Archive of SID

Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (35-50)
DOI: 10.22059/ijfcs.201709-654379

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص ۵۰-۳۵)

ارزیابی ژنوتیپهای گندم نان در شرایط تنش خشکی با استفاده از شاخص‌های تحمل به خشکی و نشانگر های مولکولی SSR

زهره دهقان منشادی[۱]، حسین دشتی[۲*]، خلیل ملک زاده[۳]، شهاب مداح حسینی[۴]
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات دانشگاه ولی عصر (عج)
۲، ۳ و۴. به ترتیب، استاد، استادیار و دانشیار گروه ژنتیک و تولید گیاهی دانشگاه ولی عصر (عج)
(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۶)

چکیده

تعداد۳۶ ژنوتیپ گندم نان، شامل۶ رقم اصلاح شده و۳۰ ژنوتیپ دیگر که از مناطق مختلف ایران و سایر کشورها جمع آوری و تهیه شده بودند، در دو محیط رطوبتی (آبیاری نرمال و کم‌آبیاری) و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در هر محیط، مورد ارزیابی قرار گرفتند. با اندازه گیری میانگین عملکرد دانه در دو محیط برای هر ژنوتیپ، شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش محاسبه شد و رابطه بین تعدادی از نشانگرهای ریز ماهواره مرتبط با تحمل به خشکی و میزان تحمل به خشکی ژنوتیپ های مورد بررسی مطالعه شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، بر اساس شاخص تحمل به تنش (**STI**)، میانگین هندسی بهره‌وری (**GMP**)، شاخص میانگین عملکرد (**MP**) و عملکرد دانه در متر مربع در شرایط تنش (**Ys**) و شرایط بدون تنش (**Yp**)، با استفاده از تجزیه خوشه‌ای انجام شد و ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های ۱۱/۱۱۳، ۱۵۵۳، ۱۷۶، ۱۹۸، ۳۷۹۸، ۶۸۹، ۸۹۴، ۹۰۱۶، ۹۱۰، ۹۹، کوهدشت، پیشتاز، زاگرس، سیوند و ژنوتیپ‌های ۱۶۳۷، سرداری، ۲۰۴۷، ۲۱۰۳، آذر۲، ۸۷۱، ۸۹۰، به‌ترتیب به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل شناسایی شدند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای ریزماهواره نیز ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم‌بندی نمود. مقایسه دندروگرام‌ها، بیانگر ارتباط معنی‌دار بین تحمل به خشکی و نشانگرهای **SSR** بود. همچنین تجزیه رگرسیونی عملکرد در هر دو شرایط و شاخص‌های **GMP** و**MP , STI**، به‌عنوان متغیرهای وابسته و باندهای نشانگر، به‌عنوان متغیر مستقل نشان داد که آغازگرهای (**WMC179**، **WMC307** و **WMC322**) ،به عنوان مؤثرترین نشانگر در **MAS**، برای بهبود عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش می باشند.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، شاخص، گندم، نشانگرهای ریز ماهواره، ژنوتیپ.

Evaluation of Bread Wheat Genotypes under Drought Stress Conditions using Drought Tolerance indices and SSR Molecular Markers.

Zohreh Dehghan Manshadi[1], Hossein Dashti [2*], Khalil Malekzadeh[3] Shahab Maddahhosseini[4]
1.MSc degree in Plant Breeding at Vali-e-Asr University 2, 3 and 4 .Respectively, Professor, Assistant Professor and Associate Professor of Genetics and Plant Production at Vali Asr University
(Received: October 10, 2017- Accepted: January 6, 2018)

ABSTRACT

36 bread wheat genotypes including 6 improved and introduced cultivars and 30 other genotypes that were collected and prepared from different regions of Iran and other countries were evaluated in two irrigation conditions (normal and limited irrigation) in two separate randomized complete block design with three replications in both moisture conditions. Average yield for each genotype in each environment were measured and tolerance and stress susceptibility indices were calculated and the relationship between a number of micro satellite markers (associated with drought tolerance) and drought tolerance of genotypes were studied. The genotypes were divided into three groups (tolerant, semi-tolerant and susceptible) by cluster analysis based on Stress Tolerance Index (STI), Geometric Productivity Mean (GMP), Mean Performance (MP) and Yield Index (YI) as well as grain yield under stress conditions . Genotypes 11.113, 1553, 176, 198, 3798, 689, 894, 9016, 910, 99, Kohdasht, Pishtaz, Zagros, Sivand and Genotypes 1637, Sardari, 2047, 2103, Azar 2, 871, 890 were identified as tolerant and semi- olerant genotypes, respectively. Cluster analysis based on micro satellite markers also divided the genotypes into three groups. Comparison of dendrograms revealed a significant relationship between drought tolerance and SSR markers. As well as, regression analysis between the grain yield in both conditions, GMP, STI, MP as dependent and marker bands as independent variables showed that WMC179 , WMC307 and WMC322 are the most effective markers in MAS for improving yield under stressed and non-stressed conditions.

Key words; Index,drought tolerance, , SSR markers, Wheat, Genotype.

* Corresponding author E-mail: dashti@vru.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گندم، مهم‌ترین گیاه زراعی در جهان است که نقش مهمی در تأمین غذای مردم جهان دارد. در سال ۲۰۰۹، دومین غله پر مصرف، با سطح تولید جهانی ۶۸۵ میلیون تن بود و در سال ۲۰۱۳، تولید گندم به میزان ۷۱۳ میلیون تن بود و به عنوان سومین غله پر مصرف، پس از ذرت و برنج گزارش شده است (FAO, 2015). در میان عوامل محدود کننده عملکرد در حالت طبیعی، کمبود آب مهم‌ترین عاملی است که به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان از جمله ایران، از راه‌های مختلف، باعث محدودیت کاشت و کاهش گیاهان زراعی می‌شود. خشکی عبارت است از فقدان یا کمبود نزولات و به عبارتی کمبود رطوبت در محیط ریشه که موجب آسیب رسیدن به محصول می‌شود. در بسیاری از محیط‌های نیمه خشک، رطوبت نسبی در ابتدای فصل رشد، در بالاترین حد خود می‌باشد و با افزایش دما و قطع بارندگی‌ها، کاهش می‌یابد. در این مناطق، به طور معمول، دوره پرشدن دانه گندم، مصادف با کم‌آبی است و بنابراین عملکرد کاهش می‌یابد؛ در نتیجه در مناطق خشک، افزایش تحمل به خشکی، با افزایش و پایداری عملکرد، از اهداف مهم به شمار می‌رود (Emam, 2007). خشکی، مهم‌ترین عامل محدود کننده تولیدات گیاهی در اکثر مزارع کشاورزی جهان است و خشکسالی، اغلب باعث مشکلات جدی در نواحی تولید گندم شده است (Kilic & Yagbasanlar, 2010). خشکی بسته به زمان وقوع تنش و مرحله رشد گیاه، با تأثیر بر اجزای عملکرد، موجب کاهش عملکرد می‌شود (Alimohammadi & Mirmohamammay Maibody, 2011). برای تمایز ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در شرایط مزرعه، چندین شاخص انتخاب، بر اساس عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش خشکی پیشنهاد شده است. Fernandez (1992)، با بررسی عملکرد در محیط تنش و بدون تنش، ژنوتیپ‌ها را از نظر واکنش به محیط، به چهار گروه A (ژنوتیپ‌هایی که در هر دو محیط تنش و بدون تنش عملکرد بالایی دارند)، گروه B (ژنوتیپ‌هایی که فقط در شرایط محیطی بدون تنش عملکرد بالایی دارند)، گروه C (ژنوتیپ‌هایی که فقط در شرایط تنش عملکرد نسبتاً بالایی دارند) و گروه D (ژنوتیپ‌هایی که در هر دو محیط تنش و بدون تنش عملکرد پایینی دارند) تقسیم‌بندی نمود. طبق نظر فرناندز، مناسب‌ترین شاخص برای تحمل به تنش باید بتواند ژنوتیپ‌های گروه اول را از سایر گروه‌ها تفکیک نماید. Fisher & Maurer (1978)، شاخص حساسیت به تنش (Stress Susceptibility Index , SSI)؛ Rossielle & Hambolin (1981)، شاخص تحمل (Tolerance ,TOL) و میانگین بهره‌وری (Mean Productivity ,MP)؛ Fernandez (1992)، شاخص تحمل به تنش (Stress Tolerance Index, STI) و میانگین هندسی عمل (Geometric Mean Productivity, GMP) و Gavuzzi *et al.* (1997)، شاخص عملکرد (Yield Index,YI) توسط برای ارزیابی میزان تحمل به خشکی را معرفی کردند. شاخص انتخاب مناسب، شاخصی است که ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و بدون تنش را از سایر ژنوتیپ‌ها متمایز کند (Fernandez, 1992). محاسبه این شاخص‌ها بسیار زمان‌بر است؛ بنابراین انتخاب بر اساس نشانگرها (Marker assistance selection , MAS) می‌تواند مفید باشد و امروزه به عنوان یک متمم، برای روش‌های معمول مورد توجه قرار گرفته است. تکنولوژی نشانگرهای مولکولی در طی سال‌های اخیر، تحول بزرگی را در تجزیه ژنتیکی گیاهان زراعی ایجاد کرده است (Michelmore *et al.*, 1991). این نشانگرها، تحت تأثیر محیط قرار نمی‌گیرند و بنابراین در تمامی مراحل رشد گیاه می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. گزینش به کمک نشانگر مؤثر، غیر مخرب و خطای انتخابی پایینی دارد. تعداد زیادی از نشانگرهای مولکولی برای بررسی ارقام مقاوم به خشکی در گندم مورد استفاده قرار گرفته‌اند اما به کار بردن نشانگرها در انتخاب برای صفات کمی و QTLها ساده نیست. در دو دهه اخیر، نشانگرهای مولکولی، ابزار مناسبی برای مطالعه صفات پیچیده، در گونه‌های گیاهی فراهم کرده‌اند و اصلاح گیاهان، با تاکید بر روی شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده

www.SID.ir

Archive of SID

صفات کمی و انتخاب به کمک نشانگر، گسترش یافته است (Thudi *et al*., 2014). عملکرد دانه، یک صفت کمی است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود و به مقدار زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد و به علت ارتباطی که با سایر صفات دارد، تشخیص ژن‌های مسئول عملکرد به‌وسیله روش‌های کلاسیک، اندکی مشکل است. ولی با استفاده از تجزیه QTL می‌توان عملکرد را به اجزای کنترل آن تقسیم کردو نقش هر یک را مطالعه نمود (Hai *et al*., 2008). در مطالعات م،ختلف QTLهای متعددی برای عملکرد دانه گندم مکان یابی شده است که به طور یکنواخت، در کل ژنوم توزیع شده‌اند. بیشترین تعداد QTL برای عملکرد دانه، به ترتیب روی کروموزوم‌های 3B, 2B و 4A مکان‌یابی شده‌اند (Zhang *et al*., 2010). به منظور شناسایی QTLهای مرتبط با ژن‌های کنترل کننده عملکرد دانه در گندم نان، ۱۲۱ لاین اینبرد نوترکیب نسل F_8 حاصل از تلاقی رقم متحمل به خشکی آذر۲ و رقم پر محصول 87Zhong291 در شرایط تنش و نرمال مورد ارزیابی قرار گرفتند و تعداد ۵۹ QTL شناسایی شدند که با چند صفت در ارتباط بودند که از این تعداد، ۲۰ و ۱۰ QTL به ترتیب، تحت شرایط نرمال و تنش شناسایی شدند (Mohammadi *et al*., 2016). در پژوهشی با استفاده از ۸۲ لاین دابل‌هاپلوئید، پنج QTL برای عملکرد دانه روی کروموزوم‌های 4D, 4A, 3D, 2B, 2A مکان یابی شدند (McCartney *et al*., 2005). در پژوهشی دیگر و با استفاده از ۱۳۱ لاین اینبرد لاین نوترکیب F_{14} حاصل از تلاقی ارقام گندم Chuan35050, Shannong483، پنج QTL برای عملکرد دانه روی کروموزوم‌های 1D, 2D, 3B (دو QTL) و 6A شناسایی کردند (Li *et al*., 2007). در مطالعات مختلف، QTLهایی که در چندین زمینه ژنتیکی و چندین محیط شناسایی شده‌اند، نه تنها برای بهبود ارقام حساس به خشکی، بلکه برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS)، به منظور توسعه ارقام متحمل به خشکی و با عملکرد بالا نیز کاربرد دارند (Dixit *et al*., 2014). تعیین اعتبار QTLها و تأیید نشانگرهای پیوسته به آن‌ها، یک گام اساسی و ضروری قبل از انجام برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر است (Nicholas, 2006). بنابراین علاوه بر لزوم مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی، باید پیوستگی آن‌ها با نشانگرهای مولکولی اثبات شود و اعتبار آن‌ها تعسن گردد. یکی از روش‌هایی که می‌تواند میزان اعتبار نشانگرهای شناسایی شده را مورد ارزیابی قرار دهد، بررسی انطباق گروه‌بندی افراد، بر اساس نشانگرهای مولکولی و داده‌های فنوتیپی است (Dadras *et al*., 2016)و روش دیگر، تجزیه همبستگی و رگرسیون عملکرد، بر روی مکان‌های نشانگرهای مولکولی می‌باشد. در مطالعه ای بر روی ۹۶ لاین دابل هاپلوئید در شرایط آبیاری نرمال، یک QTL روی کروموزوم 1B برای عملکرد دانه پیدا شد؛ همچنین برای شاخص SSI ، سه QTL در کروموزوم‌های 4D, 7A, 6B و برای شاخص MP، دو QTL بر روی 5B , 5A و برای شاخص‌های GMP, STI, TOL، فقط یک QTL شناسایی شدند (Dashti *et al*., 2007). Roy *et al*. (2006)، با استفاده از تجزیه ارتباط بر اساس رگرسیون چند متغیره در ۵۵ لاین گندم، ۵۵ نشانگر SSR و ۵۴ نشانگر AFLP را شناسایی کردند که حداقل با یکی از ۱۴ صفت زراعی مورد مطالعه مانند عملکرد بیولوژیکی و وزن هزار دانه مرتبط بوده و به عنوان نشانگرهای مثبت برای برنامه های گزینش به کمک این نشانگرها برای این صفات، معرفی شد. پژوهش حاضر، با هدف شناسایی لاین‌های متحمل و حساس به خشکی به کمک نشانگرهای پیوسته به QTLهای مرتبط با تنش خشکی در گندم نان، انجام شد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی مزرعه‌ای

در این تحقیق، ۳۶ ژنوتیپ گندم نان، شامل شش رقم از ارقام اصلاح شده (کوهدشت ، زاگرس ،سرداری ، آذر۲، پیشتاز و سیوند) و ۳۰ ژنوتیپ از ژنوتیپ‌هایی که از مناطق مختلف ایران (خراسان ،سیستان و بلوچستان ، ایلام)و خارج از کشور جمع آوری و تهیه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند در سال ۱۳۹۲،

www.SID.ir

Archive of SID

در مزرعه، هر کدام در یک خط کشت شدند و از آن‌ها، یک بوته انتخاب شد و در سال‌های ۹۳ و ۹۴، تکثیر شدند و در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفته‌اند و اکنون با شماره‌های ذکرشده در جدول ۱، در کلکسیون دانشگاه ولی عصر رفسنجان نگهداری می‌شوند. این آزمایش در دو محیط آبیاری نرمال (هفت نوبت آبیاری در طول فصل رشد) و تنش (سه نوبت آبیاری در طول فصل رشد)، در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان، طی سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. پس از تهیه بستر و مسطح کردن زمین کاشت، بذرها در عمق دو سانتی‌متری و با فاصله ردیف‌های ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. هر پلات آزمایشی، شامل چهار ردیف به طول ۱/۵متر بود و میزان بذر لازم برای هر رقم، براساس وزن هزار دانه، بر اساس ۶۰۰ دانه در متر مربع محاسبه شد و کاشت بذرها در ۲۸ آبان(خاک آب) انجام شد. خاک مزرعه بر اساس آزمون خاک، دارای بافت لومی رسی- شنی، با هدایت الکتریکی ($4\ dS\ m^{-1}$) و pH=۷/۵در منطقه فعال ریشه بود. کنترل علف‌های‌هرز نیز در طول دوره رشد به‌صورت دستی انجام شد. به منظور تأمین عناصر مورد نیاز گیاه، ۱۵۰ کیلوگرم کود فسفات آمونیوم در هکتار، قبل از کاشت با خاک مخلوط شد. کود نیتروژن به صورت دستپاش و به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده شد. برداشت در اوایل خرداد ماه صورت گرفت. دو ردیف وسط، برداشت شدند و وزن‌دانه در متر مربع (عملکرد)، اندازه گیری شد و سپس شاخص‌های زیر محاسبه گردید. در نهایت، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از شاخص‌ها و بر اساس روش Ward جهت گروه‌بندی انجام شد.

برای تعیین پایداری ژنوتیپ‌ها در دو محیط تنش و بدون تنش، از شاخص ریک استفاده شد.

