت ژنوتیپ‌ها دقیق‌تر ارزیابی شد، نقطه برش سه گروهی تفسیر شد.

برای مشخص کردن میزان تأثیر هر یک از



شکل ۱. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای رقم‌ها و رگه‌های پیشرفته سویا به روش Ward از لحاظ شاخص‌های تحمل و عملکرد بوته در شرایط عادی و تنش خشکی در رشت. شماره و مشخصات رقم‌ها و رگه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

Figure 1. Dendrogram derived from cluster analysis of soybean advanced lines and varieties by Ward method based on tolerance indices under normal and drought stress in Rasht. Number and information of varieties and lines has been showed in table 1.

بلکه توانستند این پایداری را نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها در دو منطقه مختلف از لحاظ آب و هوایی نیز حفظ کنند. همچنین ۱۲ ژنوتیپ در هر دو منطقه در گروه حساس قرار گرفتند که عبارت بودند از ژنوتیپ‌های شماره ۶، ۷، ۱۳، ۱۷، ۱۸، ۲۸، ۵۹، ۸۱، ۸۳، ۹۰، ۱۱۰ و ۱۲۱.

Kargar *et al.* (2004) در پژوهش خود با اندازه‌گیری ۱۲ صفت مهم کمی، ۴۹ ژنوتیپ سویا را از لحاظ شاخص‌های تحمل به خشکی در شرایط آبیاری محدود بررسی کردند نتایج بررسی آنان نشان داد دو شاخص STI و GMP به‌عنوان بهترین شاخص‌ها در جداسازی ژنوتیپ‌های متحمل هستند. آنان همچنین با استفاده از روش ترسیمی نمودار دووجهی (بای‌پلات) و شاخص‌های STI و GMP ۸ ژنوتیپ Williams, Union, Kador, Bonus, M.4, L.17, Line₂₃S.R.F₄₅₀×Hobbit و Line₂₉S.R.F₄₅₀×Hobbit را به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل شناسایی و معرفی کردند.

Zare *et al.* (2004) در دو آزمایش جداگانه به‌صورت آبیاری کامل و تحت تنش خشکی ۲۵ رقم و رگه سویا را از لحاظ میزان تحمل به تنش خشکی بررسی کردند. آنان با استفاده از برآورد همبستگی، شاخص‌هایی نظیر STI, HARM, GMP و MP را به‌عنوان بهترین شاخص برای دستیابی به رقم‌های پر محصول در هر دو شرایط محیطی معرفی کردند. برتری شاخص‌های GMP, MP و STI در پژوهش Zeinaly-Khanghah *et al.* (2004) که تنش خشکی

روی ۱۵ رقم سویا بررسی شد، نیز به اثبات رسید. در بررسی دیگری که توسط Bokaei *et al.* (2008) صورت گرفت ۱۵ ژنوتیپ سویا در سه محیط عادی، تنش ملایم و تنش شدید ارزیابی شدند. آنان با استفاده از تجزیه ضریب‌های همبستگی و رسم نمودار دووجهی شاخص‌ها، دریافتند شاخص‌های GMP, MP و STI بهترین معیار انتخاب از بین شاخص‌ها هستند. آنان اظهار داشتند در هر سه شرایط آبیاری ژنوتیپ‌های H301, L5P77 و Hamilton عملکرد بالا و متحمل به خشکی و ژنوتیپ‌های Br84bijelina و ۹۲۴۲ عملکرد پایین و حساس به خشکی دارند.

