



به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۱ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۲
صفحه‌های ۱۶۱-۱۷۴

ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

امید سفالیان*^۱، رامین سلمانی صمدی^۲، علی اصغری^۱، مجید شکرپور^۲، محمد صدقی^۱، بهنام فیروزی^۴ و فاطمه احمدپور^۳

۱. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. استادیار گروه باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. کارشناس ارشد اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۴. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۹۲/۷/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۷

چکیده

گندم (*Triticumaestivum* L.) محصول غذایی اصلی بیش از یک‌سوم جمعیت دنیا و نیز غذای عمده مردم آسیا به‌شمار می‌رود. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از کل خشکی‌های دنیا تحت‌تأثیر تنش شوری قرار دارند. شوری به‌علت کاهش درخور توجه میانگین عملکرد محصولات مهم زراعی، مشکل اصلی تولید غذا محسوب می‌شود. این مطالعه به‌منظور ارزیابی واکنش ۲۴ رقم و ژنوتیپ گندم به تنش شوری با NaCl در مراحل اولیه رشد و همچنین بررسی ارتباط بین صفات مورفوفیزیولوژیک اندازه‌گیری‌شده و نشانگرهای مولکولی انجام گرفت. ژنوتیپ‌ها در محلول غذایی هیدروپونیک و تحت شرایط شاهد و تنش شوری (۴۵ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) کشت شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین ژنوتیپ‌ها (در سطح احتمال یک‌درصد) و همچنین همه صفات اندازه‌گیری‌شده در سطوح مختلف تنش شوری اختلاف معنادار وجود دارد. در این پژوهش از بین ۲۰ پرایمر RAPD و ۳۴ پرایمر ISSR، در نهایت ۱۵ پرایمر ISSR و شش پرایمر RAPD به‌علت تولید نوارهای چندشکل برای بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه رگرسیون استفاده شدند. تجزیه کلاستر براساس ضریب شباهت جاکارد انجام و براساس نمودار حاصل از آن، ژنوتیپ‌های استفاده‌شده در چهار گروه قرار گرفتند. میانگین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها ۰/۴۸۶ بود که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه بین ژنوتیپ‌های استفاده‌شده بود. به‌منظور ارزیابی ارتباط بین صفات اندازه‌گیری‌شده و نشانگرهای مولکولی، تجزیه رگرسیون انجام و روابط معنادار ملاحظه شد.

کلیدواژه‌ها: تجزیه رگرسیون، تنش شوری، تنوع ژنتیکی، نشانگر ISSR، نشانگر RAPD

مقدمه

گندم یکی از محصولات مهم غذایی جهان است که ۱۷ درصد محصول جهانی، نزدیک به نیمی از تغذیه مردم جهان و ۲۰ درصد پروتئین و کالری غذای انسان را شامل می‌شود (۹). در اراضی شور، اگرچه عملیات زراعی برای رفع مشکل شوری ضروری است، ولی به سبب شورشیدن مجدد تدریجی خاک، اقدام برای اصلاح گیاهان زراعی در جهت ایجاد مراتب مقاومت یا تحمل به شوری در راستای بالا بردن عملکرد ضروری به نظر می‌رسد (۲۸). جهت رسیدن به عملکرد مطلوب در شرایط تنش شوری، به گیاهی با مقاومت مناسب نیاز است. از سوی دیگر، با توجه به تنوع گونه‌های گیاهی که هر کدام صفات وراثتی و مکانیزم‌های ویژه حفظ و تداوم بقا را دارند، به نظر می‌رسد که می‌توان اقدام به شناسایی، اصلاح و گزینش گونه‌های مقاوم به شوری کرد (۲).

علت خسارت شوری، افزایش یون‌ها و یا کمبود آب است (۱۷). همچنین کمبود آب مورد نیاز برای توسعه بافت‌ها را مسئول کاهش رشد آن‌ها می‌داند. کاهش رشد، بیشتر ناشی از افزایش میزان جذب یون‌ها و بالا رفتن محتوای یونی و همچنین قندها تحت شرایط شور است. در واقع با افزایش Na^+ در محیط، سرعت جذب K^+ به داخل سلول‌های در حال طویل شدن بسیار کاهش می‌یابد. محدود شدن محتوای یونی در بافت‌های در حال توسعه سبب محدود شدن جذب آب و کاهش توسعه سلول می‌شود. کمبود آب به واسطه محتوای یونی، محدود کننده رشد است. پژوهشگران در مطالعه اثر یون‌های مختلف بر رشد دو ژنوتیپ گندم اظهار داشتند که اثرات سمی ناشی از تجمع یون Na^+ است (۱۱).

بررسی تنوع ژنتیکی گندم، متخصصان اصلاح نباتات را در شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی مهم این گیاه یاری می‌کند و مطالعه الگوپذیری

تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی و اقلیمی ژنوتیپ‌ها نشان‌دهنده سازگاری‌های احتمالی آن‌ها با محیط‌های متفاوت است (۲۲). قبل از شناسایی و معرفی روش‌های نوین کار با نشانگرهای مولکولی در ارزیابی روابط بین ژنوتیپ‌ها در یک گونه ویژه، اغلب صفات مورفولوژیک نقش عمده را ایفا کردند. گزارش‌های مختلف مبنی بر ارتباط توأم صفات مورفولوژی و مولکولی با استفاده از روش‌های آماری ارائه شده است (۱۳ و ۱۸).

