ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۳،پاییز ۱۳۹۷
صفحه ۴۰۸ - ۳۹۳

تجزیهٔ ارتباطی صفات مورفولوژیک برنج (*Oryza sativa L*) با استفاده ازنشانگرهای ریزماهواره (SSR) در شرایط غرقاب و تنش خشکی

Association Analysis Morphological Traits in Rice (*Oryza sativa L*) using SSR markers in terms of flooding and drought

محمدرضا کریم[۱]، حسین صبوری*[۲]، محمدعلی ابراهیمی[۳]، احمدرضا دادرس[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور تهران
۲- دانشیار، گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس
۳- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران
٤- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران

Karim MR[1], Sabouri H[*2], Ebrahimi MA[3], Dadras AR[4]

1- Msc Student, Department of Agricultural Biotechnology, payam Noor university, Tehran
2- Associate Professor, Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad
3- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, Iran
4- Assistant Professor of Crop and Horticultural Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hos.sabouri@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱٤ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۵)

چکیده

با توجه به اهمیت پژوهش‌های مرتبط با تنش غیرزیستی، پژوهش حاضر در راستای شناسایی نشانگرهای مولکولی که ارتباط معنی‌داری با صفات مرتبط با تحمل تنش در برنج دارند، انجام گرفت. این بررسی با استفاده از ۳٦ نشانگر ریزماهواره (SSR) و ۵۹ ژنوتیپ برنج در دو شرایط نرمال و تنش خشکی انجام شد. ۳٦ نشانگر ریزماهواره در مجموع ۱۸۹ آلل با میانگین ۵/۲۵ آلل در هر مکان ژنی مشاهده شد. نشانگرRM 5647 دارای بیش‌ترین تعداد آلل (۱۲) و نشانگرهای RM462 و RM 6022 دارای کمترین تعداد آلل(۲) بودند. میانگین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۰/۵۸ برآورد شد و نشانگر RM 5647 با ۰/۸۱ بیشترین و RM 6022 با ۰/۳۲ کمترین PIC را نشان دادند. به‌طور کلی ۲۹ متغییر شامل ۲۱ صفت زراعی به‌همراه هشت شاخص تحمل به تنش (SSI، STI، MP، GMP، HM، YSI، TOL و SST) ارزیابی‌شد. تجزیه ارتباط با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و با مدل‌های آماری GLM و MLM با استفاده از نرم‌افزار TASSEL برای ۲۹ متغیر انجام شد. مدل MLM توانست در شرایط نرمال ۱۱ نشانگر و در شرایط تنش خشکی ۲۲ نشانگر معنی‌دار را شناسایی نماید. در شرایط نرمال بالاترین ضریب تبیین مربوط به نشانگر RM5780 بود که ۲۹/۹۲ درصد تغییرات عملکرد را توجیه کرد و در شرایط تنش خشکی بالاترین ضریب تبیین مربوط به نشانگر RM519 بود که ۳۹/٦۹ درصد از تغییرات روز تا خوشه دهی را به خود اختصاص داد. برای هشت شاخص تحمل مورد بررسی، ٦ نشانگر معنی‌دار شناسایی شد. بالاترین درصد توجیه تغییرات فنوتیپی به نشانگر RM441 با ۲٦/۱۱ درصد به شاخص TOL اختصاص داشت. با توجه به نتایج، پیش‌بینی می‌شود استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ردیابی شده در این پژوهش در صورت تأیید و پس از اختصاصی شدن، با اطمینان زیادی در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر امکان پذیر باشد.

واژه‌های کلیدی

برنج
تجزیه ارتباط
شاخص‌های تحمل به تنش
نشانگرهای ریزماهواره

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی است که برای بیش از نیمی از جمعیت جهان غذای اصلی به‌شمار می‌رود. بیش از ۸۷ درصد برنج جهان در آسیا تولید و مصرف می‌شود که ٦٢ درصد جمعیت جهان در آن زندگی می‌کنند. برنج نیز مانند سایر محصولات زراعی بیش از پیش در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد (Todaka et al. 2012). خشکی از عمده خطرات جدی برای تولید موفق محصولات زراعی بخصوص برنج در جهان است که می‌تواند در هر زمان طی فصل رشد رخ دهد. از این رو یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی تولید غذای بیشتر با آب کمتر می‌باشد (Tuyen and Prasad, 2008). مناطق رشد برنج شامل مناطق گرمسیر، نیمه گرمسیر، نیمه خشک نواحی گرمسیری و مناطق معتدل جهان است. عمدتا مناطق رشد برنج در آسیا (۱۳۰ میلیون هکتار) اغلب با تنش‌های شدید غیر زنده که رایج‌ترین آن‌ها خشکی است، مورد تهدید قرار می‌گیرند. این مناطق، زمین‌های پست آبی و دیمی که روی هم بیش از ۸۵ درصد برنج دنیا را تولید می‌کنند، به خود اختصاص می‌دهند (Gorantla et al. 2007). تنش خشکی تقریباً در ۵۰ درصد از اراضی تولید برنج دنیا اتفاق می‌افتد (Ndjiondjop et al. 2010). تحقیقات نشان داده که حدود ۲۰۰ میلیون تن از محصول برنج در اثر تنش‌های زنده و غیرزنده از بین رفته است (Giri and Laxmi 2000).

مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمی نقش بسیار مهمی در کاربرد اطلاعات ژنومیک در تحقیقات کشاورزی و غیره دارد. در روش‌های مولکولی از عدم تعادل پیوستگی بین مکان‌های ژنومی برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی[1] (QTL) استفاده می‌شود (Mohammadi 2008). روش‌های مورد استفاده در این رابطه به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند. الف) تجزیه پیوستگی[2] یا مکان‌یابی[3]QTL، ب) تجزیه ارتباط[4] یا مکان‌یابی ارتباط[5]. این دو روش به‌عنوان روش‌های انتخاب برای شناسایی جایگاه مرتبط در وراثت صفات پیچیده است (Gomze et al. 2011). نقشه‌یابی ارتباط روشی جایگزین برای نقشه پیوستگی است که از مزیت استفاده از جمعیت‌های طبیعی برخوردار است. در این روش مجموعه بزرگی از افراد یک جمعیت به‌طور تصادفی جمع‌آوری می‌شوند و بر اساس عدم تعادل لینکاژی نقشه‌یابی انجام می‌شود. نقشه‌یابی ارتباطی در مقایسه با نقشه‌یابی لینکاژی به مراتب دقیق‌تر است زیرا به‌دلیل نوترکیبی‌های زیاد نقشه ژنتیکی وضوح بالایی دارد و به‌راحتی می‌توان از آن در فرآیند انتخاب به‌کمک نشانگر استفاده کرد (Moose and Mumm 2008). اولین بار روش تجزیه ارتباطی برای شناسایی آلل‌ها در بیماری‌های مربوط به انسان استفاده شد و امروزه به‌طور گسترده‌ای در QTLs گیاهانی مانند برنج، گندم و ذرت به‌کار برده می‌شود (Yao et al. 2009). با توجه به اینکه نشانگرهای مولکولی وابسته به DNA از نظر فنوتیپی خنثی بوده و تحت تأثیر محیط قرار نمی‌گیرند، تعداد زیادی از این نشانگرها را می‌توان برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی مورد استفاده قرار داد. این نشانگرها را می‌توان به راحتی در کل ژنوم جست و جو کرد. از طرفی شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات مهم کشاورزی، امکان استفاده از انتخاب به‌کمک نشانگر را فراهم می‌کند و تولید ارقام جدید را سرعت می‌بخشد. تاکنون پژوهش‌هایی در ارتباط با مکان‌یابی صفات کمی با استفاده از تجزیه ارتباط صورت گرفته است. مطالعه‌ای توسط Zhao (2008) et al. به‌منظور تجزیه ارتباط محتوای آمینواسید در ۸٤ توده برنج کره‌ای با استفاده از ۲۵ نشانگر SSR انجام شد. در این پژوهش مجموع ۱۵ نشانگر بیش از ٤۰ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کردند و به‌عنوان نشانگرهایی با پتانسیل بالا و مرتبط با صفات پیچیده برای برنامه‌های اصلاحی بعدی معرفی شده‌اند. Heydari et al. (2014) به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به تنش غرقابی در جو از نشانگرهای AFLP و ٤۰ ژنوتیپ جو تجزیه ارتباط را با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و با مدل‌های MLM و GLM برای ۲۲ متغییر شامل هشت صفت در شرایط نرمال و تحت تنش غرقابی از جمله وزن خشک اندام هوایی، طول، حجم، وزن تر، وزن خشک، سطح، قطر و چگالی ریشه و شش شاخص تحمل انجام دادند. در پژوهش این محققان ۸۷ نشانگر معنی‌دار در سطح پنج درصد در مدل MLM که مرتبط با ۲۲ متغییر مورد بررسی بود شناسایی شد. در بررسی ۱٦۰ توده

[1]Quantitative Trait Loci
[2] Linkage Analysis
[3] QTL mapping
[4] Association Analysis
[5] Association mapping

کلزا با استفاده چهار ترکیب پرایمری AFLP و انجام تجزیه ارتباط برای صفات میزان فیتات و فسفات در دانه و برگ و تعدادی از صفات مورفولوژیک با این نشانگرها به‌همراه و بدون دخالت ساختار جمعیت، ۱۷۰ نشانگر مرتبط با صفات مشاهده شده بدون دخالت ساختار جمعیت و ۲۷ نشانگر مرتبط با صفات مشاهده شده با دخالت ساختار جمعیت به دست آمد. از ۲۷ نشانگر پیدا شده، شش نشانگر موقعیت و مکان آن‌ها بر روی کروموزوم شناخته شده بود که سه نشانگر از این نشانگرها در مطالعات مکان‌یابی QTL از قبل تایید شده بودند و این کارایی و عملکرد درست و مناسب نشانگرهای AFLP برای یافتن موقعیت و جایگاه صفات کمی را نشان داد (Zhao et al. 2007). در مطالعه‌ی دیگری با انجام تجزیه ارتباط ژنوتیپ و فنوتیپ در ۵۵ ژنوتیپ گندم با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره، دو جفت آغازگر SAMPL و هشت جفت ترکیب آغازگر AFLP که جمعاً ۵۱۹ نشانگر چند شکل تولید کرده بودند، تعداد ۱۳۱ آلل ریزماهواره، ٤۳ نشانگر SAMPL و ١٦٦ نشانگر AFLP دارای ارتباط معنی‌دار با ١٤ صفت زراعی را شناسایی کردند (Roy et al. 2006).