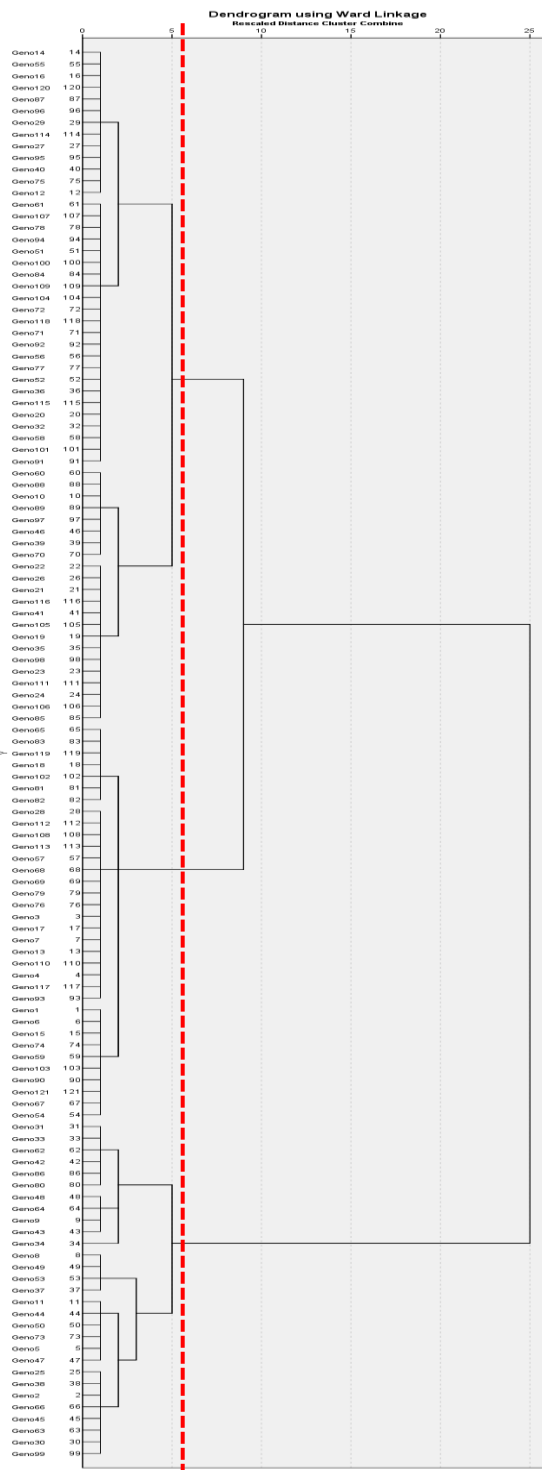
Shahmoradi *et al.* (2009) در پژوهش خود اثرگذاری تنش خشکی را به دو صورت (تنش در مرحله زایشی و تنش در مرحله زایشی و رویشی) روی ۲۰ رقم سویا ارزیابی کردند. آنان از شاخص‌های GMP و STI برای گروه‌بندی رقم‌ها به روش تجزیه خوشه‌ای استفاده کردند. در بررسی Daneshian *et al.* (2009) نیز نشان داده شد شاخص‌های GMP، MP و STI با داشتن همبستگی مثبت و معنی‌دار به‌عنوان شاخص‌های برتر برای شناسایی رقم‌ها و رگه‌های مقاوم هستند. Vhdi & Gholinezhad (2015) در بررسی خود برای ارزیابی تنش خشکی در سه رقم سویا عنوان کردند که در تنش شدید رقم ویلیامز در شاخص‌های STI، GMP و MP پایین‌ترین رتبه و رقم آنیون برای هر سه شاخص بالاترین رتبه را داشت. در این بررسی نیز ضریب‌های همبستگی بین متغیرها بیانگر این مطلب بود که شاخص‌های GMP، MP، YI و STI از جمله شاخص‌های موفق و برتر در جداسازی رقم‌ها و رگه‌ها هستند.

تجزیه خوشه‌ای رقم‌ها و رگه‌ها بر پایه نشانگرهای ریز ماهواره

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از اطلاعات به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریز ماهواره با استفاده از ماتریس‌های مختلف همانندی و روش‌های مختلف گروه‌بندی انجام شد. در نهایت بهترین گروه‌بندی با استفاده از ضریب همانندی جاکارد و روش گروه‌بندی اتصال همسایگی (NJ) تعیین شد. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده در شکل ۳ آورده شده است.

اگر انتخاب نقطه برش برابر با نتایج تجزیه خوشه‌ای بر پایه شاخص‌های تحمل باشد، با برش نمودار در فاصله همانندی ۰/۳۹، سه گروه حاصل می‌شود که به ترتیب از بالای نمودار شامل ۵۲، ۲۵ و ۴۴ ژنوتیپ هستند.