میانگین هندسی بهره‌وری

$$GMP = \sqrt{(Y_p \times Y_s)}$$

(Fernandez, 1992)

شاخص تحمل به تنش

$$STI = \frac{(Ys)\times(Yp)}{(Yp)^2}$$

(Fernandez, 1992)

شاخص حساسیت به تنش

$$SSI = \frac{1-(\frac{Ys}{Yp})}{SI}$$

$$SI = 1 - (\frac{\bar{Y}s}{\bar{Y}p})$$

(Fisher & Maurer, 1978)

شاخص میانگین تولید

$$MP = \frac{(Y_s+Y_p\ )}{2}$$

(Rossielle & Hamblin, 1981)

شاخص تحمل به تنش

$$TOL = Y_p - Y_s$$

(Rossielle & Hamblin, 1981)

$$YI = \frac{ys}{\bar{Y}_s}$$

شاخص عملکرد:

Ys: میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش Yp: میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال

$\bar{Y}s$:میانگین عملکرد کل ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش $\bar{Y}p$: میا نگین عملکرد کل ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال

شاخص ریک

$$W_i = \sum_{i=1}^{k} (\bar{X}_{ij} - \bar{X}_{io} - \bar{X}_{oj} + \bar{X}_{oo})^2$$

$\bar{x}_{ij}$: میانگین عملکرد ژنوتیپi در محیط j

$\bar{x}_{io}$: میانگین عملکرد ژنوتیپi

$\bar{x}_{oj}$: میانگین عملکرد محیط i

$\bar{x}_{oo}$: میانگین کل

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ – ژنوتیپ‌ها و ارقام گندم مورد مطالعه در ارزیابی مزرعه‌ای
Table 1 - Genotypes and wheat cultivars studied in the field experiment

Row	Collection number	Row	Collection number	Row	Collection number
1	11.113	15	3798	29	9016
2	836	16	422	30	9050
3	150	17	99	31	Kohdasht
4	1553	18	48	32	Pishtaz
5	76	19	689	33	Sardari
6	1637	20	744	34	Sivand
7	168	21	910	35	Zagros
8	176	22	8031	36	Azar2
9	1800.1	23	870		
10	198	24	871		
11	2047	25	882		
12	2095	26	890		
13	2103	27	894		
14	2191	28	90		

رقم کوهدشت، متحمل به تنش خشکی است و در سال ۱۳۷۹، برای کاشت در مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر دیم کشور معرفی شد. سرداری نیز به عنوان گندم دیم، برای مناطق سرد کوهستانی غرب کشور مناسب است. هم‌چنین آذر ۲، حاصل تلاقی سرداری و Kvz/ ym71/3/Mayas//Bb/Inia، در سال ۶۸-۶۷، در بخش غلات دیم مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر می‌باشد و به عنوان رقم متحمل به خشکی شناخته شده است. زاگرس، از ایکاردا وارد شده است و برای مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و دیم کشور معرفی شده است. این چهار رقم، در پژوهش انجام شده توسط Pakniyat & Tavakol (2007) نیز متحمل به خشکی شناخته شده‌اند. رقم پیشتاز که از تلاقی الوند و یک لاین برزیلی بدست آمده است، زودرس و دارای پتاسیل عملکرد بالا است و برای مناطق متعدل توصیه شده است. سیوند نیز حاصل تلاقی "Kauz"s (با منشاء مکزیک) و رقم آزادی است که در ایران تولید و معرفی شده است و مناسب مناطق معتدل می‌باشد. این شش رقم به عنوان شاهد در این پژوهش استفاده شدند.

ارزیابی مولکولی

برای انجام مطالعات مولکولی، DNA به روش CTAB استخراج شد (Doyle & Doyle, 1987). کمیت و کیفیت DNA، با استفاده از دستگاه نانو درآپ مدل 2000c و ژل آگارز تعیین شد. در این آزمایش، از نشانگرهای SSR پیوسته به QTL های کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل تنش خشکی، از منابع انتخاب شدند (جدول ۲). این آغازگرها، بر اساس مطالعات انجام شده، با صفات مقاومت به خشکی در گندم، رابطه دارند (Alnaggara *et al*., 2013; Bousba *et al*., 2013; Korzun *et al*., 1997). خصوصیات آغازگرهای مورد استفاده در پایگاه اینترنتی (Grain Genes)، به آدرس http://wheat.pw usda. gove. قابل دسترسی است. برای انجام PCR، از مخلوط واکنش PCRT در حجم ۲۰ میکرولیتر که شامل دو میکرولیتر بافر 10x، ۰/۵میکرولیتر dNTPs (۱۰میلی مولار)، ۰/۳میکرولیتر آنزیم Taqپلیمراز (۵واحد برمیکرولیتر)، ۰/۶ میکرولیتر از MgCl (۵۰میلی مولار)، ۰/۵میکرولیتر از هرکدام از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت(10pmol بر میکرولیتر) و دو میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر و بقیه آب دوبار تقطیر، استفاده شد. تکثیر DNA، توسط دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad-T100) و طی۴۰چرخه انجام شد؛ ۱۰ چرخه اول به صورت Touch down برنامه‌ریزی شد به‌طوریکه دمای اتصال آغازگر به رشته الگو، چهار درجه سانتی‌گراد بیشتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و به ازای هر چرخه، ۰/۴ درجه از دمای اتصال کاهش یافت و سپس در ۳۰ چرخه بعدی، دمای اتصال ثابت بود (بسته به دمای اتصال آغازگر). برای جداسازی محصولات تکثیری از ژل پلی‌آکریلآمید، واسرشت ساز شش درصد در الکتروفورز عمودی استفاده شد و رنگ آمیزی ژل‌ها، با استفاده از نیترات نقره انجام گرفت (Switzer *et al*., 1979). برای بررسی چند شکلی بین ژنوتیپ‌ها، به حضور یک باند خاص، عدد یک و به عدم حضور آن، عدد صفر داده شد. ماتریس تشابه، به روش دایس محاسبه شد و رسم دندروگرام با نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲/۰۲e و به روش UPGMA انجام شد. در نهایت، با مقایسه دندروگرام حاصل از شاخص‌ها و

www.SID.ir

Archive of SID

دندروگرام حاصل از مارکرهای SSR، میزان مطابقت آن‌ها و نیز میزان توانایی این نشانگرها درشناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل، مورد بررسی قرار گرفت . همچنین به منظور تعیین تأثیرگذارترین نشانگرها در تشخیص ژنوتیپ‌های متحمل به تنش، تجزیه رگرسیون خطی ساده تک مارکری بین نشانگرهای ریز ماهواره، به‌عنوان متغیرمستقل و عملکرد دانه و همچنین هر یک از شاخص‌ها به عنوان متغیر وابسته انجام شد..

جدول ۲- آغازگرهای SSR مورد استفاده در ارزیابی مولکولی

Table 2. SSR markers used in molecular evaluation

No	Primer name	Sequence	Annealing temperature for10 cycle	Annealing temperature for30 cycle
1	WMC 179 F WMC 179 R	CAT GGT GGC CAT GAG TGG AGG T CAT GAT CTT GCG TGT GCG TAG G	71	67
2	WMS 108 F WMS 108 R	ATT AAT ACC TGA GGG AGG TGC GGT CTC AGG AGC AAG AAC AC	66	62
3	WMS 198 F WMS 198 R	TTG AAC CGG AAG GAG TAC AG TCA GTT TAT TTT GGG CAT GTG	62	58
4	WMC 445 F WMC 445 R	AGA ATA GGT TCT TGG GCC AGT C GAG ATG ATC TCC TCC ATC AGC A	68	64
5	WMS 118 F WMS 118 R	GAT GGT GCC ACT TGA GCA TG GAT TG TCA AAT GGA ACA CCC	62	58
6	WMS 149 F WMS 149 R	CAT TGT TTT CTG CCT CTA GCC CTA GCA TCG AAC CTG AAC AAG	64	60
7	WMC 307 F WMC 307 R	GTT TGA AGA CCA AGC TCC TCC T ACC ATA ACC TCT CAA GAA CCC A	64	60
8	WMC 322 F WMC 322 R	CGC CCC ACT ATG CTT TG CCC AGT CCA GCT AGC CTC C	61	57