مهم‌ترین مزایای نشانگرهای مولکولی بر نشانگرهای فنوتیپی، پیوستگی مستقیم نشانگرها با ژن‌های کنترل‌کننده صفات بررسی شده، محدود نبودن در تعداد، تحت تأثیر محیط نبودن نشانگرها، شناسایی آن‌ها در هر مرحله از رشد گیاه و تعیین تنوع ژنتیکی بدون متأثر شدن از فنوتیپ است (۱۵). به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما، ۳۰ نمونه از گندم‌های نان و دوروم با استفاده از ۱۱ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی نشانگر RAPD تجزیه و تحلیل شد (۵)، به طوری که، تمامی آغازگرها مناطقی از ژنوم گندم‌های مختلف را تکثیر کردند که در مجموع ۱۰۵ مکان ژنی تکثیر و ۹۵۳ نوار تولید شد. این آغازگرها توانستند، تفاوت ژنتیکی موجود در نمونه‌های استفاده شده را نشان دهند و در تجزیه کلاستر، نمونه‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. در پژوهشی دیگر، با استفاده از نشانگر RAPD، ۲۰ لاین گندم هگزاپلوئید در چهار گروه طبقه‌بندی و پیشنهاد شد که نشانگرهای RAPD برای دسته‌بندی لاین‌های گندم و شناسایی والدین برای تولید هیبریدهای برتر مفید است (۱۲). برای گزینش تحمل به شوری در برنج از نشانگر ISSR و جمعیت F_3 تولیدی با روش بالک تک‌بذر استفاده شد (۱۰). این جمعیت از تلاقی بین رقم ایندیکا متحمل شوری (CSR10) و برنج با سماتی حساس به شوری (HBC19) به وجود آمده است. همه ۱۳۰ گیاه F_3 برای تحمل شوری با درجات ۱ - ۹ براساس معیارهای رشد

ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

درخور توجهی در استفاده از تنوع زیستی گیاهان فراهم می‌کنند. علاوه بر این، در صورتی که ژرم پلاسِم یک گونه از لحاظ صفات کمی مهم برای شرایط خاص (مانند تحمل تنش) با استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزیابی شود، داده‌های حاصل از نشانگر ابزار ارزشمندی برای پیش‌بینی ارزش ژرم پلاسِم‌های دیگر و نیز شناسایی ماده ژنتیکی مطلوب حتی در شرایط آزمایشگاهی خواهد بود. بنابراین، این مطالعه ارزش ژرم پلاسِم گیاهی را به‌منزله ذخایر ژن‌های مفید یا به‌منزله منابع اطلاعات درباره صفات فنوتیپی مشخص می‌کند (۲۷).

از آنجایی که شناسایی و کاربرد ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در برنامه‌های به‌نژادی آینده اهمیت بسزایی دارد، لذا مطالعه حاضر به بررسی و مقایسه واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم، از لحاظ تحمل به شوری و همچنین بررسی وجود تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی به‌منظور شناسایی و انتخاب والدین مناسب متحمل و حساس به شوری جهت ایجاد جمعیت‌های جدید می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، تعداد ۲۴ ژنوتیپ و رقم گندم به‌صورت کشت هیدروپونیک ارزیابی شدند (جدول ۱).

به‌صورت تک‌به‌تک ارزیابی شدند. میانگین رتبه‌ها از ۱/۷ تا ۸/۳ متغیر بود. ویرک و همکاران (۲۷) رابطه بین صفات تاریخ گلدهی و تعداد پنجه را با نشانگرهای RAPD و ایزوزایم در ۴۷ نمونه برنج مطالعه کردند (۲۷). رگرسیون چندگانه با استفاده از ۶۳ نشانگر RAPD و ۳۹ آلوزیم به‌منزله متغیر مستقل و تاریخ گلدهی به‌منزله متغیر وابسته نشان داد که ۲۹ نشانگر RAPD حدود ۹۹ درصد تغییرات را توجیه کردند. در مورد تعداد پنجه، هفت نشانگر RAPD و شش آلوزیم توانستند ۹۰ درصد تغییرات این صفت را تبیین کنند. به عقیده این پژوهشگران، در صورتی که پیوستگی ژنتیکی علت اصلی رابطه بین نشانگرهای مولکولی و مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی باشد، مشخص می‌شود که پیوستگی بین آلل‌ها در QTL‌ها و در مکان‌های ژنی نشانگرها هنگام تغییرپذیری ژرم پلاسِم برنج در جنوب و جنوب غربی آسیا محافظت شده است. همچنین در صورت وجود پیوستگی ژنتیکی، یک مزیت رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات کمی، گزینش کارآی والدین به‌منظور ایجاد جوامع استفاده شده در مکان‌یابی QTL‌های یک صفت معین است. از طرف دیگر، بدون توجه به دلایل وجود این روابط، کاربرد نشانگرهای مولکولی (که کم و بیش توزیع تصادفی در ژنوم را دارند) به همراه تجزیه رگرسیون چندگانه، کمک