بنا بر نتایج می‌توان همانندی‌های شایان توجهی در نمودار مولکولی و نمودارهای پیشین که بر پایه شاخص‌های تحمل در رشت و گنبدکاووس بود، مشاهده کرد. گروه اول (بزرگ‌ترین گروه) بیشتر شامل ژنوتیپ‌های حساس یا نیمه‌حساس شناسایی شده در دو منطقه رشت یا گنبدکاووس است. به‌طوری‌که به ترتیب شمار ۲۶ و ۲۹ ژنوتیپ از آن با گروه حساس در



شکل ۲. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای رقم‌ها و رگه‌های پیشرفته سویا به روش Ward از لحاظ شاخص‌های تحمل و عملکرد بوته در شرایط عادی و تنش خشکی در گنبدکاووس. شماره و مشخصات رقم‌ها و رگه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

Figure 2. Dendrogram derived from cluster analysis of soybean advanced lines and varieties by Ward method based on tolerance indices under normal and drought stress in Gonbad-Kavous. Number and information of varieties and lines has been showed in table 1.

۶۲، ۱۱، ۵، ۸۰، ۶۳، ۳۰، ۳۷، ۳۱ و ۴۸. این میزان سازگاری نسبی می‌تواند بیانگر این حقیقت باشد که نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده در این پژوهش می‌توانند ارتباط معنی‌داری با شاخص‌های تحمل در رشت و گنبدکاووس داشته باشند. بدیهی است میزان همخوانی گروه‌بندی بر پایه نشانگرهای پیوسته به صفات مرتبط با تحمل به تنش، بسیار بیشتر از گروه‌بندی بر پایه نشانگرهای تصادفی روی ژنگان خواهد بود.

گروه‌بندی رشت و گنبدکاووس همخوانی دارد. گروه سوم نیز با داشتن ۴۴ ژنوتیپ اغلب دربرگیرنده ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بود. از این شمار ۱۸ ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های گروه متحمل در رشت مشترک بودند و عبارت بودند از ژنوتیپ‌های ۷۱، ۳۹، ۵۲، ۴۶، ۶۶، ۲۷، ۱۱، ۹۱، ۸۸، ۷۲، ۱۱۵، ۸۷، ۶۳، ۳۲، ۳۷، ۱۰۳، ۱۶ و ۷۰ و شمار ۱۰ ژنوتیپ به‌طور مشترک با گروه متحمل به دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای گنبدکاووس بودند که عبارت بودند از ژنوتیپ‌های ۶۶،

جدول ۴. اعضای گروه‌های به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای همراه با میانگین و میزان انحراف از میانگین کل برای شاخص‌های تحمل در رشت و گنبدکاووس. شماره و مشخصات رقم‌ها و رگه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

Table 4. Memberships of groups derived from cluster analysis with the average and deviation of the total average for tolerance indices in Rasht and Gonbad-Kavous. Number and information of varieties and lines has been showed in table 1.