شاخص‌های متفاوتی برای ارزیابی واکنش گیاهان در شرایط محیطی مختلف و تعیین مقاومت و حساسیت آن‌ها ارائه شده است. Rosielle and Hambelen (1981) شاخص تحمل (TOL[1]) و میانگین بهره‌وری (MP[2]) را ارائه کردند. Fischer and Maurer (1978) شاخص حساسیت به تنش (SSI[3]) را پیشنهاد کردند. Fernandez(1992) شاخص تحمل به تنش (STI[4]) و میانگین هندسی (GMP[5]) را معرفی کرد. Bouslama and Schapaugh (1984) شاخص پایداری عملکرد (YSI[6]) و Gavuzzi et al. (1997) شاخص عملکرد (YI[7]) را معرفی کردند. با توجه به اینکه تنش خشکی از مهم‌ترین عامل محدودکننده کشت برنج محسوب می‌شود و مطالعات ژنتیکی مرتبط با برنج از ضرورت بالایی برخوردار است، تجزیه ارتباط برای تعیین نشانگرهای پیوسته با مکان‌های ژنی کنترل‌کننده عملکرد و اندام هوایی می‌تواند اطلاعات مفیدی در اختیار به‌نژادگران قرار دهد؛ بنابراین پژوهش حاضر با اهداف نامبرده اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط آن‌ها به‌منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته به صفات مرتبط با تنش خشکی و غرقاب ۵۹ ژنوتیپ برنج (جدول۱) با استفاده ۳٦ نشانگر مولکولی ریز ماهواره‌ای در آزمایشگاه اصلاح نباتات و ژنتیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس انجام گرفت. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط جداگانه، بدون تنش (غرقاب) و تنش خشکی در مزرعه پژوهشی واقع در شهرستان علی‌آباد کتول با طول جغرافیایی ٥٤/٥١ شرقی و عرض جغرافیایی ٣٦/٥٤ شمالی با ارتفاع ١٣٦ متر از سطح دریا، در سال زراعی ۱۳۹۲ انجام شد. این منطقه از نظر آب و هوایی جزء اقلیم معتدل و مرطوب محسوب می‌شود و دارای زمستان‌هایی سرد و تابستان گرم می‌باشد. قبل از کاشت در خزانه، محل خزانه با دقت توسط تیلر شخم زده شد. بذرها به مدت ٢٤ ساعت در آب معمولی خیسانده شدند و بعد به مدت ۱۲ ساعت در محلول ۲ در هزار مانکوزب قرار داده شدند. سپس بذرها در پارچه‌های کنفی قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. در این مدت، بذرها چندین بار به آرامی تکان داده شدند تا جوانه‌زنی به‌طور یکنواخت انجام شود و برای خشک نشدن بذرها، چندین بار آب‌پاشی انجام شد. خزانه به طریق ژاپنی احداث شد، بدین ترتیب که سطح خزانه بالاتر از جوی‌های آبیاری طرفین قرار می‌گیرد سپس آبیاری خزانه انجام شد و زمانی که سطح آن کاملاً مرطوب شد، آب اضافی خارج شد و بذور جوانه‌دار شده در سطح خزانه پاشیده شدند. هم زمان با رشد نشاها در خزانه اقدام به آماده‌سازی زمین اصلی شد. اندازه واحدهای آزمایشی دو متر مربع ابعاد کرت (۱×۲) و با فاصله یک متر از یکدیگر در نظر گرفته شده بعد از انتساب تصادفی تیمارها به واحدهای آزمایشی نشاکاری به‌صورت چهار بوته در هر کپه انجام شد هر ژنوتیپ در پنج ردیف با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بین

[1] Tolerance index
[2] Mean productivity
[3] Stress susceptibility index
[4] Stress tolerance index
[5] Geometric mean productivity
[6] Yield stability index
[7] Yield index

بوته‌ها و ۲۵ سانتی‌متر بین ردیف‌ها در ردیف‌های به طول دو متر کشت شد. آبیاری مزرعه آزمایشی در هر دو محیط غرقاب و تنش، تا مرحله پنجه‌دهی ارقام به‌طور یکسان و به‌صورت غرقاب انجام شد سپس برای ایجاد تنش، آبیاری از ۴۰ روز پس از نشاء (مرحله حداکثر پنجه‌زنی) به‌صورت تناوب ۱۵ روز انجام شد. جهت جلوگیری از فرار آب و علف کش‌ها مرز کرت‌ها تا عمق یک متری با پوشش نایلونی پوشانیده شدند. وجین علف‌های هرز، ۲۱ روز پس از نشاءکاری و وجین دوم به فاصله ۱۹ روز از وجین اول انجام شد. به‌منظور مبارزه با پروانه ساقه خوار برنج از سم دیازینون ۱۰ درصد به میزان ۱۵ کیلوگرم در هکتار در موقع وجین و در زمان خوشه‌دهی و چند روز قبل از رسیدگی استفاده شد.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد بررسی در آزمایش

منشاء	ژنوتیپ‌ها	شماره	منشاء	ژنوتیپ‌ها	شماره
ایران	LINE 213	۳۱	IRRI(فیلیپین)	IR55419–04	۱
ایران	ANBARBO ILAM	۳۲	IRRI(فیلیپین)	IR77298-5-6	۲
IRRI(فیلیپین)	IR66417–18–1-1–1	۳۳	IRRI(فیلیپین)	IR60080-48	۳
IRRI(فیلیپین)	CT6516–24–3-2	۳٤	IRRI(فیلیپین)	IR68702–072–1-4-B	٤
IRRI(فیلیپین)	IR7471-199-1-302	۳۵	هند	Panda	۵
IRRI(فیلیپین)	IRGC-15092RT-1031-62	۳٦	ایتالیا	Way Rarem	٦
IRRI(فیلیپین)	B6144F-MR-6–0-0	۳۷	IRRI(فیلیپین)	IRFAON-308	۷
IRRI(فیلیپین)	IR69626B	۳۸	IRRI(فیلیپین)	IR 53236-342	۸
هند	WAB638–1	۳۹	IRRI(فیلیپین)	IR 47686-12-5-B-1	۹
IRRI(فیلیپین)	IR60080-46A	٤۰	IRRI(فیلیپین)	IR66424–1-2–1-5	۱۰
ایتالیا	Pegaso	٤۱	IRRI(فیلیپین)	IR57924-24	۱۱
IRRI(فیلیپین)	IR63371-38	٤۲	ایتالیا	Caiapo	۱۲
IRRI(فیلیپین)	CT13382–8-3-M	٤۳	IRRI(فیلیپین)	IR63377-08	۱۳
IRRI(فیلیپین)	IRAT177	٤٤	IRRI(فیلیپین)	CT6510–24–1-2	۱٤
IRRI(فیلیپین)	IR66421–062–1-1–2	٤۵	IRRI(فیلیپین)	IR63380-08	۱۵
IRRI(فیلیپین)	IR65907–116–1-B	٤٦	IRRI(فیلیپین)	IR60080-42	۱٦
IRRI(فیلیپین)	IR65261–09–1-B	٤۷	ایران	SANGJO	۱۷
IRRI(فیلیپین)	IR30	٤۸	IRRI(فیلیپین)	USEN	۱۸
IRRI(فیلیپین)	IR62761-20	٤۹	IRRI(فیلیپین)	IR67015-49-2-6	۱۹
IRRI(فیلیپین)	IR 55411-50	۵۰	IRRI(فیلیپین)	IRAT170	۲۰
IRRI(فیلیپین)	IRAT216	۵۱	IRRI(فیلیپین)	IR62752-07	۲۱
هند	SAMBA MAHSURI	۵۲	هند	Palawan	۲۲
IRRI(فیلیپین)	IR70358–84–1-1	۵۳	IRRI(فیلیپین)	IR55423-01	۲۳
IRRI(فیلیپین)	CT6510-24-7-8	۵٤	IRRI(فیلیپین)	CT6510–24–7-8	۲٤
IRRI(فیلیپین)	IR60080–46A	۵۵	هند	NONABOKA	۲۵
IRRI(فیلیپین)	UPLRi-7	۵٦	IRRI(فیلیپین)	IR3441-97	۲٦
ایران	LINE226	۵۷	هند	DAGADDESHI	۲۷
ایران	LINE 835	۵۸	IRRI(فیلیپین)	IR63372-15	۲۸
IRRI(فیلیپین)	AUS196	۵۹	IRRI(فیلیپین)	IR70360–38–1-B-1	۲۹
			IRRI(فیلیپین)	IRAT212	۳۰

صفات مورد مطالعه؛ شامل طول خوشه (طول ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته در هر کرت، از گره زیر خوشه تا انتهای خوشه بدون در نظر گرفتن ریشک برحسب سانتی‌متر)، تعداد خوشه چه (تعداد خوشه چه ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، دانه پوک (تعداد دانه‌های پوک و معیوب ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، طول خروج خوشه از غلاف (خروج خوشه‌ها از بالای غلاف برگ پرچم تا گره زیر خوشه در زمان رسیدگی)، طول برگ پرچم (از زیر برگ پرچم تا نوک آن بر حسب سانتی‌متر)، عرض برگ پرچم (عرض برگ پرچم از پهن‌ترین قسمت برگ پرچم بر حسب سانتی‌متر)، مساحت برگ

پرچم (طول و عرض برگ پرچم در ضریب ۰/۷۵)، تعداد دانه کل خوشه (تعداد دانه کل ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، ارتفاع بوته (ارتفاع بلندترین پنجه از ناحیه طوقه در سطح خاک تا نوک خوشه بدون احتساب ریشک بر حسب سانتی‌متر)، تعداد خوشه در بوته (تعداد خوشه‌های ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، وزن کاه بوته (وزن کاه ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، وزن خوشه (وزن خوشه ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، وزن کل بوته (وزن کل ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت)، میزان باروری (از تقسیم تعداد دانه پر بر تعداد کل دانه‌ها)، تعداد دانه پرخوشه (تعداد دانه‌های پر ۱۵ خوشه اصلی در ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت بعد از رسیدن کامل دانه‌ها)، وزن دانه پرخوشه (وزن دانه‌های پر ۱۵ خوشه اصلی در ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت بعد از رسیدن کامل دانه‌ها)، عملکرد در هکتار (عملکرد شلتوک در یک هکتار برحسب تن)، وزن کاه در هکتار (وزن کاه در یک هکتار برحسب تن)، شاخص برداشت (از تقسیم وزن دانه بر وزن کل گیاه)، تعداد روز تا گلدهی (تعداد روزهای از کاشت نشاها در خزانه تا مرحله ۵۰ درصد گلدهی بوته‌های هر کرت)، تعداد روز تا رسیدگی (تعداد روزهای از کاشت نشاها در خزانه تا مرحله رسیدگی کامل بوته‌های هر کرت)، دوره پر شدن دانه (از تفریق تعداد روز تا گلدهی به تعداد روز تا رسیدگی) از هر واحد آزمایشی ۱۵ بوته به‌طور تصادفی با حذف اثر حاشیه انتخاب شدند و صفات مربوطه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش

شاخص‌های تحمل به تنش با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه شدند:

۱. شاخص حساسیت به تنش(SSI) :

$$SSI = \frac{1-\left(\frac{YS}{YP}\right)}{SI}$$

که در آن SI شدت تنش و YP,YS,YP,YS به‌ترتیب عملکرد و میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش و غرقاب هستند. شدت تنش با رابطه زیر محاسبه شد.