جدول ۱. اسامی و تیپ رشدی ژنوتیپ‌های گندم استفاده شده

شماره	نام ژنوتیپ	تیپ رشدی	شماره	نام ژنوتیپ	تیپ رشدی	شماره	نام ژنوتیپ	تیپ رشدی
۱	Fawwon3	بینابین	۹	بزوستایا	پاییزه	۱۷	Fawwon 37	بینابین
۲	کوهدشت	بهاره	۱۰	شیرودی	بهاره	۱۸	Fawwon 57	بینابین
۳	پیشگام	بینابین	۱۱	گاسپارد	پاییزه	۱۹	Fawwon 5	بینابین
۴	تجن	بهاره	۱۲	پیشناز	بهاره	۲۰	Fawwon 4	بینابین
۵	N 8019	بهاره	۱۳	گاسکوژن	پاییزه	۲۱	MV 17	پاییزه
۶	دریا	بهاره	۱۴	آذر ۲	بینابین	۲۲	فینکان	پاییزه
۷	سبلان	پاییزه	۱۵	سایسونز	پاییزه	۲۳	آگوستا سفید	پاییزه
۸	آتیا ۵۰	بهاره	۱۶	Fawwon 36	بینابین	۲۴	سرداری	پاییزه

به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۱ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۲

مختلف شوری، دو هفته پس از رشد در آغاز مرحله سه‌برگی، با استفاده از کلرید سدیم خالص NaCl در دو سطح (۴۵ و ۹۰ میلی‌مولار) همراه با یک تیمار شاهد اعمال شد. گیاهچه‌ها دو هفته بعد از اعمال تنش شوری برداشت و صفات ذیل اندازه‌گیری شد:

طول ریشه، پس از جداکردن ریشه‌ها از گیاهچه، با استفاده از خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. حجم ریشه، از طریق غوطه‌ور ساختن ریشه در آب مقطر در درون یک استوانه مدرج با حجم ۱۰ سی‌سی اندازه‌گیری شد؛ به طوری که اختلاف حجم اولیه آب و حجم آب پس از غوطه‌ور ساختن ریشه، تعیین‌کننده حجم ریشه است. مقدار سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم از نمونه‌های برگ‌گی محاسبه شد. به منظور بررسی اثر تنش شوری بر غلظت عناصر سدیم، پتاسیم و توزیع آن‌ها در برگ‌ها، دو هفته بعد از اعمال تنش شوری نمونه‌ها انتخاب و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد. بافت‌های خشک‌شده پس از پودر شدن داخل هاون چینی، جهت تهیه خاکستر در کوره با دمای ۵۵۰ درجه قرار داده شد. سپس بر روی هر نمونه ۱۰ سی‌سی اسید کلریدریک (HCl) دو نرمال اضافه شد و بعد از جوشاندن و مشاهده اولین حباب، محلول با استفاده از کاغذ صافی، صاف و در بالن ریخته شد. در نهایت حجم بالن به وسیله آب مقطر به ۱۰۰ سی‌سی رسانده شد. بعد از کالیبره کردن دستگاه فلیم فوتومتر یا نورسنج شعله‌ای با محلول‌های استاندارد در نهایت میزان سدیم و پتاسیم به دست آمد.

به منظور استخراج DNA، نمونه‌های برگ‌گی از بوته‌های منتخب در مرحله سه تا چهار برگ‌گی در گلخانه برداشت و پس از قراردادن در ورق آلومینیومی داخل ازت مایع به آزمایشگاه انتقال داده شدند. استخراج DNA به روش CTAB با کمی تغییرات انجام گرفت (۲۴). پس از

این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی (طول جغرافیایی ۳۸/۱۲ درجه شمالی، عرض جغرافیایی ۴۸/۱۷ شرقی و ارتفاع ۱۳۳۸ متر) طراحی شد. فاکتورهای این پژوهش شامل تیمارهای شاهد (آب آبیاری و بدون افزایش نمک با هدایت الکتریکی ۱/۳ دسی‌زیمنس بر متر) به همراه دو سطح تنش شوری (۴۵ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و ژنوتیپ‌های گندم استفاده شده در این پژوهش بودند. تنظیمات گلخانه شامل رطوبت نسبی ۴۰ درصد، دمای دوره روشنایی 3 ± 20 درجه سانتی‌گراد، دمای دوره تاریکی 3 ± 16 درجه سانتی‌گراد و طول روز و شب به ترتیب ۱۶ و ۸ ساعت بود. ابتدا بذور توسط هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شدند. به منظور جوانه زنی یکنواخت، بذور در ظروف پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب کشت شد و به منظور فراهم کردن شرایط مطلوب جوانه زنی از دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰ درصد استفاده شد. پس از جوانه زنی و تولید ریشه چه، گیاهچه‌ها داخل تیوب‌هایی که از قسمت زیرین توسط توری نگه داشته شده بودند، درون حفره‌هایی که به فاصله 5×5 سانتی‌متر از یکدیگر روی یونولیتی که به حالت شناور درون ظروف پلاستیکی به ابعاد $18 \times 27 \times 37$ سانتی‌متر بود، منتقل شدند. برای تغذیه گیاهچه‌ها در ابتدای رشد از محلول غذایی یک دوم (نصف مقادیر عناصر میکرو و ماکرو محلول غذایی) و پس از دوبرگی شدن از محلول کامل هوگلند (۸) استفاده شد. هر گلدان حاوی ۱۰ لیتر محلول غذایی بود و در فاصله زمانی مناسب محلول غذایی تعویض می‌شد. در طول انجام آزمایش، ظروف حاوی گیاهچه‌ها در شرایط مناسب جهت تهیه مطلوب و به کمک پمپ‌های آکواریومی دائم هوادهی می‌شدند. سطوح

ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

همهانگ اصلی براساس فاصله ژنتیکی نی (۱۹) انجام شد. به منظور برآورد و مقایسه کارایی نشانگرها، میزان اطلاعات چندشکلی یا PIC (۷)، شاخص نشانگر (MI) و شاخص شانون (I) (۲۰) با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه شد:

$$PIC = 1 - \sum p_i^2$$

$$MI = PIC \cdot np_i$$

$$I = -\sum p_i \ln p_i$$

در این رابطه‌ها، p_i و np_i به ترتیب فراوانی آلل i ام و تعداد نوارهای چندشکل هستند. ارتباط بین صفات اندازه‌گیری شده و نشانگرهای مولکولی ISSR و RAPD در هر سه سطح (شاهد و دو سطح تنش شوری) به صورت مجزا انجام شد. در این مرحله برای تمام صفات رگرسیون به روش گام‌به‌گام (Stepwise) انجام گرفت. تجزیه داده‌های مورفوفیزیولوژیک (تجزیه واریانس و رگرسیون نشانگرهای مولکولی و صفات مورفوفیزیولوژیک) با استفاده از نرم‌افزار SPSS16 و داده‌های مولکولی (تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های همهانگ اصلی، فاصله ژنتیکی نی) با استفاده از نرم‌افزارهای NTsyspc2.0 و POPGENE32 انجام گرفت.

استخراج نیز کمیّت و کیفیت DNA از طریق روش اسپکتروفوتومتری و ژل‌گذاری آزمون و تأیید شد. برای تکثیر قطعات DNA ژنومی از ۳۴ آغازگر ISSR و ۲۰ آغازگر RAPD، استفاده شد، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی بافر PCR، کلرومنیزیم، پرایمر، dNTP، آنزیم Taq و ۳۰ نانوگرم از DNA ژنومی از هر نمونه انجام شد (جدول ۲). چرخه‌های حرارتی واکنش PCR به صورت زیر بود: مرحله اول، واسرشته‌سازی اولیه به مدت پنج دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد؛ مرحله دوم، شامل ۴۰ چرخه (واسرشته‌سازی به مدت یک دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگرها به رشته‌های الگو به مدت یک دقیقه در دمای مناسب برای هر آغازگر، بسط رشته DNA توسط پلیمرز به مدت یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و مرحله سوم، بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. الگوهای نواری حاصل، به صورت صفر و یک (عدم وجود یا وجود نوار) امتیازدهی شدند. به منظور تعیین کارایی روش تجزیه خوشه‌ای، از ضریب همبستگی کوفنتیک استفاده شد. برای تشخیص دقیق‌تر روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها، تجزیه به مؤلفه‌های

جدول ۲. اجزای واکنش PCR برای آغازگرهای ISSR و RAPD

RAPD		ISSR		اجزای واکنش
مقدار استفاده شده (میکرولیتر)	غلظت نهایی	مقدار استفاده شده (میکرولیتر)	غلظت نهایی	
۲	۱X	۲	۱X	بافر PCR (۱۰X)
۰/۸	۲ میلی‌مولار	۰/۸	۲ میلی‌مولار	کلریدمنیزیم (۵۰ میلی‌مولار)
۰/۴	۰/۲ میلی‌مولار	۰/۲	۰/۱ میلی‌مولار	مخلوط چهار نوکلئوتید (۱۰ میلی‌مولار)
۰/۵۲۸	۰/۱۳۲ میکرومولار	۱/۶	۰/۴ میکرومولار	آغازگر (۵ میکرولیتر)
۰/۳	۱ واحد	۰/۲۶	۱/۳ واحد	آنزیم Taq (۵ واحد در میکرولیتر)
۲/۵	۳/۳۳ نانوگرم در میکرولیتر	۴		DNA (۲۰ نانوگرم در میکرولیتر)
۱۳/۴۷		۱۱/۱۴		آب مقطر دی‌یونیزه
۲۰		۲۰		حجم نهایی واکنش

به نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۱ ■ شماره ۲ ■ پاییز و زمستان ۱۳۹۲

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری‌شده در آزمایش هیدروپونیک نشان داد که تأثیر ژنوتیپ‌ها و سطوح تنش شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیک معنا دار بود (جدول ۳). با افزایش شوری از میزان طول ریشه، حجم ریشه، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم کاسته شد و مقدار سدیم افزایش یافت. در پژوهشی اثر شوری بر روی رشد گیاهچه‌های گندم بررسی و اعلام شد که شوری میزان Na^+ را در ریشه و ساقه افزایش می‌دهد (۶). درحالی‌که، محتوای K^+ با افزایش شوری کاهش می‌یابد.