Group	Genotypes	Index				
		GMP	MP	STI	YI	
Tolerant genotypes in Rasht	1, 8, 9, 11, 15, 16, 25, 26, 27, 32, 34, 36, 37, 39, 42, 44, 46, 49, 52, 54, 56, 58, 63, 65, 66, 67, 68, 70, 71, 72, 82, 86, 87, 88, 91, 95, 98, 103, 111, 112, 115, 117	37.848	43.330	0.844	1.454	Group average
		11.975	13.748	0.402	0.454	Deviation from the total mean
Tolerant genotypes in Gonbad-Kavous	2, 5, 8, 9, 11, 25, 30, 31, 33, 37, 38, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 53, 62, 63, 64, 66, 73, 80, 86, 99	34.792	37.298	1.263	1.424	Group average
		11.326	12.460	0.638	0.424	Deviation from the total mean
Semi-sensitive genotypes in Rasht	2, 3, 4, 5, 10, 30, 38, 41, 43, 47, 48, 50, 51, 53, 55, 57, 60, 62, 64, 69, 74, 75, 76, 79, 80, 8489, 92, 93, 102, 104, 107, 108, 109, 113, 114, 119	23.724	25.346	0.321	1.007	Group average
		-2.150	-4.236	-0.121	0.007	Deviation from the total mean
Semi-sensitive genotypes in Gonbad-Kavous	10, 12, 14, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 29, 32, 35, 36, 39, 40, 41, 46, 51, 52, 55, 56, 58, 60, 61, 70, 72, 75, 77, 78, 84, 85, 87, 88, 89, 91, 92, 94, 95, 96, 97, 98, 100, 101, 104, 105, 106, 107, 109, 111, 114, 115, 116, 118, 120	22.308	22.990	0.513	0.986	Group average
		-1.338	-1.848	-0.112	-0.014	Deviation from the total mean
Sensitive genotypes in Rasht	6, 7, 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 28, 29, 31, 33, 35, 40, 59, 61, 73, 77, 78, 81, 83, 85, 90, 94, 96, 97, 99, 200, 101, 105, 106, 110, 116, 118, 120, 121	15.598	19.425	0.144	0.529	Group average
		-10.275	-10.157	-0.299	-0.471	Deviation from the total mean
Sensitive genotypes in Gonbad-Kavous	1, 3, 4, 6, 7, 13, 15, 17, 18, 28, 54, 57, 59, 65, 67, 68, 69, 74, 76, 79, 81, 82, 83, 90, 93, 102, 103, 108, 110, 112, 113, 117, 119, 121	16.628	17.362	0.272	0.663	Group average
		-7.378	-7.476	-0.353	-0.337	Deviation from the total mean
		25.873	29.582	0.443	1.000	Total average in Rasht
		23.646	24.838	0.625	1.000	Total average in Gonbad-Kavous

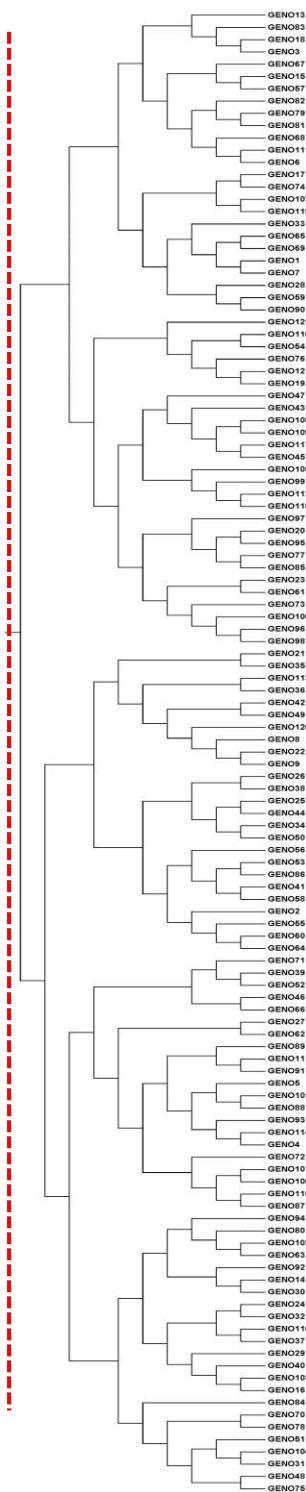
شد. این میزان همبستگی در رشت و گنبدکاووس به ترتیب ۰/۵۰ و ۰/۸۷ به دست آمد. این میزان همبستگی نشان‌دهنده همخوانی شایان‌توجه بین اطلاعات مولکولی و شاخص‌ها در گنبد و همخوانی نسبی بین اطلاعات مولکولی و شاخص‌ها در رشت است. از سوی دیگر نتایج گویای این حقیقت است که به‌احتمال باید میزان ارتباط نشانگرهای مختلف با شاخص‌ها متفاوت باشد. بر این پایه تجزیه رگرسیونی گام‌به‌گام برای شناسایی نشانگرهای معنی‌دار و با ارتباط قوی‌تر با شاخص‌ها انجام شد.