نتایج و بحث

جهت بررسی اثرکلی رژیم آبیاری، ژنوتیپ و اثر متقابل آبیاری در ژنوتیپ، تجزیه واریانس مرکب دو محیط تنش و عدم تنش انجام شد و نتایج نشان داد که اثر آبیاری و ژنوتیپ، در سطح یک درصدمعنی دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ در آبیاریمعنی‌دار نبود. تفاوت میانگین عملکرد دانه در دو محیط (Yp-Ys) که همان شاخص تحمل (TOL) می باشد، برای تمام ژنوتیپ‌ها بجز هشت ژنوتیپ معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین عملکرد ژنوتیپ ها در دو محیط تنش و بدون تنش که همان شاخص میانگین تولید (MP)می باشد نشان داد که ژنوتیپ ۱۹۸، بیشترین عملکرد و ژنوتیپ‌های ۱۵۰ و ۷۶، کمترین میانگین تولید را داشتند (جدول ۳). اگرچه مقدار TOL ژنوتیپ‌های۱۵۰ و ۷۶ پایین بود و مقدار TOL پایین، بیانگر نزدیک بودن عملکرد محیط تنش به عملکرد محیط بدون تنش است و ژنوتیپ تحمل بیشتری دارد، اما این ژنوتیپ‌ها دارای پتانسیل عملکرد پایینی هستند. از نظر شاخص‌هایGMP و STI، ژنوتیپ‌های ۱۹۸ ، ۸۹۴ و سیوند، به ترتیب دارای بیشترین مقدار بودند که نشان دهنده تحمل به تنش خشکی و پتانسیل عملکرد بالای آنهاست. ژنوتیپ‌های ۱۵۰ و ۷۶، کمترین مقدار را داشتند که نشان دهنده تحمل پایین آنهاست. در صورتی که از نظر شاخص TOL، این ژنوتیپ‌ها متحمل هستند ولی میزان عملکرد آن‌ها پایین است. با توجه به این‌که در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش خشکی، ژنوتیپ‌هایی مد نظر می‌باشند که در هر دو محیط تنش و عدم تنش، دارای عملکرد بالایی باشند و از طرفی شاخص های STI ، GMP و MP نیز همیشه ژنوتیپهای متحمل به خشکی را تشخیص نمی دهند زیرا ممکن است عملکرد بالای یک ژنوتیپ در محیط نرمال، باعث افزایش شاخص شود، بنابراین انتخاب براساس یک شاخص نمی‌تواند قابل اعتماد باشد و باید ترکیبی از شاخص ها را بکار گرفت (Mosavi *et al*,2008; Najafian,2009).

از این رو، به روش‌های چند متغیره نیاز است تا با توجه به روابطی که این شاخص‌ها با هم دارند، بتوان با ترکیب منطقی کلیه شاخص‌ها، جمعیت مورد مطالعه را بر اساس میزان تحمل و حساسیت، گروه‌بندی کرد و متحمل‌ترین ارقام و لاین‌ها را معرفی نمود و نشانگرهایی را معرفی کرد که بتوانند گروه متحمل را با اطمینان بالا شناسایی کنند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. میانگین عملکرد محیط تنش و عدم تنش و شاخص های تحمل و حساسیت و شاخص ریک

Table3. Mean yield in stressed and non-stressed conditions, tolerance and sensitivity indices and rick index.

genotypes	GMP	STI	SSI	Mp[1]	YI	Yp	Ys	TOL(Yp-Ys)	wi
11.113	241.92	0.545	1.16	293.8^{ab}	1.03	460.46	127.11	333.35**	8399.9
150	18.11	0.003	1.09	21.14 ^{c}	0.08	32.04	10.23	21.81	16548.9
1553	208.08	0.403	1.11	244.6^{abc}	0.94	373.28	115.99	257.29**	1433.8
1637	169.10	0.266	0.76	177.7^{abc}	0.99	232.17	123.16	109.01	4486.7
168	224.79	0.470	0.75	235.9^{abc}	1.33	307.23	164.47	142.77*	1858.5
176	246.13	0.564	0.86	264.5^{ab}	1.35	361.17	167.74	193.44**	53.0
1800.1	150.74	0.212	1.22	190.6^{abc}	0.60	307.28	73.95	233.33**	437.9
198	367.32	1.256	0.66	380.4^{a}	2.27	479.10	281.62	197.48**	19.6
2095	90.30	0.076	1.38	136.0^{bc}	0.28	237.80	34.29	203.51**	0.03
2103	161.54	0.243	0.57	165.4^{abc}	1.05	201.19	129.71	71.47	8746.8
2191	198.27	0.366	1.02	223.9^{abc}	0.97	328.01	119.84	208.17**	9.8
3798	191.29	0.341	1.15	230.5^{abc}	0.82	359.22	101.87	257.35**	1437.4
422	158.77	0.235	1.27	209.1^{abc}	0.59	345.27	73.01	272.26**	2347.6
48	126.17	0.148	1.21	158.6^{abc}	0.50	254.83	62.47	192.36**	64.6
689	259.24	0.626	1.05	296.7^{ab}	1.23	440.87	152.44	288.42**	3586
744	192.63	0.345	1.07	222.1^{abc}	0.90	332.62	111.56	221.06**	150.1
76	20.65	0.003	1.15	24.86 ^{c}	0.09	38.70	11.02	27.68	15496.9
2047	220.97	0.455	0.74	231.4^{abc}	1.31	299.89	162.81	137.08	2221.1
8031	197.30	0.362	0.91	214.9^{abc}	1.05	300.16	129.69	170.47*	553.2
836	190.07	0.336	1.06	218.1^{abc}	0.90	325.15	111.11	214.04**	53.1
azar2	275.25	0.705	0.58	282.2^{ab}	1.77	344.35	220.02	124.33	3152.8
zagros	150.72	0.212	0.37	152.0^{bc}	1.07	171.71	132.29	39.42	13499.7
882	153.84	0.220	1.06	176.7^{abc}	0.72	263.59	89.79	173.81*	447.8
890	219.01	0.447	0.72	228.8^{abc}	1.31	295.16	162.50	132.66	2526.1
894	324.47	0.980	0.85	347.7^{ab}	1.80	472.71	222.72	249.99**	1069.9
90	157.33	0.230	1.05	180.1^{abc}	0.75	267.65	92.48	175.18*	407.8
9016	221.44	0.457	1.09	257.6^{ab}	1.02	389.37	125.94	263.44**	1782.2
9050	130.79	0.159	1.26	171.0^{abc}	0.49	281.21	60.83	220.38**	138.5
910	233.28	0.507	0.94	255.9^{ab}	1.22	361.19	150.67	210.51**	23.0
99	205.57	0.393	1.26	267.8^{ab}	0.78	439.32	96.19	343.13**	9715.4
870	195.05	0.354	1.05	223.3^{abc}	0.92	331.95	114.60	217.34**	92.6
koohdasht	243.24	0.551	0.97	269.9^{ab}	1.23	386.85	152.94	233.91**	455.2
pishtaz	279.65	0.728	1.19	344.9^{ab}	1.15	546.85	143.01	403.84**	20020.4
sardari	247.04	0.568	1.14	294.9^{ab}	1.08	456.06	133.82	322.25**	7022.5
sivand	309.76	0.893	0.77	326.6^{ab}	1.80	429.98	223.15	206.82**	4.8
871	164.14	0.251	1.24	211.0^{abc}	0.63	343.54	78.43	265.11**	1883.3
LSD 0.05								140.6	
LSD 0.01								185.7	

میانگین‌های دارای حداقل در یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری به روش توکی و در سطح یک درصد ندارند.

*، **: به ترتیب معنی دار در سطح احتکال پنج و یک درصد.

Means with at least one common letter have no significant difference at 1% probability level, based on Tukey test.
*,**: significant at 1% and 5% probability levels, receptively.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی همبستگی عملکرد ژنوتیپ‌ها با شاخص‌های تحمل و حساسیت

برای تعیین برترین شاخص‌های تحمل یا حساسیت که بتوانند برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل مورد استفاده قرار گیرند، از ضریب همبستگی استفاده شد. ضرایب همبستگی ساده، بین شاخص‌ها و میانگین عملکرد نرمال و تنش، نشان داد که همبستگی سه شاخص MP، GMP و STI با عملکرد در شرایط تنش و نرمال، مثبت و معنی‌دار بود و همبستگی TOL با عملکرد، در محیط نرمال، مثبت و همبستگی SSI با عملکرد، در شرایط تنش، منفی و معنی‌دار بود. شاخص GMP، همبستگی بالایی با هر دو میانگین عملکرد دانه در شرایط تنش و نرمال داشت و پس از آن، شاخصMP و STI، بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش داشتند (جدول ۴). با توجه به ماهیت شاخص‌ها می‌توان گفت که GMP، MP و STI، بهترین شاخص‌ها برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل و برتر بودند؛ تجزیه عامل‌ها نیز برتری این شاخص‌ها را نشان داد. این شاخص‌ها، بیشترین بار عاملی را در فاکتور اول داشتند که فاکتور تحمل به خشکی شناخته شد (جدول ۵). در پژوهش انجام شده بر روی گندم نان، عملکرد دانه در شرایط تنش، بیشترین همبستگی را با شاخص‌های GMP و STI نشان داد (Abdolshahi *et al*., 2009). در پژوهشی دیگر نیز شاخص‌های MP، GMP و STI، برای شناسایی ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا، در هر دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی، به عنوان شاخص مناسب معرفی شدند (Dashti *et al*., 2007).