از آغازگر ارزیابی شده ISSR، تعداد ۱۵ آغازگر با الگوی نواریبندی چند شکل برای بررسی‌های مولکولی ژنوتیپ‌های گندم استفاده شدند. این آغازگرها در مجموع ۸۶ نوار، با میانگین ۵/۷۳ نوار به‌ازای هر آغازگر تولید کردند که در این بین ۲۲ نوار، مونومورف و ۶۴ نوار،

چندشکل بودند (جدول ۴). الگوی نواریبندی آغازگر شماره ۲۷ در شکل (۱- الف) ارائه شده است. همچنین در نشانگرهای RAPD تعداد شش آغازگر از ۲۰ آغازگر ارزیابی‌شده با الگوی نواریبندی چندشکل و مناسب انتخاب و این آغازگرها در مجموع ۳۲ نوار چندشکل با میانگین ۵/۳۳ نوار به‌ازای هر آغازگر تولید کردند (جدول ۵). الگوی نواریبندی آغازگر شماره ۶ در شکل (۱- ب) ارائه شده است. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص نشانگر (MI)، شاخص شانون (I) در نشانگرهای ISSR و RAPD محاسبه شد. به‌طوری‌که میانگین آن‌ها برای آغازگرهای استفاده‌شده در تجزیه ISSR به‌ترتیب برابر با ۰/۳۳۵، ۱/۳۹ و ۰/۵۰۲ و در تجزیه RAPD ۰/۳۹۱، ۱/۲۰ و ۰/۵۷۲ و در مجموع دو نشانگر برابر با ۰/۳۶۳، ۱/۳۳ و ۰/۵۳۷ برآورد شد (جدول‌های ۴ و ۵)..

جدول ۳. تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های بررسی‌شده گندم در شرایط تنش شوری

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	حجم ریشه	سدیم	پتاسیم	نسبت پتاسیم به سدیم
تکرار	۲	۷/۰۷۳ ^{ns}	۰/۱۱۵ ^{ns}	۳۵/۷۴۰ ^{ns}	۸/۹۵۵ ^{ns}	۰/۴۴۶ ^{ns}
شوری	۲	۵۰۲۳/۹۱۳ ^{**}	۳/۵۰۹ ^{**}	۲۶۴۴۳۹۸/۵۱۶ ^{**}	۷۲۶۹۰۵/۶۶۱ ^{**}	۱۹۲۷۰/۹۷۳ ^{**}
ژنوتیپ	۲۳	۲۲۲/۶۳۱ ^{**}	۳/۶۶۱ ^{**}	۱۸۱۶۰/۰۸۰ ^{**}	۶۱۳۶۴/۷۵۷ ^{**}	۹۹/۷۰۷ ^{**}
شوری × ژنوتیپ	۴۶	۳۱/۵۴۱ ^{ns}	۰/۴۸۸ ^{ns}	۸۹۸۹/۶۸۴ ^{**}	۱۴۹۹۵/۸۴۶ ^{**}	۱۰۱/۰۶۳ ^{**}
اشتباه	۱۴۲	۲۸/۴۰۳	۰/۷۳۶	۶۲۸/۵۷۳	۱۰۹/۰۳۱	۲/۵۳۴
ضریب تغییرات(%)		۱۶/۲۷	۲۰/۷۶	۱۰/۱۶	۱/۵۳	۱۳/۹۹

^{ns}، ^{**} به‌ترتیب غیرمعنادار و معنادار در سطح احتمال یک‌درصد

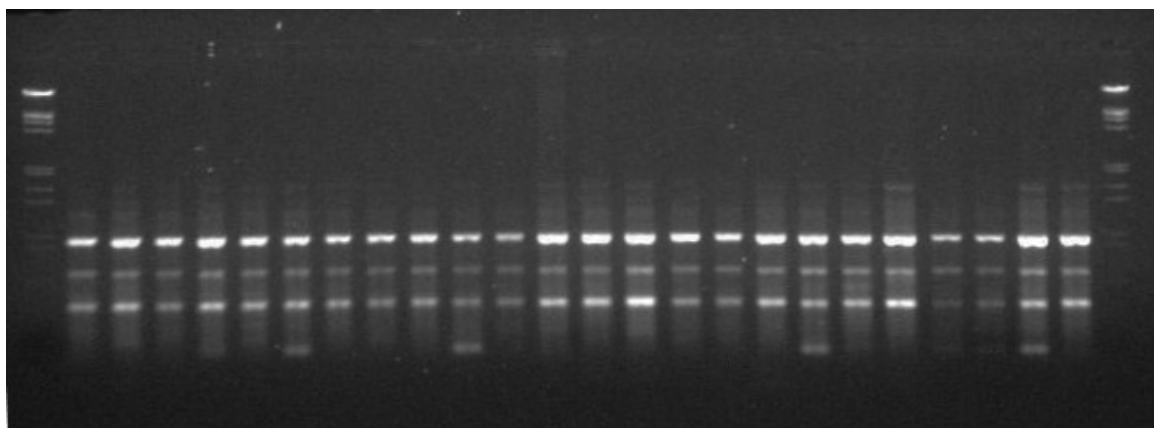
ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