Jamali *et al.* (2011) برای تمایز و شناسایی ۱۵ رقم تجاری سویا از ۱۱ صفت ساختار ظاهری (مورفولوژیکی) و ۱۶ نشانگر ریز ماهواره (تصادفی در طول ژنگان) استفاده کردند. آنان اظهار داشتند گروه‌بندی رقم‌ها با استفاده از صفات ساختار ظاهری همخوانی نزدیکی (با میزان همبستگی آزمون مندل برابر با ۰/۵۸) با گروه‌بندی رقم‌ها بر پایه نشانگرهای ریز ماهواره دارد.

در این پژوهش نیز به‌منظور بررسی میزان سازگاری اطلاعات مولکولی و شاخص‌های تحمل در رشت و گنبدکاووس، میزان همبستگی مندل محاسبه

تجزیه رگرسیونی بین عملکرد بوته و شاخص‌های تحمل به تنش با نشانگرهای ریز ماهواره

نتایج تجزیه ارتباط رگرسیونی به‌منظور تعیین تأثیرگذارترین نشانگرها در ارتباط با شاخص‌های تحمل به تنش در جدول ۵ آورده شده است. با دقت در نتایج مشاهده می‌شود که برخی از نشانگرها ارتباط معنی‌داری با دست‌کم چند شاخص دارند. البته با توجه به همبستگی معنی‌دار بین شاخص‌ها این نتیجه دور از انتظار نیست. نشانگرهای Satt142 و Satt454 به‌ویژه با شاخص‌های تحمل در رشت و نشانگرهای Satt345 و Satt471، Satt648، Satt142، Satt454 بیشترین ارتباط معنی‌دار را با عملکرد بوته و شاخص‌های تحمل به خشکی در گنبدکاووس نشان دادند. *Du et al.* (2009b) در پژوهشی که با استفاده از ۱۸۴ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی Nannong1138-2 و Kefeng1 در شرایط تنش کمبود آب و شرایط عادی انجام دادند به‌منظور تأیید نتایج به‌دست‌آمده، آزمایش را در دو محیط مزرعه و گلخانه تکرار کردند و توانستند شمار ۱۹ QTL در ارتباط با عملکرد دانه در بوته در هر دو شرایط تنش و عادی و شمار ۱۰ QTL در ارتباط با شاخص حساسیت به خشکی شناسایی کنند. با مقایسه نتایج این محققان با نتایج تجزیه رگرسیونی در این پژوهش مشخص می‌شود نشانگرهای Satt142، Satt648 و Satt345 می‌توانستند در هر دو منطقه رشت و گنبدکاووس نیز ارتباط معنی‌داری با شاخص‌های تحمل به تنش خشکی نشان دهند. *Du et al.* (2009b) به نقش مؤثر گروه پیوستگی (لینکاژی) A1 در تحمل به تنش خشکی در سویا اشاره کردند که نشانگرهای Satt648 و Satt454 روی این گروه پیوستگی قرار دارند. همچنین *Carpentieri-Pipolo et al.* (2012) به‌منظور شناسایی QTL‌های مرتبط با خشکی و هدایت هیدرولیکی محدودشده در برگ سویا پژوهشی را با استفاده از رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی PI416937 و 'Benning' انجام دادند و توانستند ۴ QTL شناسایی کنند که با چند صفت در ارتباط بودند. آنان اظهار داشتند که هم‌مکانی QTL‌های مرتبط با هدایت هیدرولیکی محدودشده در برگ با



شکل ۳. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای رقم‌ها و رگه‌های پیشرفته سویا به روش اتصال همسایگی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. شماره و مشخصات رقم‌ها و رگه‌ها در جدول ۱ آورده شده است.

Figure 3. Dendrogram derived from cluster analysis of soybean advanced lines and varieties by Nieghbor Joining method using microsatellite markers. Number and information of varieties and lines has been showed in table 1.

شامل Satt339، Satt300، Satt478 و Satt175 بودند. نشانگر Satt300 در مجاورت نشانگر Satt454 روی گروه پیوستگی A1 قرار دارد که در این پژوهش به‌عنوان یکی از مؤثرترین نشانگرهای مرتبط با شاخص‌های تحمل به تنش در هر دو محیط شناسایی شد.