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت با عملکرد در شرایط تنش و نرمال

Table4. Correlation coefficients between susceptibility and tolerance indices and genotype yields under normal and stressed conditions

	TOL	GMP	STI	SSI	MP	YS	YP	YI
TOL	1							
GMP	0.485**	1						
STI	0.378*	0.954**	1					
SSI	0.564**	-0.379**	-0.387**	1				
MP	0.666**	0.975**	0.909**	0.249ns	1			
YS	0.133ns	0.930**	0.924**	-0.669**	0.829**	1		
YP	0.855**	0.868**	0.782**	0.092ns	0.956**	0.623**	1	
YI	0.133	0.930**	0.924**	-0.669**	0.829**	1	0.628**	1

*، **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

*, **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۵- نتایج تجزیه به عامل‌ها بر اساس شاخص های تحمل و حساسیت به خشکی

Table 5. Results of factor analysis based on drought tolerance and susceptibility indices

Index	Factor1	Factor2
STI	0.969	0.031
GMP	0.997	-0.039
YI	0.943	0.325
MP	0.965	-0.253
TOL	0.450	-0.878
SSI	-0.411	-0.890
Variance	4.12	1.73
Var%	0.688	0.289
Total variance	0.977	

تجزیه خوشه‌ای بر اساس شاخص‌های تحمل

به منظور گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ ها، از شاخص‌های تحمل MP، GMP، STI، YI و همچنین عملکرد دانه در شرایط بدون تنش(Yp)، جهت تجزیه خوشه‌ای به روش Ward همراه با استاندارد کردن و فاصله اقلیدسی استفاده شد و سه گروه مجزا در فاصله ۱۵/۳ تشخیص داده شد (شکل ۱). برش دندروگرام در نقطه‌ای صورت گرفت که ژنوتیپ‌ها توانستند حداکثر اختلاف را از هم داشته باشند. بردار میانگین شاخص‌های مورد مطالعه برای هر کلاستر نشان داد که ژنوتیپ‌های کلاستریک، از نظرکلیه شاخص‌ها به جزء SSI، دارای مقادیر زیاد بودند و کلاستر دوم از نظر کلیه صفات به جزء SSI، دارای مقادیر پائین بود؛ کلاستر سوم، دارای مقدار بالا برایYI (Ys) و مقدار پائین، برای SSI و مقدار مثبت برای GMP بود؛ بنابراین

www.SID.ir

Archive of SID

کلاستر یک، گروه متحمل،کلاستر دو، حساس و کلاستر سه، نیمه متحمل نامیده شدند. از روش دیگر نیز برای متمایز کردن منطقی گروه‌های مذکور، میانگین شاخص‌های مهم تشخیص داده شده در تجزیه به عامل‌ها، برای هر گروه، تعیین شد و انحراف از میانگین کل برای همان شاخص محاسبه شد (جدول ۶). مطابق روش بکار رفته (Rashidi *et al*., 2006)، 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 آن گروه را متحمل نامید و برعکس، اگر پایین تر باشد، گروه حساس خواهد بود. گروه متحمل، شامل ژنوتیپ‌های ۱۱/۱۱۳، ۱۵۵۳، ۱۷۶، ۱۹۸، ۳۷۹۸، ۶۸۹، ۸۹۴، ۹۰۱۶، ۹۱۰، ۹۹، کوهدشت، پیشتاز، زاگرس، سیوند؛ گروه حساس، شامل ژنوتیپ‌های ۱۵۰، ۱۸۰۰/۱، ۲۰۹۵، ۲۱۹۱، ۴۲۲، ۴۸، ۷۴۴، ۷۶، ۸۰۳۱، ۸۳۶، ۸۸۲، ۹۰، ۹۰۵۰، ۸۷۰، ۱۶۸ و گروه نیمه متحمل، شامل ژنوتیپ‌های ۱۶۳۷، سرداری، ۲۰۴۷، ۲۱۰۳، آذر۲، ۸۷۱، ۸۹۰ بودند (جدول ۶). دو زیرگروه برای گروه حساس قابل تشخیص است؛ یک گروه دو تایی شامل۱۵۰ و ۷۶ که دارای پتانسیل عملکرد پایینی بودند و احتمالا همین مسئله باعث جدا شدن آن‌ها از بقیه افراد گروه شده است (جدول ۳). نتایج بررسی Pakniyat & Tavakol (2007) بر روی گندم نان نشان داد که ارقام سرداری، آذر۲ و کوهدشت، ارقام متحمل به خشکی هستند؛ این ارقام در پژوهش حاضر نیز متحمل به خشکی شناخته شدند. بنابراین ارقام دیگری نیز که با این افراد در یک گروه قرار گرفتند، متحمل و نیمه متحمل بودنشان به خشکی، مورد تصدیق و تأیید قرار می‌گیرد. از آن‌جا که به‌نژادگران، همواره به دنبال یافتن ارقام و لاین‌هایی هستند که بتوانند پایداری عملکرد خود را در محیط‌ها و مکان‌های مختلف حفظ نمایند، از این رو برای مطالعه پایداری این ژنوتیپ‌ها، ازشاخص ریک (*Wi*) استفاده شد (جدول ۳). با مرتب کردن ژنوتیپ ها بر اساس مقادیر *wi*، ژنوتیپ‌های سیوند، ۱۹۸، ۹۱۰ و۱۷۶ که به ترتیب دارای *Wi* پایین تری بودند و در ضمن، در گروه متحمل (جدول۶) قرار داشتند، به‌عنوان متحمل‌ترین و پایدارترین زنوتیپ‌های دارای پتانسیل عملکرد بالا در هر دو محیط ، انتخاب شدند. در پژوهشی روی ۳۹ ژنوتیپ گندم بهاره در دو محیط تنش و بدون تنش خشکی با استفاده از شاخص‌های تحمل، ژنوتیپ‌های سیستان، اکبری، بیات، دز، بک‌کراس روشن بهاره، مهدوی و طبسی، جزء متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی معرفی شدند (Mohseni *et al*., 2015).

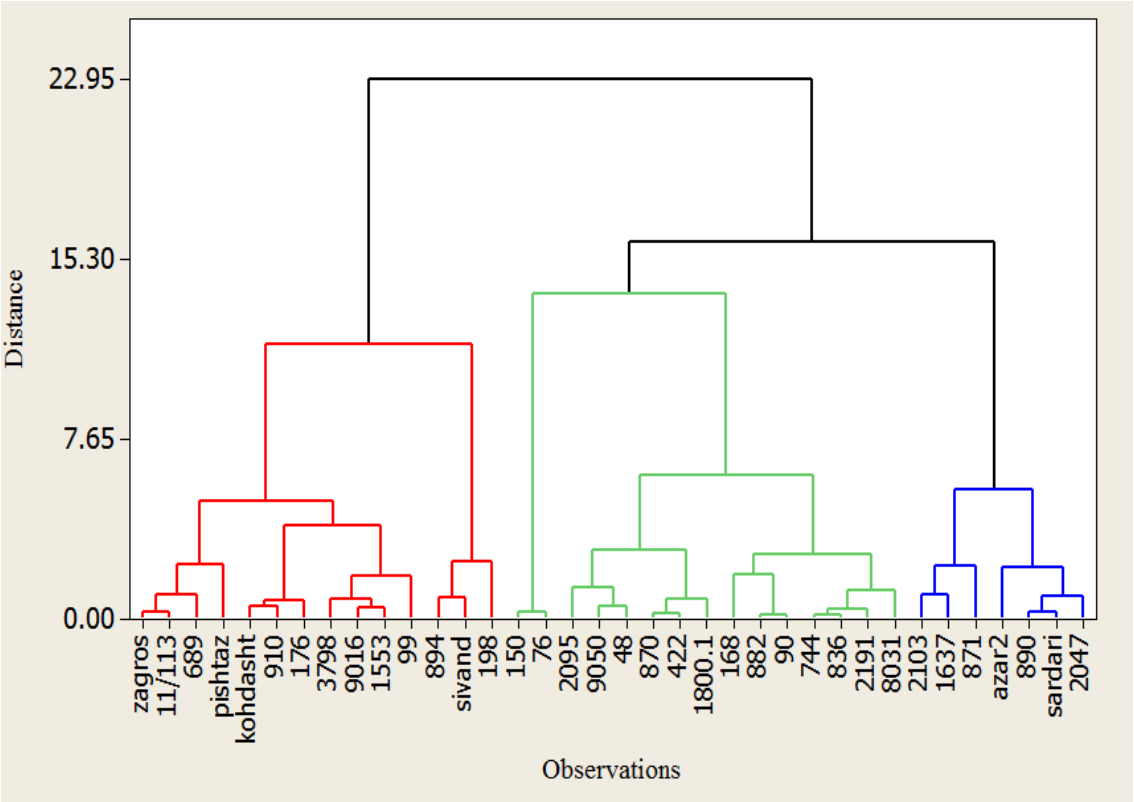
گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از نشان‌گرهای مولکولی SSR