SI=1-YS/YP

۲. شاخص تحمل(TOL):

TOL= YP-YS

در این فرمول YP و YS به‌ترتیب عملکرد ارقام در شرایط عادی و تنش خشکی می‌باشد.

۳. شاخص تحمل به تنش(STI)

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

۴. شاخص میانگین تولید (MP)

$$MP = \frac{(Y_S+Y_N)}{2}$$

۵. میانگین هندسی (GMP)

$$GMP = \sqrt{Yp.YS}$$

۶. میانگین هامونیک (HM), HM=2(Yp.Ys) /(Yp+Ys)

۷. شاخص پایداری عملکرد (YSI)

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

۸. شاخص عملکرد (STS) $(STS) = Ys/Ys^{-}$

به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج از ۳۶ نشانگر مولکولی ریز ماهواره‌ای (جدول۲) استفاده شد. استخراج DNA ژنومی از برگ‌های جوان ۳ تا ٤ هفته‌ای در مرحله چهار برگی با استفاده از روش CTAB (Hormaza et al. 1994) در آزمایشگاه اصلاح نباتات و ژنتیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس انجام گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی از دستگاه اسپکتروفتومتری و الکتروفورز آگار ۱ درصد استفاده شد. واکنش PCR به روش Touchdown (Don et al. 1991) ۳٦ آغازگر ریزماهواره به‌طور تصادفی به ازای هر کروموزوم ۳ نشانگر مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. جهت تفکیک محصولات PCR از الکترفورز ژل پلی آکرآمید ٦ درصد و برای آشکارسازی الگوی نواربندی از روش رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. براساس الگوهای نواری واضح و روشن حاصل از الکتروفورز، امتیازدهی انجام شد.

تجزیه‌های آماری

بعد از امتیازبندی نوارها، آماره تنوع ژنتیکی شامل محتوای اطلاعات چندشکل(PIC) با استفاده از رابطه زیر و توسط نرم‌افزار Power Marker (Liu 2004) انجام شد.

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{I} P_i^2 - \sum_{i=1}^{I-1} \sum_{j=i+1}^{I} 2 P_i^2 P_j^2$$

سایر آماره‌ها مانند تعداد آلل موثر، شاخص تنوع ژنتیکی نی، شاخص نشانگری و شاخص شانون (Shannon and Weaver 1963) با استفاده از نرم‌افزار Pop Gene (Yeh et al. 1997) محاسبه شدند.

جدول۲- ویژگی‌های نشانگرهای ریزماهواره مورد مطالعه.

نشانگرها	آغازگر همسو	آغازگر معکوس
RM462	CCGCGAATCCATTCAGACTGC	TCTAGGAGGAGATGGCGGAGTAGC
RM3148	GCTTTGGTATTTGCAGGTTCACG	CTATTGCTCGAACACTTTGCTTCTCC
RM6324	CTGTACAAGAACGGCAGCAACC	GCACCACCAAACAGAGACAGAGG
RM6230	ATGCATGCAAGCGAATTTCACC	GCCGTTCTTCTGATGACGATGG
RM3294	CTCGTCTCCTCATGCATATCAGC	TGCCTCGCTCTTGTCTTTACTCC
RM5780	TGCCACAGAGTAGCATCAAACG	ACTAGCTGCTGCATCTTCTACTGC
RM132	CTTTCTCTCGCCTACGCCTTCC	TCGACGAGGTTGATCAGTAGGG
RM523	TGAATTCTTGCACATGGTCAGC	TGGGAGGTTTGCTAGGGTAATCC
RM5761	AAGATTACCCGGGATTGTAGTGG	AGTCTAGTCGTCCTCTTCACATGG
RM8213	TGTTGGGTGGGTAAAGTAGATGC	CCCAGTGATACAAAGATGAGTTGG
RM3658	GTAGCACTCCGCTGCTTCGTCTCC	AATCCCACCCGCCTCATCTCC
RM5424	TAAAGGTGTCCGACAAGAACACG	GATCGATCTGGAGGATTGAAAGG
RM3419	TGCTGCTATTCCTCAAGACAAACC	CTTGGTGAAACAGTGCTCTCTGG
RM7118	CACGCGTAGCTAAGCATCAAGC	GATCAAAGATGCGTGTACGTTGG
RM5140	GGCACTCGTATTTCTCAACTTCTCC	GGGTGTATCAGGAGTACAGGTTGC
RM7420	CACAAAGCAAGCACCCAGAAGG	TCATGGCGTGAAGGAAGGAAGG
RM6773	GCTGCTCCACCTTCACCTTCC	CGATGGTGTGTTGTTTGGTTGC
RM549	ATCCCTGAACCCAAATTCTGTCG	CTCTTTGATCTTCCGGTGATTTCG
RM427	TTGAGCTGATGAGAGTTGGTTGC	CTGTCACTAGCTCTGCCCTGACC
RM5711	GGACGGAAGGAATACGTCTGTAGG	CTGTCCATGCATCCATCTCTAGC
RM3583	ACCATGAGGTCCACTTGATACGC	GCCATGTCATCATCTGATCTCTTTCC
RM8005	CATTCCCAGCGTGGATATTCG	CTTTGTCCATCTCGCCGTACTCC
RM38	ACGAGCTCTCGATCAGCCTAGC	CACTCCATGGAAGAGGCAAGC
RM5647	GTTCCATCCAGACATTGTAGAAGC	TAAACTTGGTCGTGGACAGTGC
RM8206	AATCCACCTGGCCCTAATCTTCC	CACTGCTGCTTCCTTCCTTCTGC
RM7038	GATTAGAGCTTTGGTGGTTCTTGG	ACTTGTGGTCGGTCTGGTAGTCC
RM5652	CGCGTAGCTAAGCATCAA	TCAAAGATGCGTGTACGTT
RM474	TACACGAGGGAGTACTCGAATGG	CATGGAGGTATAGAAGAGCATTGG
RM6179	GCGCCGCCGAGATGATAAGC	AGCGGCATCTCGTCCATCTCC
RM7545	GTTTCCATATCCGTGCTATTCG	CACGATTCCTACAATACGAGAGC
RM441	AAGGGAGTAGCCTCTCCATCTCC	GTGCTGACTCCTCTCCCTGTCC
RM3625	TGCAATTTCATCCACCCATCTCG	ACGAGTGCACGCTGTCATTGG
RM7091	GCTGCAGATAGATGTGGATGGTATGG	AGATGCCATGTGGCGGTTTAGG
RM512	TGCAGTGAATGGAGACCACTAGC	CGGTGAGTCCCATATCTTCAACC
RM6022	ATCAATCGCTCATCGAATCACG	TCGACCTGGACTCCATTACTCG
RM519	AATTTCCGCGAAATCAGCATCC	TCATCTGGACAGTCGAGGTACGC

برای انجام تجزیه ساختار و تفکیک کل جمعیت‌های متمایز از لحاظ ساختار ژنتیکی از نرم‌افزار STRUCTURE استفاده شد (Pritchard et al. 2002). از آنجایی که در مورد ساختار جمعیت اطلاعات قبلی در دست نبود تعداد بهینه K با شبیه‌سازی محاسبه شد. منظور از K تعداد زیر جمعیت‌های مورد مطالعه در جمعیت مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE می‌باشد. در حقیقت تعیین تعداد زیر جمعیت‌های ساختار ژنتیکی برای انجام تجزیه‌های آماری مهم مثل تجزیه ارتباط برای تعیین نشانگرهای معنی‌دار واقعی مرتبط با صفات اهمیت زیادی دارد. برای این منظور برای جمعیت مورد استفاده تعداد K از یک تا ۱۰ در نظر گرفته شد و برای محاسبه تعداد زیر جمعیت (K) از روش (Evanno et al. 2005) استفاده شد. مقدار MCMC، ۱۰۰۰۰ در نظر گرفته شد. شکل ۲ نمودار دو طرفه برای تعیین بهینه K را نشان می‌دهد در این شکل مقدار K و ΔK از نتایج مربوط به شبیه‌سازی در نرم‌افزار STRUCTURE استخراج شد. مقدار بهینه K نقطه اوج منحنی است که با توجه به نمودار، بهترین K در این مطالعه ۲ است. در واقع تجزیه ساختار نشان داد که تعداد خوشه‌های که پارامتر ΔK را به حداکثر می‌رساند برابر ۲ می‌باشد. انتساب افراد به زیر جمعیت نیز مطابق روش (Spataro et al. 2011) انجام شد. برای هر فرد در هر گروه درصد عضویت محاسبه شد. مطابق این روش یک ژنوتیپ هنگامی می‌تواند به انتساب یک گروه درآید که درصد عضویت آن ۰/۷ یا بیشتر از آن باشد و در صورتی‌که درصد عضویت کمتر از ۰/۶۹ با شد به‌عنوان ژنوتیپ مخلوط در نظر گرفته می‌شود. در بررسی حاضر پس از تعیین تعداد K، ماتریس دودمان افراد یا ماتریس Q براساس آن تشکیل شد. و برای انجام تجزیه ارتباط وارد نرم‌افزار TASSEL 4.1.32 (Bradbury et al. 2007) شد. تجزیه ارتباط با نرم‌افزار TASSEL با استفاده از ۳ مدل (جدول۳) انجام گرفت. این نرم‌افزار امکان انجام تمام آزمون‌های مرتبط با مدل‌های و

رویه‌های مانند GLM[1] و MLM[2] را فراهم می‌کند. رویه GLM رویه‌ای است که بدون دخالت ساختار جمعیت، ارتباط بین نشانگر و صفات اندازه‌گیری شده را به ما می‌دهد نمی‌تواند خیلی مورد اعتماد باشد و کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. اخیرا بیشتر از رویه MLM برای درک بهتر ارتباط بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود چون در پیدا کردن ارتباط، هم ماتریس‌های ساختار جمعیت و هم خویشاوندی بین افراد دخالت می‌دهد و اثرات ناشی از این عوامل را کم می‌کند و ارتباطات معنی‌دار شناسایی شده بین نشانگر و صفت از اطمینان و اعتبار بیشتری برخوردارند (Agrama et al. 2007).