صفات مورفوفیزیولوژیک گیاه سویا می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مهم در جهت رسیدن به توانایی بیشتر در تحمل تنش کمبود آب در برنامه‌های بهنژادی انتخاب به کمک نشانگر در ایجاد مقاومت به خشکی در سویا مدنظر قرار گیرد. نشانگرهای پیوسته به این QTLها

جدول ۵. نتایج تجزیه رگرسیونی گام‌به‌گام عملکرد بوته و شاخص‌های تحمل با نشانگرهای ریز ماهواره در رشت و گنبدکاووس
Table 5. The results of stepwise regression analysis for yield and tolerance indexes with microsatellite markers in Rasht and Gonbad-Kavous

Location	Dependent variable	Marker	Linkage group	Regression coefficient	Model coefficient of determination
Rasht	Yield under normal conditions	Satt454	LG-A1	0.277**	0.069
	Yield under drought conditions	Satt454	LG-A1	0.224**	0.062
	Yield under drought conditions	Satt142	LG-H	0.206**	
	YI	Satt454	LG-A1	0.190**	0.077
	YI	Satt142	LG-H	0.172**	
	MP	Satt454	LG-A1	0.284**	0.073
	GMP	Satt454	LG-A1	0.259**	0.059
	STI	Satt454	LG-A1	0.221*	0.041
Gonbad-Kavous	Yield under normal conditions	Satt454	LG-A1	0.352**	0.151
	Yield under normal conditions	Satt142	LG-H	0.269**	
	Yield under drought conditions	Satt648	LG-A1	0.218*	0.058
	Yield under drought conditions	Satt345	LG-D1a	0.197*	
	YI	Satt648	LG-A1	0.189*	0.058
	YI	Satt345	LG-D1a	0.173*	
	MP	Satt454	LG-A1	0.337**	0.153
	MP	Satt142	LG-H	0.256**	
	MP	Satt471	LG-A1	0.182*	
	GMP	Satt454	LG-A1	0.309**	0.129
	GMP	Satt142	LG-H	0.235**	
	GMP	Satt471	LG-A1	0.183*	
	STI	Satt454	LG-A1	0.338**	0.147
	STI	Satt142	LG-H	0.234**	
STI	Satt471	LG-A1	0.187*		

مناطق ژنگانی کنترل‌کننده صفات مرتبط با خشکی پیوسته هستند و بدیهی است برای شناسایی کامل نحوه کنترل ژنتیکی این نوع صفات پیچیده، تحقیقات بسیار بیشتری موردنیاز است.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش باهدف ارزیابی کارایی نشانگرهایی، ریز ماهواره مرتبط با تحمل به تنش خشکی با استفاده از بررسی میزان همخوانی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از شاخص‌های تحمل و نشانگرهای ریز ماهواره به انجام رسید. نتایج نشان داد با توجه به همخوانی نسبی نمودار-ها، نشانگرهای ریز ماهواره معنی‌دار می‌توانند اطلاعات ارزشمندی را در ارتباط با تحمل این ژنوتیپ‌های سویا در اختیار بهنژادگران قرار دهند. نتایج تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام بیانگر نقش مؤثر و معنی‌دارتر برخی نشانگرها از جمله Satt454، Satt142، Satt648، Satt471 و

پیچیده بودن صفت مقاومت به خشکی از لحاظ ژنتیکی و از سویی تأثیر متقابل آن با شرایط محیطی و زیستی و از سویی دیگر محدوده گسترده سازوکارهای مقاومت در گیاهان مختلف و شرایط مختلف کار با خشکی و بهنژادی این صفت را دشوار می‌کند (Price et al., 2002). از یکسو عامل‌های محیطی بسیار زیادی در عملکرد فنوتیپی ژنوتیپ‌ها تأثیر دارند و از سوی دیگر سازوکارهای مقاومت به تنش بسیار پیچیده و پرشمار بوده و از ژنوتیپی به ژنوتیپ دیگر و حتی از یک مرحله رشدی به مرحله دیگر متفاوت از هم هستند و قسمت‌های مختلفی از ژنگان گیاه در این سازوکارها نقش دارد. لذا باید خاطر نشان کرد که به دلایل چندی این نتیجه دور از انتظار است که بتوان همخوانی ۱۰۰ درصدی بین این نمودارها مشاهده کرد.

نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده در این پژوهش، بر پایه بررسی‌های پیشین تنها به شماری از

Satt345 در تمایز ژنوتیپ‌های متحمل و حساس بود. ژنتیکی حاضر در برنامه‌های بهبود عملکرد سویا در انتظار می‌رود بتوان از نشانگرهای تأییدشده درزمینهٔ رویارویی با تنش خشکی بهره برد.

REFERENCES

1. Abdel-Haleem, H., Lee, G. J. & Boerma, R. H. (2011). Identification of QTL for increased fibrous roots in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(5), 935-946.
2. Alizadeh, A. (2011). Soil, Water, Plant Relationship. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Farsi)
3. Bokaei, A.S., Babae, H.R., Habibi, D., Javidfar, F. & Mohammadi, A. (2008). Evaluation of different soybean (*Glycine max* L.) genotypes under drought stress conditions. *Journal Agronomy and Plant Breeding*, 4(1), 28-38.
4. Bouslama, M. & Schapaugh, W.T. (1984). Stress tolerance in soybean. Part 1: Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science*, 24, 933-937
5. Burton, J.W. & Miranda, L. (2013). Soybean Improvement: Achievements and Challenges. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 50(2), 44-51.
6. Carpentieri-Pipolo, V., Pipolo, A., Abdel-Haleem, H., Boerma, H. & Sinclair, T. (2012). Identification of QTLs associated with limited leaf hydraulic conductance in soybean. *Euphytica*. 186 (3), 679-686.
7. Daneshian, J., Hadi H. & Jonoubi, P. (2009). Study of quantitative and quality characteristics of soybean genotypes in deficit irrigation conditions. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 11(4), 393-409. (in Farsi)
8. Du, W. J., Fu, S. X. & Yu, D. Y. (2009a). Genetic analysis for the leaf pubescence density and water status traits in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Plant Breeding*, 128(3), 259-265.
9. Du, W., Wang, M., Fu, S. & Yu, D. (2009b). Mapping QTLs for seed yield and drought susceptibility index in soybean (*Glycine max* L.) across different environments. *Journal of Genetics and Genomics*, 36(12), 721-731.
10. Fernandez, G.C. (1992). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C. G. (ed.). *Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crop to Temperature and Water Stress*, Taiwan, 13-18 August, pp. 257-270.
11. Fischer, R.A. & Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 897-912.
12. Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campaline, R.G., Ricciardi, G.L. & Borghi, B. (1997). Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. *Canadian Journal of Plant Science*, 77, 523-53.
13. Jabbari, H., Akbari, G.A., Daneshian, J., Alahdadi, I. & Shahbazian, N. (2009). Utilization ability of drought resistance indices in sunflower (*Heliantus annus* L.) hybrids. *Electronic Journal of Crop Production*, 1(4), 1-17.
14. Jamali, S.H., Sadghi L. & Sadeghin-Motahhar, S.Y. (2011). Identification and distinction of soybean commercial cultivars using morphological and microsatellite markers. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13(1), 131-145. (in Farsi)
15. Kargar, S.M.A., Ghannadha, M.R., Bozorgipour, R., Khaje Ahmad Attari, A.A. & Babaei, H.R. (2004). An investigation of drought tolerance indices in some soybean genotypes under restricted irrigation conditions. *Iranian Journal Agronomy Plant Science*, 35, 129-142.
16. Li, D., Pfeiffera, T. W. & Corneliusb, P. L. (2008). Soybean QTL for yield and yield components associated with glycine soja alleles. *Crop Science Society of America*, 48(2), 571-581.
17. Miladinović, J., Vidić, M., Dorević, V. & Balešević-Tubić, S. (2015). New trends in plant breeding—example of soybean. *Genetika*, 47(1), 131-142.
18. Nicholas, F. W. (2006). Discovery, validation, and delivery of DNA markers. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 46, 155-158.
19. Pathan, M. S., Lee, J. D., Shannon, J.G. & Nguyen, H. T. (2007). Recent advances in breeding for drought and salt stress tolerance in soybean. In M. A., Hasegawa, P. M. Jain, & S. M. Jenks (Ed), *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*. pp. 739-773. Springer, New York.
20. Price, A.H., Cairns, J.E., Horton, P., Jones, H.G. & Griffiths, H. (2002). Linking drought-resistance mechanisms to drought avoidance in upland rice using a QTL approach: progress and new opportunities to integrate stomatal and mesophyll responses. *Journal of Experimental Botany*, 53, 989-1004.
21. Rashidi, V., Majidi, I., Mohamadi, S. A. & Moghadam Vahed, M. (2007). Determine of genetic relationship in durum wheat lines by cluster analysis and identity of morphological main characters in each gropes. *Journal Agronomy Science*, 13(2), 439-450.