نتایج گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه دایس و روش UPGMA با ترسیم خط برش در تشابه ۰/۴۵، ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار داد (شکل۲). گروه اول (A): شامل ژنوتیپ‌های ۸۰۳۱، ۲۰۹۵، ۱۶۳۷، ۱۵۵۳، ۱۸۰۰/۱، ۹۰۱۶، ۶۸۹، ۲۰۴۷، ۱۹۸، ۸۷۱، سیوند، پیشتاز، ۱۱/۱۱۳، ۹۱۰، ۳۷۹۸، ۹۹، ۸۹۴، ۱۷۶، ۸۹۰، ۸۷۰، زاگرس، ۲۱۰۳، کوهدشت، ۷۴۴، آذر۲، سرداری بود. در این گروه، بیشترین شباهت (۰/۹۵) بین ژنوتیپ های سیوند و ۹۱۰ وجود داشت. این دو رقم، هر دو از ارقام دیم هستند و سرداری، یکی از والدین آذر۲ است و هر دو، تیپ زمستانه دارند. گروه دوم (B): شامل ژنوتیپ‌های ۴۸، ۹۰۵۰، ۹۰، ۸۸۲، ۲۱۹۱، ۷۶، ۸۰۳۱ بود؛ در این گروه، بیشترین شباهت (۰/۸۱) بین ژنوتیپ‌های ۸۸۲ و۹۰ وجود داشت. شاید این دو ژنوتیپ نیز دارای والدین مشابه باشند. گروه سوم (C): شامل ژنوتیپ‌های ۱۶۸، ۴۲۲، ۸۳۶، ۱۵۰ بود. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها نشان داد که می‌توان شباهت‌های قابل توجهی را در دندروگرام مولکولی و دندروگرام حاصل از شاخص‌های تحمل مشاهده نمود. گروه B و :C شامل ۱۱ ژنوتیپ بودند که تمام ژنوتیپ‌های آن‌ها، در گروه حساس حاصل از گروه‌بندی بر اساس شاخص‌ها قرار داشتند. گروه A، با داشتن ۲۵ ژنوتیپ، دربرگیرنده ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل به خشکی بود که از این گروه، به ترتیب ۱۱/۱۱۳، ۱۴۷۰، ۱۵۵۳، ۱۷۶، ۱۹۸، ۳۷۹۸، ۶۸۹، ۸۹۴، ۹۰۱۶، ۹۱۰، ۹۹، کوهدشت، پیشتاز، زاگرس، سیوند و سرداری ۱۶۳۷، ۲۰۴۷، ۲۱۰۳، ۷۶۵، آذر۲، ۸۷۱، ۸۹۰ در گروه متحمل و نیمه متحمل حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط شاخص‌های متحمل به خشکی قرار داشتند. بنابراین این تطابق نمی‌تواند تصادفی باشد و نشانگرهای SSR توانسته اند در تمایز ژنوتیپ‌های حساس و متحمل، نقش مؤثری ایفا نمایند. به بیان دیگر، شاید

www.SID.ir

Archive of SID

بتوان گفت که نشانگرهای مورد استفاده، نشانگرهایی نیستند که بطور تصادفی از سطح ژنوم انتخاب شده باشند؛ بلکه از مناطقی از ژنوم هستند که پیوسته به ژن‌های کنترل کننده تحمل به تنش می باشند. با ترکیب کردن دو گروه B و C به‌دست آمده از گروهبندی بر اساس نشانگرهای SSR و ترکیب دو گروه متحمل و نیمه متحمل در خوشه بندی بر اساس شاخص‌ها و تجزیه χ^2 (جدول ۷)، رابطه بین گروه‌بندی بر اساس شاخص‌ها و گروه‌بندی بر اساس مارکرهای SSR مورد استفاده، بخوبی اثبات می شود و قابل انتظار هم می‌باشد چراکه آغازگرهای SSR استفاده شده، آغازگرهایی هستند که بر اساس مطالعات دیگران، با صفات مقاومت به خشکی رابطه نشان داده‌اند (Alnaggara *et al.*, 2013). نتایج این آزمایش با نتایج آن‌ها مطابقت دارد و بدین ترتیب، این آزمایش به اعتبار این مارکرها در سلکسیون برای تحمل به خشکی می‌افزاید.



شکل ۱- گروهبندی ۳۶ ژنوتیپ گندم نان بر اساس شاخص‌های تحمل و میانگین عملکرد دانه در شرایط تنش و نرمال، به روش Ward و فاصله اقلیدسی.

Fig1- Groupping of 36 bread wheat genotypes based on tolerance indices and mean of grain yield in stressed and non-stressed conditions using ward method and Euclidian distance.

جدول۵- بردار میانگین گروه‌ها در تجزیه کلاستر بر اساس شاخص‌های تحمل و عملکرد دانه.

Table 6 -Average vector of clusters based on tolerance indices and grain yield

Variable	Cluster1	Cluster2	Cluster3
YI	0.55	-0.79	0.64
TOL	0.79	--0.18	-1.11
GMP	0.78	-0.76	0.15
STI	0.81	-0.73	0.03
SSI	0.09	0.61	-1.47
MP	0.87	-0.71	-0.11
YP	0.92	-0.57	-0.52

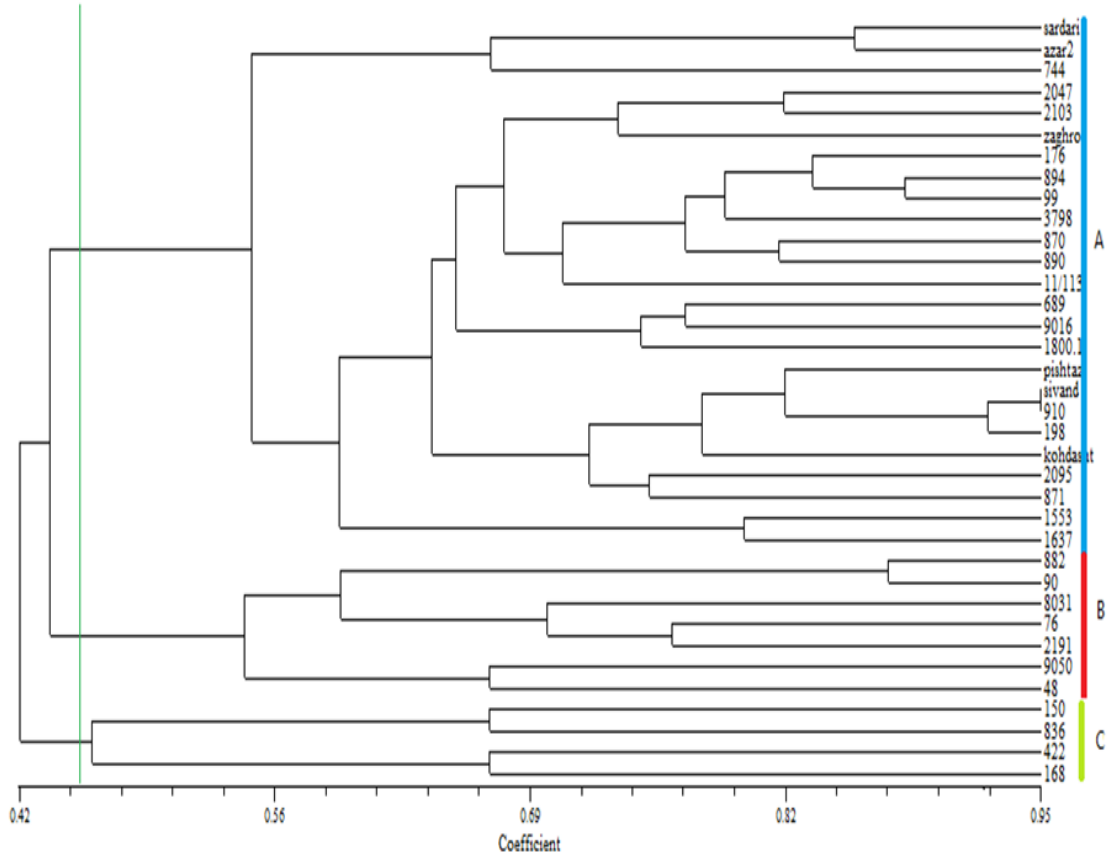
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- اعضای گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای همراه با میانگین و میزان انحراف از میانگین کل برای شاخص‌های تحمل