جدول ۴: نشانگرهای ISSR چندشکل به کاررفته در ژنوتیپ‌های گندم مطالعه شده

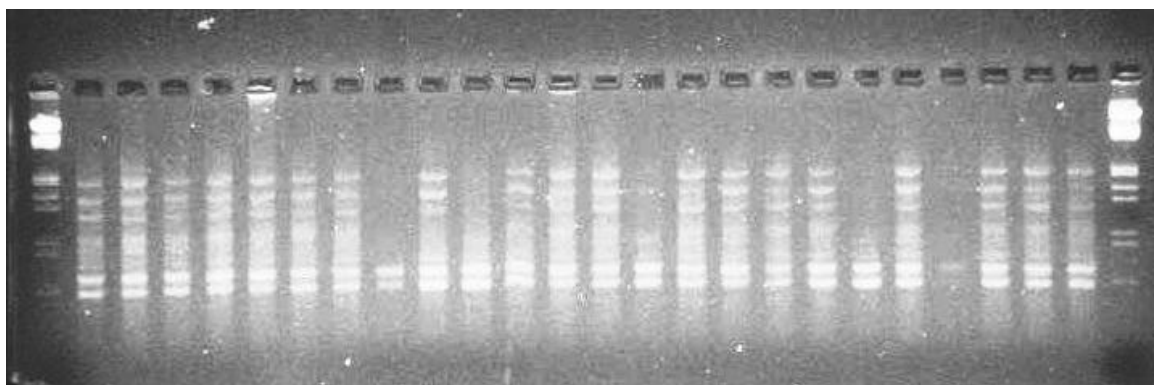
تعداد نوارهای چندشکل	تعداد نوارها	شاخص شانون	MI	PIC	شماره آغازگر	توالی آغازگرها
۵	۶	۰/۴۳۰	۱/۳۹	۰/۲۷۸	۱	5' AGAC AGACGC 3'
۷	۸	۰/۵۲۸	۲/۵۱	۰/۳۵۹	۲	5' GACAGACAGACA GACA 3'
۵	۷	۰/۵۱۲	۱/۷۰	۰/۳۳۹	۳	5' AGAGAGAGAGAGAGAGC 3'
۵	۵	۰/۴۳۶	۱/۳۹	۰/۲۷۸	۱۱	5' GTGGTGGTGGC 3'
۴	۵	۰/۳۰۰	۰/۷۲	۰/۱۸۱	۱۲	5' TTGTTGTTGTTGTTGC 3'
۳	۴	۰/۴۳۹	۰/۸۶	۰/۲۸۶	۱۳	5' ACACACACACACACACYG 3'
۶	۶	۰/۳۱۶	۱/۰۸	۰/۱۸۰	۱۵	5' ACGACGACGACGAAC 3'
۶	۷	۰/۵۲۴	۲/۱۱	۰/۳۵۱	۱۶	5' CACACACACACAAG 3'
۴	۶	۰/۵۶۹	۱/۵۶	۰/۳۹۱	۱۹	5' AGAGAGAGAGAGAGAGT 3'
۴	۵	۰/۶۴۷	۱/۸۲	۰/۴۵۵	۲۰	5' AATAATAATDG 3'
۳	۴	۰/۶۰۱	۱/۲۳	۰/۴۱۱	۲۱	5' ACTCACTCGC 3'
۴	۷	۰/۵۵۵	۱/۵۱	۰/۳۷۸	۲۷	5' CTTCCTTCACTTCA 3'
۳	۶	۰/۵۶۸	۱/۱۵	۰/۳۸۲	۲۸	5' GAGGAGGAGGC 3'
۳	۶	۰/۴۳۳	۰/۸۲	۰/۲۷۲	۳۰	5' GAGAGAGAGAGAGAGAC 3'
۲	۴	۰/۶۷۹	۰/۹۷	۰/۴۸۶	۳۴	5' CACACACACACACACAG 3'
۶۴	۸۶	۷/۵۳۵	۲۰/۸۲	۵/۰۲۶		تعداد کل
۴/۲۶	۵/۷۳	۰/۵۰۲	۱/۳۹	۰/۳۳۵		میانگین

جدول ۵: نشانگرهای RAPD چندشکل به کاررفته در ژنوتیپ‌های گندم مطالعه شده

تعداد نوارهای چندشکل	تعداد نوارها	شاخص شانون	MI	PIC	شماره آغازگرها	توالی آغازگرها
۶	۸	۰/۶۰۱	۲/۴۸	۰/۴۱۳	۶	5' CCT GGG CCT A 3'
۲	۷	۰/۳۴۲	۰/۴۱	۰/۲۰۵	۱۷	5' CCT GGG CCT C 3'
۲	۵	۰/۶۷۷	۰/۹۷	۰/۴۸۴	۲۳	5' CCC GCC TTC C 3'
۴	۵	۰/۶۲۳	۱/۷۳	۰/۴۳۲	۲۸	5' CCG G CC TTA A 3'
۲	۴	۰/۶۳۳	۰/۸۸	۰/۴۴۱	۳۴	5' CCG GCC CCA A 3'
۲	۳	۰/۵۵۶	۰/۷۵	۰/۳۷۳	۳۵	5' CCG GGG TTA A 3'
۱۸	۳۲	۳/۴۳۲	۷/۲۱	۲/۳۴۹		تعداد کل
۳	۵/۳۳	۰/۵۷۲	۱/۲۰	۰/۳۹۱		میانگین
۸۲	۱۱۸	۱۰/۹۶۷	۲۸/۰۳	۷/۳۷۶		تعداد کل دو نشانگر
۳/۹۰	۵/۶۲	۰/۵۳۷	۱/۳۳	۰/۳۶۳		میانگین دو نشانگر



(الف)



(ب)

شکل ۱. الگوی نواربندی آغازگر شماره ۲۷ ISSR (الف) و آغازگر شماره ۶ RAPD (ب) در ژنوتیپ‌های گندم مطالعه شده.