جدول۳- ٤ مدل آماری استفاده شده برای انجام تجزیه ارتباط نشانگرهای ریزماهواره و صفات فنوتیپی

مجموعه داده‌های مورد استفاده	مدل
Phenotype + SSR	1.GLMa
Phenotype + SSR + Q[b]	2.GLM
Phenotype + SSR + K[d]	3.MLM[c]

a: مدل خطی عمومی

b:Q : داده های ساختار جمعیت یا اصل و نسب استنباط شده از افراد

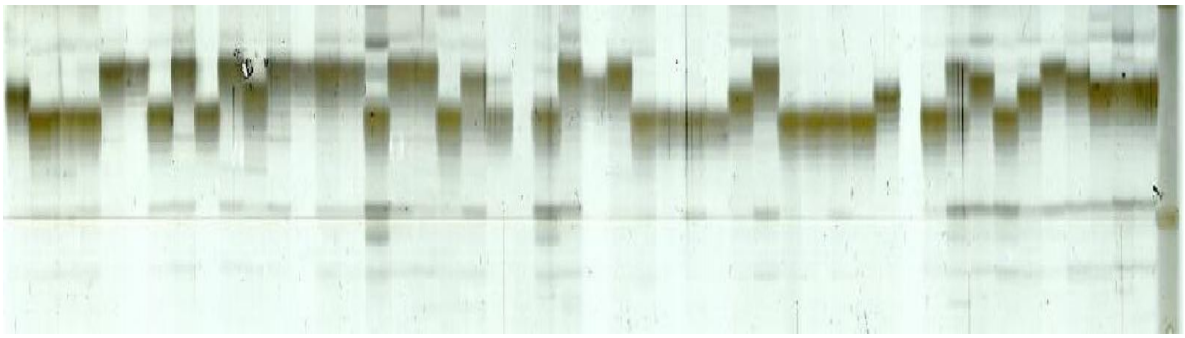
c: مدل خطی مخلوط

d: داده‌های خویشاوندی حاصل از تشابه کلی افراد از لحاظ زمینه ژنتیکی ناشی از خویشاوندی

نتایج و بحث

۵۹ ژنوتیپ مورد بررسی براساس ۳٦ نشانگر ریزماهواره SSR در مجموع ۱۸۹ آلل با میانگین ۵/۲۵ به ازای هر جایگاه نشانگری ایجاد نمود (جدول٤). نشانگر RM5647 که بر روی کرموزوم ۸ با ۱۲ آلل بیشترین تعداد آلل و نشانگرهای RM462 و RM6022 که به‌ترتیب بر روی کروموزم‌های ۱ و۱۲ با ۲ آلل کمترین تعداد آلل داشتند. Xia et al. (1996) با ۲۲ نشانگر ریزماهواره در هیبریدهای برنج، تعداد ۹۰ آلل با میانگین ۳/۹۱ بین ۱۰ والد مورد بررسی گزارش کردند. مقدار تنوع ژنی، برای جایگاه‌های ریزماهواره بین ۰/۳٦ تا ۰/۸۳ و به‌طور میانگین ۰/٦٤ بود. کم‌ترین مقدار تنوع ژنی برای نشانگر RM5761 با ۰/۳٦ و نشانگرهای RM5652 و RM5647 با ۰/۸۳ بیش‌ترین تنوع ژنیرا به خود اختصاص دادند محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) از ۰/۳۲ تا ۰/۸۱ متغیر بود و میانگین آن ۰/۵۸ برآورد شد. نشانگر RM5647 با ۰/۸۱ بیش‌ترین مقدار PIC و نشانگر RM6022 با ۰/۳۲ کمترین مقدار PIC دارا بودند. Faridul Islam et al.(2012) تنوع ژنتیکی ١٤ ژنوتیپ برنج را با استفاده از ٤٠ نشانگر ریز ماهواره مورد بررسی قرار دادند. ارزش PIC بین ۰/۲۱ تا ۰/۷٦ بود. نشانگر 512 RM (۰/۳۷) بیشترین مقدار شاخص نی و نشانگرهای RM5761 (۰/۱۱) کمترین مقدار شاخص نی را دارا بودند. نشانگر RM6022 (۰/٦۰) بیشترین مقدار شاخص شانون و نشانگر RM5761 (۰/۲۱) کمترین مقدار شاخص شانون را به خود اختصاص دادند. نشانگر RM474 با (۱/۷۹) و نشانگر RM3658 با (۱/۳) به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار تعداد آلل موثر را داشتند. Worede et al.(2013) ٢٤ واریته برنج توسط ۲۹ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها مقدار شاخص شانون بین ۰/٦۱ تا ۱/۸۳ برآورد کردند نشانگر RM162 کمترین (۰/٦۱) و نشانگر RM280 بیش‌ترین (۱/۸۳) مقدار شاخص شانون داشتند. هم‌چنین نشانگر RM162 کمترین (۱/٤۸) و نشانگر RM280 بیشترین (٥/٦٤) مقدار تعداد آلل موثر را به خود اختصاص دادند. از آنجایی که میانگین تعداد آلل هر نشانگر ریزماهواره، مناسب بودن آن مکان‌ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد (Roder et al. 1998) نشانگر RM5647 با دارا بودن بیش‌ترین میزان محتوای اطلاعات چندشکل و تنوع ژنی و تعداد آلل در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی در منطقه کرموزوم ۸ از ژنوم برنج شناسایی شد. Habib et al. (2013) با بررسی تنوع ژنتیکی ۸ رقم برنج پاکستان توسط پنج نشانگر ریز ماهواره RM107، RM72، RM27، RM2، RM154 در مجموع ۲۳ آلل برای همه نشانگرها SSR در سراسر ارقام با متوسط ٤/٦ ثبت شد. در مجموع ٤٠ باند ثبت شده چنده شکل بودند تعداد آلل هر مکان ژنی از ٤ (RM2) تا ٦ (RM127) متفاوت بود و میانگین محتوای اطلاعات چندشکل برای هر آغازگر مورد مطالعه از ۰/۲۲ (RM27) تا ۰/۸۲ (RM154) برآورد شد.

[1] General Linear Model
[2] Mixed Linear Model



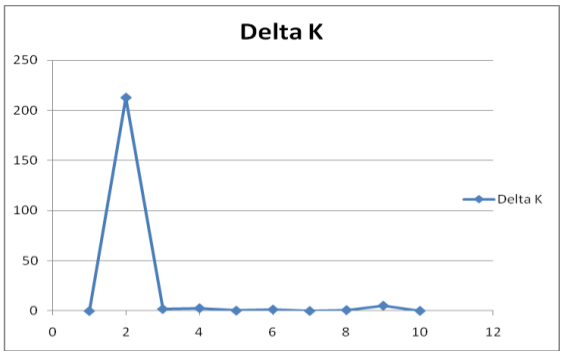
شکل ۱- تصویر فرآورده PCR تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر روی ژل پلی آکرمید ٦ درصد (آغازگرRM3148)

جدول ٤- تعداد آلل، تنوع ژنی، تعداد آلل موثر (NE)، شاخص نی(H)، شاخص شانون (I) و محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) برای هر آغازگر ریزماهواره