Table7- Memberships of groups derived from cluster analysis with the average and deviation of the total average for tolerance indicess

Index	YI	STI	MP	GMP	Genotypes	Group
Group average	1.28	0.639	289.38	253.38	198 176, 1553, ,11.113 910, ,9016-894 689, 3798, Kohdasht, pishtaz, 99, Zagros, Sivand	Tolerant
Deviation From Total mean	0.28	0.217	74.65	57.62		
Group average	0.639	0.223	170.05	139.47	150, 1800.1, 2095,2191,422, 48,76,744, 8031,836, 822, 90, 9050,870, 168	Sensitive
Deviation From Total mean	-0.361	-0.199	-53.68	-56.29		
Group average	1.308	0.421	214.73	207.73	1637, 2047, 871,890,2103 Sardari, Azar2 ,	Semi-Tolerance
Deviation From Total mean	0.308	0.01	-9	11.968		
Total average	1.00	0.411	223.73	195.762		



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس

fig 2- Denderogram of clustering of 36 genotypes by UPGMA method and Dice coefficient

www.SID.ir

Archive of SID

جدول توافق ۷- تجزیه χ^2 برای ارتباط گروه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه بر اساس نشانگرهای **SSR** و شاخص‌های تحمل به خشکی

Table 7- χ^2 Analysis for relationship between two grouping criterions (tolerance indices and SSR markers)

		based on indices		
		Semi-tolerant+Tolerant	Susceptible	Total
based on SSR	Group A	21 (14.58)*	4 (10.42)	25
	Group B+C	0 (6.42)	11 (4.58)	11
	Total	21	15	36
	χ^2 = 22.176	DF=1	P =0.00	

*اعداد داخل پرانتز، تعداد مورد انتظار در هر گروه را نشان می‌دهد.

*Numbers in parentheses are the expected value in each group.

تجزیه رگرسیونی بین عملکرد دانه در متر مربع و شاخص‌های تحمل به تنش با نشانگر SSR

به منظور تعیین مؤثرترین نشانگرهای SSR مرتبط با تنش خشکی، تجزیه رگرسیون بین صفت عملکرد دانه در شرایط تنش و عدم تنش و همچنین سه شاخص تحمل مورد استفاده، به عنوان متغیرهای وابسته و مکان‌های ژنی شناسایی شده توسط هر نشانگر، به عنوان متغیر مستقل و به روش تک نشانگری انجام شد. هدف از شناسایی نشانگر، پیدا کردن آلل‌هائی به عنوان نشانگر آگاهی‌بخش (Informative Markers) است که با عملکرد دانه همبستگی نشان داده‌اند. نتایج نشان داد که برخی نشانگرها، ارتباط معنی‌داری با عملکرد دانه در شرایط تنش، عدم تنش و تعدادی از شاخص‌ها دارند. نشانگرهای WMS -198، WMC-322، WMS-118، WMC-179، WMS-149وWMC 307 ، دارای بیشترین ارتباط معنی‌دار با عملکرد دانه در متر مربع و شاخص‌های تحمل به تنش بودند که ضریب رگرسیون تمام باندهای (آلل‌های) آن‌ها مثبت بود، بجز آلل 5-179 که دارای ضریب رگرسیون منفی بود (جدول ۸). این بدان معناست که انتخاب براساس وجود این آلل، منجر به انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد و تحمل پایین‌تر می‌شود و انتخاب بر اساس وجود سایرآلل‌ها، منجر به افزایش و بهبود عملکرد و تحمل به خشکی می‌شود. درتهیه نقشه‌های پیوستگی، اطلاعات نشانگری حاصل از تحقیق حاضر، جهت انتخاب آغازگرهای مناسب، مفید می‌باشد. در پژوهش انجام شده روی گندم دوروم برای عملکرد دانه، نشانگرهای WMC179، WMC307، WMC445، WMS108، WMS118، WMS149، WMC198، به ترتیب یک QTL روی کروموزوم‌های2A، 3B، 5A، 3B، 5B، 4B، 4A شناسایی کردند؛ همچنین نشانگر WMC322، دو QTL روی کروموزوم 3A، 3B بر روی گندم شناسایی کردهند (Bousba *et al*., 2013; Korzun *et al*., 1997).

جدول ۸- باندهای آگاهی‌بخش که از طریق رگرسیون ساده تک نشانگری با شاخص های تحمل در شرایط تنش و بدون تنش پیوستگی نشان دادند

Table 8- Informative bands that correlated with drought indices and grain yield at stressed and non-stress conditions

Dependent variable	Marker-allele (Independent variable)	Regression coefficient	R^2
Grain yield /m^2 in non stress condition	WMC-307-2	117**	30.2
	WMC-307-3	79**	14
	WMS-198-3	102**	22.6
	WMC-322-1	98.6*	16.5
	WMC-322-3	104**	23.4
	WMC-322-4	106**	25
	WMS-118-1	96*	14.4
	WMS-118-3	112**	26
	WMC-179-1	116**	30.6
	WMC-179-2	104**	24
	WMC-179-3	90.4*	17.6

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۸

Continue of Table 8

	WMS-108-4	77.6*	12.1
Grain yield /m^2	WMC-307-2	73.5**	40
in stress condition	WMC-307-3	46**	16
	WMS-198-3	42*	12.8
	WMC-322-3	58.1**	24.5
	WMC-322-4	46.2**	16.1
	WMC-179-1	49.1**	18.3
	WMC-179-2	50.8**	19.6
	WMC-179-3	59.5**	25.7
	WMC-179-5	-45.6**	15.1
	WMS-149-1	41*	12.5

*و**: به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

*, **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively

ادامه جدول ۸

Continue of Table 8

Dependent varible	Marker-allele (Independent variable)	Regression coefficient	R^2
GMP	WMC-307-2	83.1**	32
	WMC-307-3	56.2**	15.2
	WMS-198-3	66.8**	20.6
	WMC-322-3	70.7**	23.1
	WMC-322-4	61.6**	18.2
	WMC-179-1	76.2**	28.1
	WMC-179-2	74.4*	26.9
	WMC-179-3	71.5**	23.6
	WMC-179-5	-67.2**	20.9
STI	WMC-307-2	0.284**	28.1
	WMC-307-3	0.210**	15.4
	WMS-198-3	0.256**	22.5
	WMC-322-3	0.252**	21.4
	WMC-322-4	0.229**	18.3
	WMC-179-1	0.285**	28.6
	WMC-179-2	0.279**	27.3
	WMC-179-3	0.253**	21.2
	WMC-179-5	-0.250**	21.5
	WMS-118-3	0.222*	17.6
MP	WMC-307-2	84.5**	30.6
	WMC-307-3	58.3*	14.8
	WMS-198-3	66.3**	18.4
	WMC-322-3	70.7**	20.9
	WMC-322-4	65.2**	18.5
	WMC-179-1	78**	26.7
	WMC-179-2	72.4**	23
	WMC-179-3	71**	21.1
	WMC-179-5	-60.8**	18.1

*و**: به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح پنج درصد و یک درصد.

*, **: significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

www.SID.ir

Archive of SID

در پژوهش دیگری، با ارزیابی لاین‌های اینبرد نوترکیب F_9 حاصل از تلاقی Tamgurat و Cham , درگندم دوروم که با روش بالک تک بذر به دست آمده بودند، توانستند ۱۹ QTL روی کروموزوم‌های 2A, 5B, 6A, 6B, 7B, 1B را برای عملکرد دانه، مکان‌یابی کنند (Diab *et al*., 2007). شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی، یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای تسریع در انتقال صفات مورد نظر به ژنوتیپ‌های دیگر و ردیابی آن‌هاست. وجودپیوستگی بین نشانگرها و عملکرد، نیاز به تهیه جمعیت‌های در حال تفرق مانند F_2 و جمعیت‌های دیگر مورد استفاده در نقشه مانند (RILs)، DH دارد تا بر اساس این جمعیت‌ها، نقشه‌های پیوستگی تهیه شود و سپس مکان‌های کنترل کننده عملکرد بر روی کروموزوم‌ها مشخص شود (Naghavi *et al*., 2007).

از آن‌جا که تهیه جمعیت‌های در حال تفرق، وقت‌گیر و پرهزینه است، اگر بتوان قبل از تهیه این جمعیت‌ها، نشانگرهای مرتبط با صفات مورد نظر را از طرق مختلف تجزیه خوشه‌ای و تجزیه رگرسیون شناسایی کرد، می‌توان از آن‌ها، در برنامه اصلاحی، به‌عنوان نشانگرهای آگاهی بخش استفاده کرد (Ranjbar *et al*., 2009).