تمام نشانگرهای بررسی شده، برنج‌های مطالعه شده را به سه گروه تقسیم‌بندی کردند، مطالعات آن‌ها نشان داد که نشانگرهای AFLP و آیزوزایم‌ها بهتر می‌توانند تفاوت بین گروه‌های مختلف را مشخص کنند. کم‌بودن تغییرات توجیه‌شده توسط چهار مؤلفه اول، می‌تواند ناشی از پراکنش خوب نشانگرهای بررسی شده و نمونه‌برداری مناسب آن‌ها از کل ژنوم باشد (۳)

فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم مطالعه شده براساس فاصله ژنتیکی نی (۱۹) بر آورد شد. در نشانگر ISSR ژنوتیپ‌های آگوستا سفید و سرداری بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۷۶۶) و ژنوتیپ‌های شیروودی و گاسگوژن

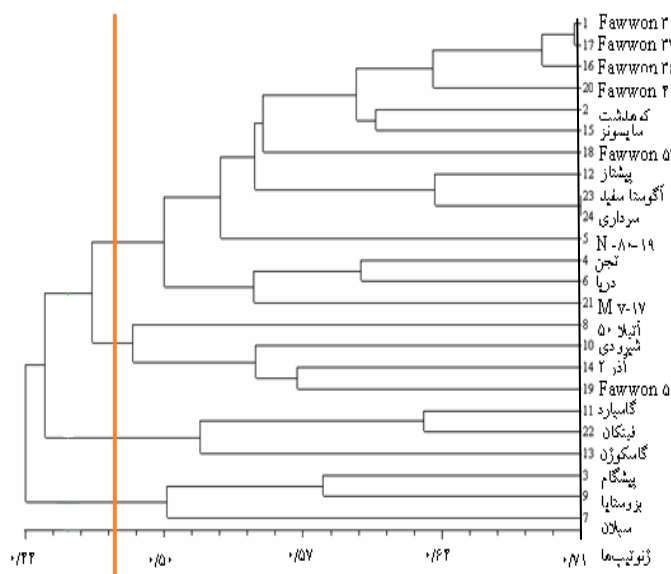
حداکثر مقدار PIC در جایگاه‌های دو آللی برابر با ۰/۵ است و فقط زمانی این اتفاق می‌افتد که فراوانی آلل‌ها در جمعیت مساوی باشد. به عبارت دیگر وقتی که یک قطعه نشانگر در نیمی از افراد تولید و در نیمی دیگر تولید نشود، مقدار PIC برابر ۰/۵ خواهد بود. (۱۴). شاخص نشانگر (MI) نیز علاوه بر پارامترهای مذکور، از تعداد مکان‌های ژنی چندشکل حاصل از آغازگرها در برآورد کارایی و قدرت تفکیک آغازگر استفاده می‌کند (۲۱). ویرک و همکاران (۲۷) توانایی چهار گروه از نشانگرهای مولکولی (آیزوزایم‌ها، RAPD، ISSR و AFLP) را جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین گونه‌های مختلف برنج مطالعه کردند.

ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

یافته و توده‌های بومی و ارقام وارداتی تنوع ژنتیکی بیشتری در مقایسه با ارقام اصلاح‌شده دارند (۲۶).

معیار PIC توان تمایز هر آغازگر را از طریق تعداد آلل‌ها در یک مکان ژنی و فراوانی نسبی آلل‌ها تعیین می‌کند (۱۶). به‌منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم براساس داده‌های ISSR و RAPD، تجزیه خوشه‌ای براساس روش UPGMA و ضریب تشابه ژاکارد انجام شد (شکل ۲). پس از به‌دست‌آوردن ماتریس شباهت و کوفتیک توسط نرم‌افزار NTSys، ضریب همبستگی بین این دو ماتریس محاسبه و با توجه به معناداربودن ضریب همبستگی کوفتیک (۰/۷) در سطح احتمال یک‌درصد، مناسب‌بودن روش تجزیه خوشه‌ای مشخص شد. در این تجزیه، ژنوتیپ‌های مطالعه‌شده به چهار گروه متمایز تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های پیشگام، بزوستایا و سبلان در گروه اول قرار گرفتند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های گاسپارد، فینکان و گاسکوژن بود. در گروه سوم ژنوتیپ‌های آتیلا ۵۰، شیرودی، آذر ۲ و ۵ Fawwon و بقیه در گروه چهارم قرار گرفتند.

کمترین فاصله ژنتیکی (۰/۲۶۳) را نسبت به یکدیگر نشان دادند. میانگین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها (۰/۵۰۲) به‌دست آمد. همچنین در نشانگر RAPD ژنوتیپ‌های آگوستا سفید و فینکان بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۸۸۹) و ژنوتیپ‌های آتیلا ۵۰ و گاسکوژن کمترین فاصله ژنتیکی (۰/۰۷۱) را نسبت به یکدیگر نشان دادند. میانگین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها (۰/۴۳۴) به‌دست آمد. در مجموع دو نشانگر ژنوتیپ‌های آگوستا سفید و سرداری بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۷۰۷) و ژنوتیپ‌های شیرودی و گاسکوژن کمترین فاصله ژنتیکی (۰/۲۶۰) را نسبت به یکدیگر نشان دادند. میانگین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها (۰/۴۸۶) به‌دست آمد، که نشان‌دهنده تنوع قابل ملاحظه‌ای بین ارقام گندم مطالعه‌شده بود. نشانگر RAPD را برای تعیین تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم به کار برده شد و نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های مطالعه‌شده پایین است (۱). در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم معمولی چین به کمک نشانگر AFLP در فاصله سال‌های ۱۹۹۰-۱۹۴۰ نشان داده شد که تنوع ژنتیکی در طول زمان کاهش