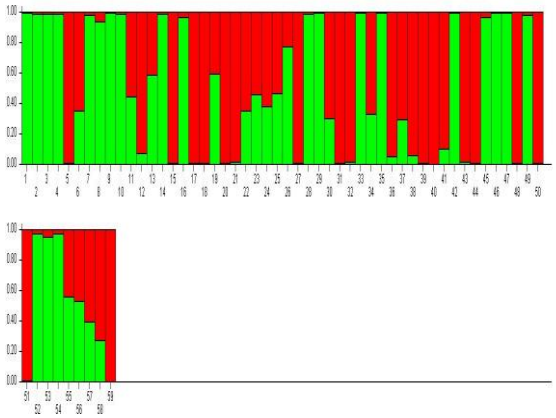
نشانگرها	کروموزوم	تعداد آلل	تنوع ژنی	فراوانی آلل بزرگ	NE	H	I	PIC
RM462	١	٢	٠/٤٩	٠/٥٢	١/٦٥	٠/٣٢	٠/٤٥	٠/٣٧
RM3148	١	٤	٠/٦٠	٠/٤٧	١/٥٣	٠/٢٩	٠/٤٤	٠/٥٢
RM6324	١	٥	٠/٦٨	٠/٤٦	١/٤١	٠/٢٦	٠/٤١	٠/٦٣
RM6230	٢	٥	٠/٦٧	٠/٤٠	١/٤٥	٠/٢٦	٠/٣٩	٠/٦٠
RM3294	٢	٤	٠/٦٥	٠/٣٩	١/٥٤	٠/٣١	٠/٤٦	٠/٥٨
RM5780	٢	٧	٠/٧٧	٠/٣٤	١/٣٢	٠/٢١	٠/٣٥	٠/٧٤
RM132	٣	٥	٠/٥٩	٠/٤٧	١/٤١	٠/٢٢	٠/٣٥	٠/٥١
RM523	٣	٥	٠/٦٤	٠/٤٢	١/٢٣	٠/٢٥	٠/٣٨	٠/٥٧
RM5761	٣	٦	٠/٣٦	٠/٧٨	١/١٥	٠/١١	٠/٢١	٠/٣٤
RM8213	٤	٣	٠/٥٠	٠/٥٧	١/٦٤	٠/٣٣	٠/٤٧	٠/٣٩
RM3658	٤	٧	٠/٧٠	٠/٤٧	١/٣	٠/١٩	٠/٣٢	٠/٦٧
RM5424	٤	٥	٠/٦٢	٠/٥٦	١/٣٨	٠/٢٤	٠/٣٩	٠/٥٨
RM3419	٥	٦	٠/٧٨	٠/٢٨	١/٣٧	٠/٢٥	٠/٤٢	٠/٧٥
RM7118	٥	٧	٠/٧٦	٠/٣٠	١/٣٣	٠/٢١	٠/٣٤	٠/٧٢
RM5140	٥	٤	٠/٤٠	٠/٧٤	١/٢٢	٠/١٦	٠/٢٨	٠/٣٥
RM7420	٦	٤	٠/٤٧	٠/٦٩	١/٣٥	٠/٢٣	٠/٣٧	٠/٤٢
RM6773	٦	٣	٠/٥١	٠/٥٠	١/٦٧	٠/٣٣	٠/٤٨	٠/٤٠
RM549	٦	٧	٠/٧٢	٠/٤٢	١/٣١	٠/١٩	٠/٢٨	٠/٦٨
RM427	٧	٦	٠/٧٤	٠/٤١	١/٣٤	٠/٢٢	٠/٣٧	٠/٧٠
RM5711	٧	٥	٠/٥٥	٠/٦٣	١/٤١	٠/٢٤	٠/٣٧	٠/٥١
RM3583	٧	٦	٠/٦٣	٠/٤٨	١/٤٢	٠/٢٤	٠/٣٨	٠/٥٦
RM8005	٨	٤	٠/٦٠	٠/٥١	١/٥٣	٠/٣٣	٠/٤٥	٠/٥٣
RM38	٨	٦	٠/٦٦	٠/٥٠	١/٣٥	٠/٢١	٠/٤٢	٠/٦٢
RM5647	٨	١٢	٠/٨٣	٠/٢٣	١/١٨	٠/١٣	٠/٢٤	٠/٨١
RM8206	٩	٥	٠/٧٢	٠/٣٥	١/٤٦	٠/٢٨	٠/٤٣	٠/٦٧
RM7038	٩	٥	٠/٧٣	٠/٣٥	١/٤٧	٠/٢٩	٠/٤٤	٠/٦٨
RM5652	٩	٨	٠/٨٣	٠/٢٥	١/٢٧	٠/١٩	٠/٣٤	٠/٨١
RM474	١٠	٦	٠/٦٧	٠/٤٥	١/٧٩	٠/٢٦	٠/٤١	٠/٦٢
RM6179	١٠	٦	٠/٦٩	٠/٣٨	١/٦٤	٠/٢٧	٠/٤٣	٠/٦٤
RM7545	١٠	٣	٠/٤٧	٠/٦٤	١/٥٣	٠/٣	٠/٤٥	٠/٣٨
RM441	١١	٥	٠/٦٤	٠/٥٢	١/٥١	٠/٣١	٠/٤٠	٠/٦٠
RM3625	١١	٥	٠/٧٢	٠/٣٨	١/٤٦	٠/٢٨	٠/٤٤	٠/٦٧
RM7091	١١	٥	٠/٧٨	٠/٢٥	١/٤٣	٠/٢٦	٠/٤١	٠/٧٥
RM512	١٢	٦	٠/٧٢	٠/٣٥	١/٣٨	٠/٣٧	٠/٣٨	٠/٦٧
RM6022	١٢	٢	٠/٤١	٠/٧٠	١/٧١	٠/٤١	٠/٦٠	٠/٣٢
RM519	١٢	٥	٠/٦٥	٠/٥٢	١/٤١	٠/٢٥	٠/٤٠	٠/٦٠

محتوای اطلاعات چندشکل بالا، تنوع زیاد و فراوانی آلل‌ها را در بین ارقام نشان می‌دهد. در واقع هر چه میزان اطلاعات چندشکل بالاتر باشد، تعداد آلل‌ها در هر مکان ژنی نیز بیشتر می‌شود (Yang et al. 1994).

تجزیه ساختار جمعیت با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE، امکان شکستن کل جمعیت به زیر جمعیت‌های با ساختارهای متفاوت متحمل را فراهم می‌سازد. زیر جمعیت‌های تشکیل شده از لحاظ ژنتیکی متمایز از هم می‌باشند و چنانچه ژنوتیپ‌های به صورت اختلاط یافته باشند، پس از انجام این تجزیه قابل تشخیص خواهند بود (Dadras 2012). برطبق نتایج نرم‌افزار STRUCTURE، K و ΔK که به‌ترتیب تعداد زیر گروه‌ها و میزان تغییرات آن‌ها با توجه به شبیه‌سازی‌های انجام شده در نرم‌افزار می‌باشد، استخراج و نمودار دو بعدی آن رسم شد. شکل ۲ نمودار دو طرفه برای تعیین بهینه K را نشان می‌دهد که با توجه به نمودار بهترین K در این مطالعه که در واقع نقطه اوج منحنی است، ۲ می‌باشد. در واقع تجزیه ساختار نشان داد که تعداد خوشه‌هایی که پارامتر ΔK را به حداکثر خود می‌رساند برابر ۲ می‌باشد. جدول ۵ درصد عضویت ۵۹ ژنوتیپ برنج را نشان می‌دهد. براین اساس ۲۳ ژنوتیپ شامل IRFAON-308, IR55419–04, IR70360–38–1-B-1, IR77298-5-6 IR60080-Sangjo, USEN, IR7471-199-1-302, IR63372-15, 48, IR63377-08, AUS196, CT6510–24–1-2, IR57924-24, IR66424–1-2–1-5, CT6516–24–3-2, CT13377–4-2-M, CT13382–8-3-M, IRAT177, IRAT212, IR 55411-50, IR IRAT216, LINE226, LINE 835 منتسب به گروه ۱ شدند و تعداد ۲۳ ژنوتیپ شامل IR67015-49-2-6 47686-12-5-B-1, Panda, Way Rarem, IR66417–18–1-1–1, IR 53236-342, Caiapo, IR68702–072–1-4-B, IR3441-97, IR60080-42, , IR55423- , Anbarbo ilam, CT6510–24–1-2, IR69626B, 01, B6144F-MR-6–0-0 CT6510–24–1-2, IR65261–09–1-B, WAB638–1, IR60080-46A, Pegaso, LINE 213, IRGC-15092RT-1031-62, IR70358–84–1-1, CT6510-24-7-8, به عضویت گروه ۲ در آمدند. ژنوتیپ‌های IR66421–062–1-1–2, IR65907–116–1- Palawan, IRAT170, IR30, IR62752-07, IR62761-20, NONABOKA, IR63371-38, IR63380-08, DAGADDESHI, SAMBA MAHSURI, UPLRi-7 هم جزوه ژنوتیپ‌های مخلوط بودند. بدین معنی که چون درصد عضویت کمتر از ۰/۶۹ داشتند بنابراین نتوانستند به هیچ‌کدام از گروه‌ها منتسب گردند. بار پلات مستخرج از STRUCTURE در شکل ۳ آورده شده‌است.



شکل۲- نمودار دوطرفه برای تعیین تعداد بهینه K



شکل۳- بار پلات ساختار جمعیت مستخرج از نرم‌افزار STRUCTURE و ۳۶ نشانگر SSR که در ۲ بخش رنگی تقسیم شده‌است. نام ژنوتیپ با شماره آن‌ها در جدول ۱ آورده شده‌است.

تجزیه ارتباط با استفاده از نرم‌افزار TASSEL اجرا شد، که در آن از ماتریس Q مستخرج از نرم‌افزار STRUCTURE استفاده شد و اگر اثر ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در تجزیه ارتباط در نظر گرفته نشود نتایج مثبت کاذب به وجود خواهد آمد (Breseghello and Sorells 2006) در این بررسی از ۳ مدل آماری برای تجزیه ارتباط استفاده شد که در جدول ۳ نشان داده شده‌است. در شرایط نرمال برای ۲۱ صفت مورد بررسی در سطح احتمال پنج درصد ٥٤ و در شرایط نرمال برای ۲۱ صفت مورد بررسی و ۸ شاخص تحمل به تنش ۸۸ نشانگر معنی‌دار شدند (جدول‌های ٦، ۷).

جدول۵- درصد عضویت ژنوتیپ‌ها براساس نتایج مستخرج از نرم‌افزارSTRUCTURE.