نتیجه گیری کلی

ارزیابی ۳۶ ژنوتیپ در دو شرایط تنش و نرمال به وسیله شاخص‌های تحمل به خشکی و عملکرد آن‌ها در دو محیط و هم‌چنین ارزیابی و بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای SSR نشان داد که برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر جهت بهبود تحمل به‌خشکی، شاخص‌های MP، GMP و STI، شاخص‌های مناسب‌تری بودند زیرا هر سه، همبستگی بالایی با میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش و نرمال داشتند و این شاخص‌ها توانستند در تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل را به خوبی از حساس‌ها جدا نمایند و از طرفی، تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای SSR مرتبط با صفات مقاومت به خشکی، انطباق بالایی را با تجزیه خوشه‌ای بر اساس شاخص‌ها و عمکرد در محیط تنش و نرمال نشان دادند. از سوی دیگر، رگرسیون بین عملکرد در شرایط تنش و نرمال و شاخص‌های تحمل به خشکی با لوکوس‌های شناسایی شده توسط آغازگرهای SSR مورد استفاده، ارتباط بین این مارکرها و تحمل به خشکی را به‌خوبی نشان داد، بنابراین در انتخاب ژنوتیپ‌ها برای تحمل به خشکی به وسیله مارکرهای SSR (MAS)، می‌توان از این نشانگرها استفاده نمود.

REFERENCES

1. Abdolshahi, R., Omidi, M, Talei, A. R. & Yazdi samadi, B. (2009). Evaluation of bread wheat genotypes for drought tolerance. *Electronic Journal of Crop Production, 3*(1), 159-171. (In Farsi).
2. Alimohammadi, M. & Mirmohamammady Maibody, S. A. M. (2011). Factor analysis of Agronomic and Physiological Traits of Ten Bread Wheat Cultivars under Two Irrigation Conditions. *Journal of Plant Production*, 18(2), 61-76. (In Farsi).
3. Alnaggara, M. M., Soblehse, S. E. S., Sattam, M. M. & Al-azab, K. F. (2013). Unique ssr markers for drought tolerance in newly- developed bread wheat mutants. *World Research Journal of Agronomy*, *2*(1), 15-25.
4. Bousba, R., Baum, M., Jighy, A., Djekoune, A., Lababidi, S., Benbelkacem, A. A., Labhilili, M., Gaboun, F., & Ykhlef, N. (2013). Association analysis of genotypic and phenotypic traits using SSR marker in Durum wheat. *OIIRJ*, *3*, 60-79.
5. Dadras, A. R. Samizadeh, H. & Sabouri, H. (2016). Groping conformity of soybean advanced lines and varieties using microsatellite markers and drought stress tolerance indaices in Rasht and Gonbad- Kavous. *Iranian Journal of Filed Crop Science*, 47 (1), 141-153. (In Farsi).
6. Dashti, H., Yazdi-Samadi, B., Ghannadha, M., Naghavi, M. R. & Quarri, S. (2007). QTL analysis for drought resistance in wheat using doubled haploid lines. *Int. J. Agric. Biol*, *9*(1), 98-102.
7. Diab, A. A., Fahmy, A. H., Hassan, O. S., Nachit, M. M. & Momtaz, O. A. (2007). Identification of chromosomal regions and genetic contributions of genes controlling yield and other agronomic traits in durum wheat grown under different Egyptian environmental conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, *3*(4), 401-422.
8. Dixit, S., Singh, A. & Kumar, A. (2014). Rice breeding for high grain yield under drought: a strategic solution to a complex problem. *International Journal of Agronomy*, *2014*.
9. Doyle, J. J. & Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, *19*, 11-15.
10. Emam, E. (2007). Careal Production. Shiraz University Pres,190PP. (In Farsi)

www.SID.ir

Archive of SID

11. Fernandez, G. C. (1992, August). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In *Proceedings of the international symposium on adaptation of vegetables and other food crops in temperature and water stress* (pp. 257-270).
12. Fischer, R. A. & Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, *29*(5), 897-912.
13. Food and Agriculture Organization. 2015. www. FAO. Org.
14. Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campanile, 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*(4), 523-531
15. Hai, L., Guo, H., Wagner, C., Xiao, S. & Friedt, W. (2008). Genomic regions for yield and yield parameters in Chinese winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes tested under varying environments correspond to QTL in widely different wheat materials. *Plant science*, *175*(3), 226-232.
16. http://wheat.pw usda. gove. Grain Genes
17. Kilic, H. & Yagbasanlar, T. (2010). The effect of drought stress on grain yield, yield components and some quality traits of durum wheat (*Triticum turgidum ssp. durum*) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *38*(1), 164.
18. Korzun, V., Börner, A., Worland, A. J., Law, C. N. & Röder, M. S. (1997). Application of microsatellite markers to distinguish inter-varietal chromosome substitution lines of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, *95*(2), 149-155.
19. Li, S., Jia, J., Wei, X., Zhang, X., Li, L., Chen, H. & Xu, Y. (2007). A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Molecular Breeding*, *20*(2), 167-178.
20. McCartney, C. A., Somers, D. J., Humphreys, D. G., Lukow, O., Ames, N., Noll, J., Cloutier, S. & McCallum, B. D. (2005). Mapping quantitative trait loci controlling agronomic traits in the spring wheat cross RL4452×'AC Domain'. *Genome*, *48*(5), 870-883.
21. Michelmore, R. W., Paran, I. & Kesseli, R. V. (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked sergeants analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the national academy of sciences*, *88*(21), 9828-9832.
22. Mohammadi, Y., Mohammadi, S. A, Moghadam, M. & Rostaei, M. 2016. Identification of molecular markers linked to the genes controlling width and length flog and second leaves and grain yield in bread wheat under rain-fed and supplementary irrigation conditions. *Cereal Research., 6*(3), 271-282. (In Farsi).
23. Mohseni, M., Mortazavian, S. M., Ramshini, A. H. & Foghi, B. (2015). Evaluation of drought tolerance in some wheat genotypes based on selection indices. *Iranian Journal of Field Crops Reseearch*, 13(3), 524-542. (In Farsi).
24. Moosavi, S. S., Yazdi-Samadi, B., Naghavi, M. R., Zalli, A. A., Dashti, H. & Pourshahbazi, A.(2008).Introduction of new indices to identify relative drought tolerance and resistance in wheat genotypes. *Desert*, 12:165-178
25. Naghavi, M. R., Mardi, M., Pirseyedi, S. M., Kazemi, M., Potki, P. & Ghaffari, M. R. (2007). Comparison of genetic variation among accessions of Aegilops tauschii using AFLP and SSR markers. *Genetic resources and crop evolution*, *54*(2), 237-240.
26. Najafian, G. (2009).Drought tolerance indices, their relationships and manner of application to wheat breeding programs. *Middle Eastern and Russian Journal of Plant Science and Biotechnology*, 3(1),25-34
27. Nicholas, F. W. (2006). Discovery, validation and delivery of DNA markers. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, *46*(2), 155-158.
28. Pakniyat, H. & Tavakol, E. (2007). Rapid markers associated whit drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(18), 3237- 3239.
29. Ranjbar, M., Naghavi, M. R. Zali, A., Aghai, M. J. & Mardi., M. (2009). Identification of informative markers of SSR in *Aegilops Crassa*. *Journal of Agricultur, 11*(1), 47-56. (In Farsi).
30. Rashidi, V., Majidi, I., Mohamadi, S.A. & MoghadamVahid, M. (2006). Determaine of genetic relationship in durum wheat lines by cluster analysis adentity of morphological main characters in each gropes. *Journal of Agricultural Sciences*, 13(2), 440-449. (In Farsi).
31. Rosielle, A. A. & Hamblin, J. (1981). Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environment. *Crop science*, 21(6), 943-946.
32. Roy, J. K., Bandopadhyay, R., Rustgi, S., Balyan, H. S. & Gupta, P. K. (2006). Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and. *Current science*, 90, (5).
33. Switzer, R. C., Merril, C. R. & Shifrin, S. (1979). A highly sensitive silver stain for detecting proteins and peptides in polyacrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 98(1), 231-237.
34. Thudi, M., Upadhyaya, H. D., Rathore, A., Gaur, P. M., Krishnamurthy, L., Roorkiwal, M., Nayak, S.N., Kumar chaturvedi, S., Sarathi Basu, P., Gangarao, N. & Fikre, A. (2014). Genetic dissection of drought and heat tolerance in chickpea through genome-wide and candidate gene-based association mapping approaches. *Plos one*, 9(5), e96758.

www.SID.ir

Archive of SID

35. Zhang, L. Y., Liu, D. C., Guo, X. L., Yang, W. L., Sun, J. Z., Wang, D. W. & Zhang, A. (2010). Distribution Genomic of quantitative trait loci for yield and yield-related traits in common wheat. *Journal of integrative plant biology*, 52(11)996-1007.

www.SID.ir