22. Rezaei, M., Motamed, M.K., Yousefi, A. & Amiri, E. (2010). Evaluation of different irrigation management on rice yield. *Journal of Water and Soil*, 24(3), 565-573.
23. Rohlf, F.J. (1998). *NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, Version 2.02. Exeter Software, New York.
24. Rosielle, A.A. & Hamblin, J. (1981). Theoretical aspect of selection for yield in stress and non-stress environment. *Crop Science*, 21, 943-946.
25. Sanguinetti, C. J., Dias Neto, E. & Simpson, A. J. G. (1994). Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 17, 915-919.
26. Shahmoradi, S.H., Zynali Khanghah, H., Daneshian, J., Khodabande, N. & Ahmadi, A. (2009). Investigation effects of drought stress on soybean lines and cultivars based on sensitive and tolerance indices. *Iranian Journal Agronomy Plant Science*, 40(3), 9-23.
27. Vhdi, N. & Gholinezhad, E. (2015). Evaluation of drought tolerance of some soybean cultivars. *Journal of Water Research in Agriculture*, 29(1), 1-9. (in Farsi)
28. Zare, M., Zeinali Khaneghah, H. & Daneshian, J. (2004). An evaluation of tolerance of some soybean genotypes to drought stress. *Iranian Journal Agronomy Plant Science*, 35(4), 859-867. (in Farsi)
29. Zeinaly Khanghah, H., Izanloo, A., Hosein zadeh, A.H. & Majnoon Hoseini, N. (2004). Determination of the suitable drought resistance indices in commercial soybeans varieties. *Iranian Journal Agricultural Science*, 35(4), 875-885. (in Farsi)

Grouping conformity of soybean advanced lines and varieties using microsatellite markers and drought stress tolerance indices in Rasht and Gonbad-Kavous

Ahmad Reza Dadras¹, Habibollah Samizadeh² and Hossein Sabouri^{3*}

1, 2. Former Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences University of Guilan, Iran

3. Associate Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, Gonbad-Kavous University, Iran

(Received: Aug. 6, 2015 - Accepted: Oct. 19, 2015)

ABSTRACT

The complexity of the genetic control of drought tolerance makes inevitable using of molecular methods with biometric approaches to its improvement in plants. Present study was conducted by 121 advanced lines and varieties of soybean under two moisture levels, normal and drought stress with 21 microsatellite markers linked to drought tolerance in two regions, namely, Rasht and Gonbad-Kavous. Grouping of genotypes using cluster analysis based on stress tolerance index (STI), geometric mean productivity (GMP), mean productivity (MP), yield index (YI) and plant yield in normal and stress condition allocated them to three clusters sensitive, semi-sensitive and tolerant in both of regions. According to the results, genotypes 8, 9, 11, 25, 34, 37, 42, 44, 49, 63, 66 and 86 identified as tolerant genotypes in both regions. In addition, cluster analysis based on microsatellite markers divided lines and varieties to three groups. Comparison of three dendrograms represented a high conformity among clustering. In addition, the stepwise regression analysis revealed Satt454, Satt142, Satt648 and Satt345 had a significant relationship to tolerant indices and explained between 4-15 percent of variation variably. The results could be a conformation to importance of these microsatellites in association with genomic regions related to drought tolerance in present genetic background. It is expected to use of these validated markers to improve of soybean against to drought stress.

Keywords: Cluster analysis, stepwise regression, resistance index, water deficit.

* Corresponding author E-mail: hossein.sabouri@ghhec.ac.ir; hos.sabouri@gmail.com

Tel: +98 911 1438917