درصد عضویت گروه ۲	درصد عضویت گروه ۱	ژنوتیپ	شماره	درصد عضویت گروه ۲	درصد عضویت گروه ۱	ژنوتیپ	شماره
۰/۰۱۲	۰/۹۸۸	IR63372-15	۳۱	۰/۹۹٤	۰/۰۰٦	IR67015-49-2-6	۱
۰/۰۱٦	۰/۹۸٤	IR63377-08	۳۲	۰/۹۹۲	۰/۰۰۸	IR 47686-12-5-B-1	۲
۰/۹۹۵	۰/۰۰۵	IR55423-01	۳۳	۰/۹۹۱	۰/۰۰۹	Panda	۳
۰/۳۳۳	۰/٦٦۷	IR63380-08	۳٤	۰/۹۹	۰/۰۱	Way Rarem	٤
۰/۹۹٤	۰/۰۰٦	B6144F-MR-6–0-0	۳۵	۰/۰۱۱	۰/۹۸۹	IRFAON-308	۵
۰/۰۵٤	۰/۹٦٤	CT6510–24–1-2	۳٦	۰/۳۵	۰/٦۵	IR66421–062–1-1–2	٦
۰/۲۹٦	۰/۷۰٤	AUS196	۳۷	۰/۹۸۵	۰/۰۱۵	IR66417–18–1-1–1	۷
۰/۰٦	۰/۹٤۰	IR57924-24	۳۸	۰/۹٤۱	۰/۰۵۹	IR 53236-342	۸
۰/۰۱۱	۰/۹۸۹	IR66424–1-2–1-5	۳۹	۰/۹۹۳	۰/۰۰۷	Caiapo	۹
۰/۰۰۷	۰/۹۹۳	CT6516–24–3-2	٤۰	۰/۹۹۰	۰/۰۱	IR68702–072–1-4-B	۱۰
۰/۱۰۱	۰/۸۹۹	CT13377–4-2-M	٤۱	۰/٤٤٤	۰/۵۵٦	IR65907–116–1-B	۱۱
۰/۹۹٦	۰/۰۰٤	IR65261–09–1-B	٤۲	۰/۰۷٦	۰/۹۲٤	IR55419–04	۱۲
۰/۰۱۷	۰/۹۸۳	CT13382–8-3-M	٤۳	۰/۵۸۹	۰/٤۱۱	Palawan	۱۳
۰/۰۱۱	۰/۹۸۹	IRAT177	٤٤	۰/۹۹	۰/۰۱	IR3441-97	۱٤
۰/۹۷	۰/۰۳	WAB638–1	٤۵	۰/۰۰۸	۰/۹۹۲	IR70360–38–1-B-1	۱۵
۰/۹۹۳	۰/۰۰۷	IR60080-46A	٤٦	۰/۹۷	۰/۰۳	IR60080-42	۱٦
۰/۹۹۳	۰/۰۰۷	Pegaso	٤۷	۰/۰۱۱	۰/۹۸۹	IR77298-5-6	۱۷
۰/۰۱۳	۰/۹۸۷	IRAT212	٤۸	۰/۰۱۱	۰/۹۸۹	IR60080-48	۱۸
۰/۹۸	۰/۰۲	LINE 213	٤۹	۰/۵۹۵	۰/٤۰۵	IRAT170	۱۹
۰/۰۱۳	۰/۹۸۷	IR 55411-50	۵۰	۰/۰۰۹	۰/۹۹۱	سنگ جو	۲۰
۰/۰۱٤	۰/۹۸٦	IRAT216	۵۱	۰/۰۱۹	۰/۹۸۱	USEN	۲۱
۰/۹۷۳	۰/۰۲۷	IRGC-15092RT-1031-62	۵۲	۰/۳٤۵	۰/٦٤٦	IR30	۲۲
۰/۹۵٦	۰/۰٤٤	IR70358–84–1-1	۵۳	۰/٤٦٤	۰/۵۳٦	IR62752-07	۲۳
۰/۹۷۳	۰/۰۲۷	CT6510-24-7-8	۵٤	۰/۳۸۳	۰/٦۱۷	IR62761-20	۲٤
۰/۵٦٤	۰/٤۳٦	DAGADDESHI	۵۵	۰/٤٦۵	۰/۵۳۵	NONABOKA	۲۵
۰/۵۳۱	۰/٤٦۹	SAMBA MAHSURI	۵٦	۰/۷۷٤	۰/۲۲٦	CT6510–24–1-2	۲٦
۰/۳۹۳	۰/٦۰۷	UPLRi-7	۵۷	۰/۰۰۹	۰/۹۹۱	IR7471-199-1-302	۲۷
۰/۲۷۳	۰/۷۲۷	LINE226	۵۸	۰/۹۹۲	۰/۰۰۸	IR69626B	۲۸
۰/۰۰۳	۰/۹۹۷	LINE 835	۵۹	۰/۹۹٤	۰/۰۰٦	عنبر بوی ایلام	۲۹
				۰/۳۰۲	۰/٦۹۸	IR63371-38	۳۰

مدل MLM توانست در شرایط نرمال ۱۱ نشانگر و در شرایط تنش خشکی ۲۲ نشانگر معنی‌دار را مرتبط با ۲۱ صفت مورد بررسی و ۸ شاخص تنش در سطح احتمال پنج درصد شناسایی نماید، بدیهی است در مدل GLM تعداد زیادی از این نشانگرها در شرایط نرمال و تنش خشکی (به‌ترتیب ٤۸ و ۸۵) در سطح احتمال پنج درصد شناسایی شدند (جدول۷).

در شرایط نرمال بالاترین ضریب تبیین مربوط به نشانگر RM5780 با توجه به تغییرات ۲۹/۹۲ درصد از تغییرات وزن دانه‌های پر خوشه با مدل MLM در سطح پنج درصد اختصاص داشت، همچنین نشانگر RM5780 (۲۷/۷٤ و ۲٦/۲۷) به‌ترتیب درصد از تغییرات صفات تعداد روز تا خوشدهی و تعداد روز تا رسیدگی با مدل GLM در سطح پنج درصد را به خود اختصاص داد. در شرایط تنش خشکی بالاترین ضریب تبین به نشانگر RM519 با توجه به تغییرات ۳۹/٦۹ درصد از تغییرات وزن کل بوته با مدل MLM در سطح پنج درصد اختصاص داشت، همچنین نشانگر RM519 (۳٤/۲۵ و ۲٦/۲۲) به‌ترتیب درصد از تغییرات وزن کاه بوته و وزن خوشه بوته با مدل MLM در سطح پنج درصد را به خود اختصاص داد. در جدول ۸ برای نشانگرهای معنی‌دار سطح احتمال معنی‌داری به‌همراه ضریب تبین نشانگر آورده شده‌است. در شرایط نرمال نشانگر RM3658 مرتبط با سه صفت تعداد دانه پوک، تعداد خوشه‌چه و شاخص برداشت و هم‌چنین در شرایط تنش خشکی نشانگر RM5761 مرتبط با دو

صفت تعداد دانه کل در خوشه و طول برگ پرچم شناسایی شد. باید خاطر نشان نمود شناسایی نشانگرهای مرتبط با چندین صفت مهم می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی بسیار کاربردی باشد. شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش همزمان چند صفت را امکان پذیر می‌سازد. (Tuberosa et al. 2002). در پژوهش حاضر نشانگر RM38 برای صفت تعداد دانه کل خوشه، نشانگر RM5711 برای صفت درصد باروری، نشانگر RM441 برای صفت تعداد دانه پوک، نشانگر RM5780 برای صفت وزن دانه پر در خوشه، نشانگر RM512 برای صفت عملکرد در هکتار برای تمامی مدل‌ها در شرایط نرمال معنی‌دار به‌دست آمد و هم‌چنین نشانگر RM8213 برای صفت طول خروج از غلاف، نشانگرهای RM6230 وRM3294 برای صفت طول برگ پرچم، نشانگرهای RM6230، RM5761 و RM5140 برای تعداد دانه در کل خوشه، نشانگر RM519 برای صفات وزن کاه، وزن خوشه در یک بوته و وزن کل بوته برای تمامی مدل‌ها در شرایط خشکی معنی‌دار به‌دست آمد.

مدل MLM در سطح پنج درصد برای هشت شاخص تحمل مورد بررسی، ٦ نشانگر معنی‌دار را شناسایی نمود. بالاترین درصد توجیه تغییرات فنوتیپی به نشانگر RM441 با ٢٦/١١ درصد توجیه تغییرات TOL اختصاص داشت. نشانگر RM512 به بیش از یک شاخص مرتبط بودند که با توجه به وجود همبستگی بین شاخص‌ها، این نتیجه دور از انتظار نبود.

تاکنون پژوهش‌هایی در ارتباط با مکان‌یابی صفات کمی با استفاده از تجزیه ارتباط در برنج صورت گرفته است. مطالعه‌ای Zhao et al. (2008) به‌منظور تجزیه ارتباط محتوای آمینواسید در ٨٤ توده برنج کره‌ای با استفاده از ٢٥ نشانگر ریزماهواره انجام شد. آن‌ها در مجموع ١٥ نشانگر را که بیش از ٤٠ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه کرد به‌عنوان نشانگرهای با پتانسیل بالا و مرتبط با صفات پیچیده برای برنامه‌های اصلاحی بعدی معرفی نمودند. در مطالعه‌ای بر روی ٥٥ ژنوتیپ جو، تجزیه ارتباط نشان داد در کل تعداد ١٣١ آلل ریزماهواره، ٤٣ نشانگر SAMPL و ١٦٦ نشانگر AFLP حداقل با یکی از ١٤ صفت زراعی ارتباط معنی‌داری دارند. از بین این تعداد، با در نظر گرفتن هر دو مدل GLM و MLM در بررسی آن‌ها، تعداد ٥١ نشانگر به‌عنوان نشانگرهای مثبت و آگاهی‌بخش شناسایی شدند. آن‌ها اظهار داشتند، این نشانگرهای معنی‌دار پس از تایید و اعتبارسنجی می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند (Roy et al. 2010). در بررسی که به‌منظور شناسایی جایگاه صفات کمی و تجزیه ارتباط در ١٥٥ ذرت اینبرد با SNP١٥٣٦ انجام شد، نشان دادند که استفاده از مدل MLM ١/١٥، ١/١٥ و١/٦٦ درصد SNPها ارتباط معنی‌داری با تمامی محتوای توکوفرول در دانه ذرت، ارتفاع گیاه و طول دانه در سطح یک درصد داشتند. هم‌چنین این تحقیق نشان داد که برای تمامی صفات استفاده از مدل مبتنی بر K و مدل مبتنی بر Q به تنهایی عملکرد مناسبی ندارد، اما استفاده از مدل مبتنی بر K و Q به‌طور مشترک در مدل MLM نتایج بهتر و مؤثرتری را دربر دارد (Yang et al. 2010) Dadras et al. (2014) به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط ٥٠ رقم توتون با مدل‌های MLM و GLM از ٢١ نشانگر AFLP استفاده کردند. در پژوهش آن‌ها از ٤٨٠ قطعه DNA، ٣٧٣ باند چند شکل با متوسط ١٧/٧٦ برای هر باند تولید شد. بیش‌ترین میزان نشانگر در مدل GLM G+P یافت شد.

نتیجه‌گیری کلی

تجزیه ارتباط بر اساس مدل MLM و GLM در مجموع ١٦٦ نشانگر معنی‌دار مرتبط با ٢٩ متغیر مورد بررسی در تحقیق حاضر را شناسایی نمود که بسیاری از این نشانگرها در بین چند مدل مشترک بودند. این نتایج نشان‌دهنده این است که با اعتماد بیشتری می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد. برخی نشانگرها RM5780, RM519, RM3658, RM5761 با چندین صفت مرتبط بودند که می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرند در واقع این نشانگرها می‌توانند پس از تایید و اعتبار سنجی در برنامه‌های اصلاحی بسیار مفید واقع شوند.

جدول۷- نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات مختلف در شرایط تنش خشکی با ۳ مدل آماری

نشانگرهای معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد

صفات	نشانگرها	مدل ۱		نشانگرها	مدل۲		نشانگرها	مدل۳	
		سطح احتمال	R^2		سطح احتمال	R^2		سطح احتمال	R^2
طول خوشه	RM5761	۰/۰۳۷۶۳	۰/۲۱۹۴۵						
	RM8213	۰/۰۴۸۲۲	۰/۱۳۲۶۳						
تعداد خوشه چه	RM3658	۰/۰۱۱۱۲	۰/۰۲۶۴۲						
تعداد دانه پوک									
طول خروج خوشه از غلاف	RM8213	۰/۰۰۵۴۴	۰/۲۰۳۹۴	RM8213	۰/۰۲۵۸۸	۰/۱۳۹۳۵	RM8213	۰/۰۲۹۱۱	۰/۱۶۷۲۱
	RM549	۰/۰۱۷۰۹	۰/۲۷۳۳	RM549	۰/۰۴۹۸۶	۰/۲۰۹۷۴			
طول برگ پرچم	RM6230	۰/۰۱۸۴	۰/۲۲۰۹۴	RM6230	۰/۰۱۹۷۱	۰/۲۱۸۹۷	RM6230	۰/۰۳۰۷۳	۰/۲۳۱۸۵
	RM3294	۰/۰۲۴	۰/۱۵۶۴۲	RM3294	۰/۰۳۰۴۹	۰/۱۴۸۷۱	RM3294	۰/۰۴۴۲۴	۰/۱۴۸۷۷
				RM5761	۰/۰۱۲۴۱	۰/۲۶۰۷۷	RM5761	۰/۰۳۵۳	۰/۲۵۵۷
				RM7420	۰/۰۱۷۸	۰/۱۶۶۶۵			
عرض برگ پرچم									
تعداد داته کل خوشه	RM6230	۰/۰۱۱۶۴	۰/۲۳۶۸۵	RM462	۰/۰۱۰۳۴	۰/۱۵۳	RM6230	۰/۰۲۷۹۸	۰/۲۳۶۸۵
	RM5761	۰/۰۰۶۱۵	۰/۲۸۴۲۶	RM6230	۰/۰۱۳۳۱	۰/۲۳۵۷۸	RM5761	۰/۰۲۱۴۴	۰/۲۸۴۲۶
	RM5140	۰/۰۱۷۷۹	۰/۱۶۶۳۲	RM5761	۰/۰۰۶۴	۰/۲۸۷۱۲	RM5140	۰/۰۲۹۳۷	۰/۱۶۶۳۲
				RM5140	۰/۰۱۷۰۱	۰/۱۷۰۴			
ارتفاع بوته									
تعداد خوشه بوته	RM523	۰/۰۱۲۸۲	۰/۲۳۳۵۲	RM523	۰/۰۲۷۰۱	۰/۲۰۳۵۴			
	RM7420	۰/۰۰۳۸۹	۰/۲۱۴۱۸	RM3658	۰/۰۳۱۶۴	۰/۲۲۲۲۲			
	RM8005	۰/۰۳۲۳۹	۰/۱۷۴۱۳	RM7420	۰/۰۰۹۹۲	۰/۱۸۱۹۴			
				RM8005	۰/۰۳۳۴۸	۰/۱۷۰۱۷			
وزن کاه بوته	RM7118	۰/۰۴۷۶۸.	۰/۲۳۳۵۱	RM7118	۰/۰۴۲۰۶	۰/۲۴۲۴۴	RM519	۰/۰۰۳۹۱	۰/۳۴۲۵۱
	RM519	۰/۰۳۲۸۵	۰/۳۴۰۴۷	RM519	۰/۰۳۳۵۴۸	۰/۳۴۱	RM6179	۰/۰۳۰۳۸	۰/۲۳۲۴۶
وزن خوشه بوته	RM6179	۰/۰۰۶۵۸	۰/۲۵۵۹۲	RM6179	۰/۰۱۴۰۸	۰/۲۲۶۸۱	RM519	۰/۰۱۷۳۶	۰/۲۶۲۲۲
	RM519	۰/۰۰۵۵۷	۰/۲۶۱۳۶	RM519	۰/۰۰۷۱۳	۰/۲۴۸۳۸			
وزن کل بوته	RM519	۴/۶۶	۰/۳۹۶۱۵	RM441	۰/۰۲۴۹۵	۰/۱۸۵۰۴	RM519	۰/۰۰۱۴۶	۰/۳۹۶۹۶
				RM519	۳,۳۴	۰/۴۰۶۶۱			

مساحت برگ پرچم									
درصد باروری	RM519	۰/۰۴۰۴۵	۰/۱۹۲۰۹						
تعداد دانه پر در خوشه	RM5761	۰/۰۳۴۲۶	۰/۲۲۳۰۸	RM462	۰/۰۱۴۷۸	۰/۱۴۱۷۷			
				RM5761	۰/۰۳۵۳	۰/۲۲۵۱۱			
وزن دانه های پر خوشه	RM3294	۰/۰۳۱۶۵	۰/۱۴۷۱	RM5780	۰/۰۴۲۲	۰/۲۳۷۰۲			
	RM5780	۰/۰۲۴۸	۰/۲۵۹۳۸	RM5761	۰/۰۳۶۵۸	۰/۲۱۹۱۹			
	RM5761	۰/۰۳۷۲۵	۰/۲۱۹۸۴						
عملکرد در هکتار	RM3294	۰/۰۴۴۰۶	۰/۱۳۵۷۶	RM5761	۰/۰۲۴۲۸	۰/۲۳۴۳۴			
	RM5761	۰/۰۱۹۷۶	۰/۲۴۳۷۱	RM8005	۰/۰۴۴۳	۰/۱۶۱۸۱			
	RM8005	۰/۰۲۳۹۲	۰/۱۸۵۰۳	RM7545	۰/۰۳۷۲۸	۰/۱۴۰۵۲			
	RM7545	۰/۰۲۴۰۳	۰/۱۵۶۳۷						
تعداد روز تا خوشه دهی	RM6324	۰/۰۲۹۴۶	۰/۲۰۳۹۴	RM7545	۰/۰۰۴۹۷	۰/۱۷۹۶۶	RM3294	۰/۰۴۵۱۱	۰/۱۴۷۸۷
	RM3294	۰/۰۰۲۸۵	۰/۲۲۳۶۴	RM512	۰/۰۳۵۳۱	۰/۱۷۱۴۴	RM7545	۰/۰۱۹۲۱	۰/۱۸۵۶۷
	RM5780	۰/۰۱۷۰۱	۰/۲۷۳۴۸						
	RM132	۰/۰۲۷۵۵	۰/۲۰۶۴۱						
	RM6773	۰/۰۰۴۲۱	۰/۲۱۱۸						
	RM549	۰/۰۱۹۷۱	۰/۲۶۸۰۳						
	RM5711	۰/۰۳۶۷۳	۰/۱۶۹۷۹						
تعداد روز تا رسیدگی	RM6324	۰/۰۲۳۱۹	۰/۲۱۲۶۶	RM7545	۰/۰۲۲۳۵	۰/۱۳۷۷۶			
	RM3294	۰/۰۰۵۸۸	۰/۲۰۱۵۵						
	RM5780	۰/۰۳۳۰۶	۰/۲۴۸۲۳						
	RM132	۰/۰۱۵۱۱۷	۰/۲۲۷۷۱						
	RM6773	۰/۰۱۵۳۹	۰/۱۷۱۰۸						
	RM5711	۰/۰۲۳۳۲۶	۰/۱۸۶						
	RM6179	۰/۰۳۴۴۵	۰/۱۹۸۱۴	RM3148	۰/۰۴۰۸۴	۰/۱۶۶۴۴	RM5140	۰/۰۴۶۴۷	۰/۱۴۶۱۷
مدت زمان رسیدگی	RM3148	۰/۰۲۷۶۳	۰/۱۷۹۹۶	RM5780	۰/۰۱۹۴۸	۰/۲۶۹۱۱			
	RM5140	۰/۰۱۶۲۶	۰/۱۶۹۲۵	RM5140	۰/۰۰۴۷۱	۰/۲۰۸۸۹			
	RM3625	۰/۰۴۰۵۸	۰/۱۹۱۹۶	RM7420	۰/۰۳۵۹۳	۰/۱۴۳۲۲			
				RM8206	۰/۰۴۹۵۷	۰/۱۵۹۳۱			
				RM3625	۰/۰۳۶۵۸	۰/۱۹۶۱۶			
شاخص برداشت	RM132	۰/۰۱۷۱۱	۰/۲۲۳۵۱	RM462	۰/۰۲۱۸۱	۰/۱۲۵۲۷	RM462	۰/۰۰۶۳۴	۰/۱۹۱۲۷
	RM5761	۰/۰۴۲۷۷	۰/۲۱۴۲	RM132	۰/۰۳۸۰۵	۰/۱۹۰۶۵	RM7118	۰/۰۲۷۷۵	۰/۳۰۱۰۸

	RM7118	۰/۰۱۶۲	۰/۲۷۵۲۸	RM5761	۰/۰۳۲٤٦	۰/۲۲۰۷۸			
STI	RM5761	۰/۰۳۳٤۹	۰/۲۳۳۹٦	RM5761	۰/۰۳۵۳۹	۰/۲۲۲۰۹			
MP	RM5780	۰/۰٤۹٦۳	۰/۲۳۱۸٦	RM5780	۰/۰٤۷۳۵	۰/۲۳۵۳۹	RM512	۰/۰٤۸٦	۰/۲۰۷٤۹
	RM512	۰/۰۲۵۹۳	۰/۲۰۸٦۲	RM512	۰/۰۲۸۷۳	۰/۲۰۷۲۳			
SSI	RM3294	۰/۰٤۷۳۸	۰/۱۳۳۲٤	RM5761	۰/۰۲٤۳۸	۰/۲۳٤۰۵			
	RM5761	۰/۰۱۹۸۷	۰/۲٤۳۲۵	RM8005	۰/۰٤٤۳۷	۰/۱٦۱۳٦			
	RM8005	۰/۰۲۳۸۸	۰/۱۸۵۰۸	RM7545	۰/۰۳۷۳۲	۰/۱٤۰٤			
	RM7545	۰/۰۲۳۹	۰/۱۵٦۵۵						
TOL	RM3658	۰/۰۲۳۷۰۹	۰/۲۲٤۷۷	RM3658	۰/۰۳٤۱۷	۰/۲۲۳۰۲	RM441	۰/۰۰۸۷۲	۰/۲٦۱۱۷
	RM5711	۰/۰۲۰۱۵	۰/۱۹۰۹۸	RM5711	۰/۰۲۵۵۳	۰/۱۸۲٦۲	RM3625	۰/۰٤۱۸۲	۰/۲۱۵٤۷
	RM8005	۰/۰۱۸٦۳	۰/۱۹۳٦۷	RM8005	۰/۰۳	۰/۱۷٦۹۳	RM512	۰/۰٤٤۳۷	۰/۲۱۲۳۳
	RM441	۰/۰۰۳۰۵	۰/۲۵۲۲٤	RM441	۰/۰۰۳۹۸	۰/۲٤۳٦٦			
	RM3625	۰/۰۲٦٤۹	۰/۲۰۷۸٤	RM3625	۰/۰۳۹۷۲	۰/۱۹۲٦٦			
	RM512	۰/۰۲۲۱۹	۰/۲۱۵۲۵	RM512	۰/۰۲۵٦۳	۰/۲۰۸۸۸			
GMP	RM5761	۰/۰۲۰۱	۰/۲٤۳۰۹	RM5761	۰/۰۲۲٤۳	۰/۲۳۹٤۹			
	RM512	۰/۰٤۳۸۸	۰/۱۸۸۹۸						
HM	RM5761	۰/۰۱۵٤۲	۰/۲۵۲٦٦	RM5761	۰/۰۱۸	۰/۲٤٤۲۵	RM3658	۰/۰٤۵۱٦	۰/۲٤۱٦
	RM7545	۰/۰۳۲۲۵	۰/۱٤٦٤۷	RM7545	۰/۰٤۹۳۲	۰/۱۳۰٤۲	RM8005	۰/۰۱٦۷۹	۰/۲۲۸۷۵
YSI	RM3658	۰/۰۲۰۳۷	۰/۲٤۱۹۷	RM3658	۰/۰۲۱٤۳	۰/۲۳۸۵۱			
	RM5711	۰/۰۳۱٤۲	۰/۱۷۵٤	RM5711	۰/۰٤۲٤۷	۰/۱٦۳۰۷			
	RM8005	۰/۰۰۲۳۳	۰/۲٦۰۳۹	RM8005	۰/۰۰٤۹	۰/۲۳۵۲٤			
	RM7545	۰/۰۱۳۵٤	۰/۱۷۵۲	RM7545	۰/۰۲۳۵۲	۰/۱۵۵٦۹			
	RM441	۰/۰۳۲۵۳	۰/۱۷٤۱٦	RM441	۰/۰٤٦۱٦	۰/۱٦۰۰٤			
	RM3625	۰/۰۲۸۷۳	۰/۲۰٤۸۷	RM3625	۰/۰۳٦۳۸	۰/۱۹۳۸۷			
STS	RM3294	۰/۰۳۰٤٤	۰/۱٤۸٤۳	RM5761	۰/۰۲٦۲۹	۰/۲۳۱۱			
	RM5761	۰/۰۲۱۵۸	۰/۲٤۰۵	RM8005	۰/۰٤۰۷۱	۰/۱٦٤٤			
	RM8005	۰/۰۲۱۲٦	۰/۱۸۹۱۲	RM7545	۰/۰۳٦۳۹	۰/۱٤۱۱٦			
	RM7545	۰/۰۲۲۷۵	۰/۱۵۸۱۹						

شاخص تحمل (TOL) میانگین بهره‌وری (MP) شاخص حساسیت به تنش (SSI) شاخص تحمل به تنش (STI) میانگین هندسی (GMP) شاخص پایداری عملکرد (YSI) شاخص عملکرد (STS)

منابع

Agrama HA, Eizenga GC, Yan W (2007). Association mapping of yield and its components in rice cultivars. Molecular Breeding 19:341-356.

Bouslama MS, Schapaugh WT (1984) Stress Tolerance in soybeans. I. evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. Crop Science 24:933.

Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdess Y, Buckler ES (2007) TASSEL: Software for association mapping of complex traits in divers samples. Bioinformatics Applications Note 2633-2635.

Breseghello F, Sorrells ME (2006). Association analysis as a stategy for improvement of quantitative traits in plants. Crop Science 46:1323-1330.

Dadras AR (2012). Evaluation of genetic diversity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) cultivars using AFLP molecular markers. Iran, Shahib Bahonar University of Kerman. M. Sc. Thesis.

Dadras AR, Sabouri H, Mohammadi-Nejad G, Sabouri A, Shoai-Deylami M (2014) Association analysis, genetic diversity and structure analysis of tobacco based on AFLP markers. Molecular Biology Reports 41:3317-3329

Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Mattick JS (1991) Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. Journal Nucleic Acid Research 19:4008-4009

Evanno G, Reganut E, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology 14:2611-2620.

Faridul Islam AS Raihan Ali M, Gregorio M, Rafiqual Islam GBM (2012) Genetic diversity analysis of stress tolerant rice (*Orayza sativa*) African Journal of Biotechnology. 11:15123-15129

Fernandez GC (1992) Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. Proceeding of the International Symposium on Adaptation of Vegetable and other Food Crops to Temperature and Water Stress. Taiwan, 13-18 August. 257-270 pp.

Fischer RA, Maurer R (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agricultural Research 29:897-912.

Gavuzzi P, Rizza F, Palumbo M, Campanile RG, Ricciardi GL, Borghi B (1997) Evaluation of field andlaboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. Canadian Journal of Plant Science 77:523-531.

Giri CC, Laxmi GV (2000) Production of transgenic rice with agronomically useful genes: an assessment. Biotechnology Advances 18:653-683.

Gomze C, Alvarez M, Mosquera T (2011) Association mapping, a method to detect quantitative trait loci: statistical bases. Agronomia Colombiana 29:367-376.

Gorantla M, Babu PR, Lachagari VB, Reddy AM, Wusirika R, Bennetzen JL, et al. (2007). Identification of stress-responsive genes in an indica rice (*Oryza sativa* L.) using ESTs generated from drought-stressed seedlings. Journal of Experimental Botany 58:253-265

Gorantla M, Babu PR, Lachagari VB, Reddy AMM, Wusirika R, Bennetzen JL, Reddy AR (2007) Identification of stress-responsive genes in an indica rice (*Oryza sativa* L.) using ESTs generated from droughtstressed seedlings. Journal of Experimental Botany 58:253-265.

Habib M, Bhat KA, Bhat MA, Parray GA, Dar ZA, Zaffar G, Sabina A (2013).Genetic diversity of important rice cultivars of Kashmir valley using microsatellite markers. African Journal of Biotechnology 12:658-664

Heydari R, Sabouri A, Sabouri H, Fallahi HA, Dadras AR (2014) Identification of AFLP markers related to tolerance to flooding strees in barly. Journal of Agricultural Biotechnology 6:41-60. (In Farsi)

Hormaza JI, Dollo L, Polito VS (1994). Determination of relatedness and geographical movement of *Pistacia vera* (pistachio; Anacardiaceae) germplasm by RAPD analysis. Journal Economical Botany 48:349-358.

Liu J (2004) Power Marker V3.25 Manual. http://www.power marker.net

Mohammadi SA (2008) New methods of genetic analysis of quantitative traits in plants. Proceedings of the Tenth Congress of Agronomy and Plant Breeding, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj. 183-201. (In Farsi)

Moose SP, Mumm RH (2008) Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. Plant Physiol 147:969-977.

Ndjiondjop MN, Cisse F, Futakuchi K, Lorieux M, Manneh B, Bocco R and Fatondji B (2010) Effect of drought on rice (*Oryza spp.*) genotypes according to their drought tolerance level. Innovation and Partnerships to Realize Africa's Rice Potential, Second Africa Rice Congress, Bamako, Mali, 22-26 March 2010.

Pritchard JK, Stephens M, Rosenberg NA Donnelly P (2000) Association mapping in structured populations. The American Society of Human Genetics. 67:170-181

Roder MS, Korzum V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier MH, Leroy P, Ganal MW (1998). Amicrosatellite map of wheat. Journal Genetics 149:2007-2023

Rosielle AA, Hambelen J (1981) Theorical aspect of selection for yield in stress and nonstress environment. Crop Science 21:943-946.

Roy JK, Bandopadhyay R, Rustgi S, Balyan SH, Gupta PK (2006) Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. Current Science. 5:683-689.

Roy JK, Smith KP, Muehlbaure GJ, Chao S, Close TJ, Steffensone J (2010) Association mapping of spot blotch resistance in wild barly. Molecular Breeding 26: 243 256.

Shannon CE, Weaver W (1963) The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, Ill

Spataro G, Tiranti B, Arcaleni P, Bellucci E, Attene G, Papa R, Spagnoletti Zeuli P, Negri V (2011). Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. Theoretical and Applied Genetics. 122:1281-1291

Todaka D, Nakashima K, Maruyama K, Kidokoro S, Osakabe Y, Ito Y, et al. (2012). Rice phytochrome-interacting factor-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a

morphological response to drought stress. Proceedings of the National Academy of Sciences: U.S.A. 109.

Tuberosa R, Gill BS Quarrie SA (2002) Cereal genomics: Ushering in a brave new world. Plant Molecular Biology 48:445-449.

Tuyen DD, Prasad DT 2008. Evaluating difference of yield treat among rice genotypes (*Oryza sativa* L.) under low moisture condition using candidate gene markers. Omonrice 16:24-33.

Worede F, Tanee S, Chalermpo P, Prapa S (2013) Genetic diversity analysis of rice cultivars from various origins using simple sequence repeat (SSR) markers. African Journal of Biotechnology 12:4074-4081.

Xia J, Li Yuan L, McCouch SR, Tanksley SD (1996) Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterrosis in rice as revealed by PCR-based markers. Theoretical and Applied Genetics 92:637-643.

Yang GP, Saghai-Maroof MA, Xu CG, Qifa Zhang, Biyashhev RM (1994). Compartative Analysis of microsatellite DNA Polymorphism in landreaces and cultivars of rice. Journal Molecular Genet 245:187-194.

Yang X, Yan J, Shah T, Warburton ML, Li Q, Li L, Gao Y, Chai Y, Fu Z, Zhou Y, Xu S, Bai G, Meng Y, Zheng Y, Li J (2010). Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. Theoretical and Applied Genetics 121:417-431.

Yao CK, Lin YQ, Ly CV, Ohyama, T, Haueter, CM, Moiseenkova-Bell VY, Wensel TG, Bellen HJ (2009). A synaptic vesicle-associated Ca2+ channel promotes endocytosis and couples exocytosis to endocytosis. Cell 138:947-960.

Yeh FC, Yang RC, Boyle TJB, Ye ZH, Mao JX (1997) POPGENE, The user-friendly shareware for population genetic analysis. Edmonton, Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.

Zhao J, Paulo MJ, Jamar D, Lou P, Eeuwijk FV, Bonnema G, Vreugdenhill Koornneef (2007) Association mapping of leaf traits, flowering time, and phytate content in *Brassica rapa*. Gnome 50:963-973.

Zhao W, Park EJ, Chung JW, Park YJ, Chung IM, Ahn JK, Kim GH (2008) Association analysis of the aminoacid contents in rice. Journal of Integrative Plant Biology 51:1126-1137.