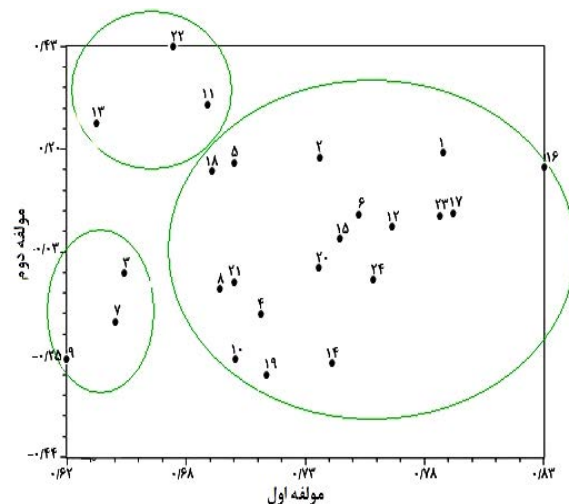


شکل ۲. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم براساس داده‌های مولکولی با استفاده از ضریب تشابه ژاکارد به روش UPGMA

(Stepwise) انجام شد. در مدل مورد نظر صفات بررسی شده به منزله متغیر تابع و داده‌های مولکولی (صفر و یک) به منزله متغیر ثابت وارد مدل رگرسیونی شدند. با توجه به صفات وارد شده به مدل، نوارهایی که مقدار R^2 بالایی داشتند بحث و بررسی شدند. مقادیر ضرایب تبیین تصحیح شده نشان داد که در سطح شاهد برای صفات طول ریشه و حجم ریشه، در تنش ۴۵ میلی مولار صفات طول ریشه، حجم ریشه، مقدار سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم و در تنش ۹۰ میلی مولار صفات طول ریشه، مقدار سدیم و نسبت پتاسیم به سدیم بیش از ۵۰ درصد تغییرات توسط نشانگرهای مثبت (دارای ارتباط معنادار با صفات اندازه گیری شده) شناسایی شده توجیه گردید. نشانگرهای ۱-

S_{11} ، S_{27-3} و S_{30-3} در سطح شاهد، S_{1-2} در تنش ۱ و ۲-
 S_3 ، S_{16-4} ، S_{20-4} و S_{21-3} در تنش ۲ ارتباط معنادار با صفات بررسی شده داشتند (جدول ۴). در تجزیه ارتباط برای ۵۵ ژنوتیپ گندم با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره، دو جفت آغازگر SAMPL و هشت جفت آغازگر AFLP در مجموع ۵۱۹ نشانگر چندشکل، تعداد ۱۳۱ آلل ریزماهواره، ۴۳ نشانگر SAMPL و ۱۶۶ نشانگر AFLP با ارتباط معنادار برای ۱۴ صفت زراعی شناسایی شد (۲۳). گزینش براساس نشانگرهای RAPD برای بهبود مقاومت به خشکی در سویای معمولی انجام شد (۲۵). با استفاده از تجزیه واریانس و رگرسیون چندگانه، پنج نشانگر شناسایی شد که به طور پیوسته و معناداری با عملکرد تحت شرایط تنش، غیرتنش و میانگین هندسی عملکرد در دامنه وسیعی از محیطها ارتباط داشتند. پنج نشانگر RAPD استفاده شده در گزینش به کمک نشانگر را جمعیت حاصل از تلاقی Sierra و RB Lef2 عملکرد را ۱۱ درصد در شرایط تنش و هشت درصد در شرایط بدون تنش بهبود بخشید

به منظور تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام و نیز گروه بندی آنها تجزیه به مؤلفه های هماهنگ اصلی^۱ نیز به منزله روشی مکمل برای تجزیه خوشه ای انجام گرفت. براساس داده های مولکولی چهار مؤلفه هماهنگ اصلی اول در مجموع حدود ۶۴/۵۵ درصد تغییرات مولکولی بین ژنوتیپها را توجیه کردند. مؤلفه اول ۵۱/۰۳ درصد از تنوع کل را تبیین کرد. مؤلفه های دوم، سوم و چهارم نیز به ترتیب ۴/۸۷، ۴/۴۵ و ۴/۱۹ درصد از تنوع کل را تبیین کردند. نمایش ژنوتیپها در یک نمودار دویبعی براساس دو مؤلفه اصلی اول، گروه بندی حاصل از تجزیه خوشه ای را تأیید کرد و توانست ژنوتیپها را به خوبی از هم تفکیک کند (شکل ۳).



شکل ۳. نمایش دویبعی ژنوتیپهای گندم براساس داده های مولکولی در دو مؤلفه هماهنگ اول و دوم

ارتباط نشانگرهای مولکولی ISSR و RAPD با صفات اندازه گیری شده در کشت هیدروپونیک برای هر صفت در هر سه سطح به صورت مجزا انجام شد (جدول ۶). در این مرحله برای تمام صفات رگرسیون به روش گام به گام

1. Principle Coordinate Analysis

ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

جدول 1. ضرایب رگرسیون و ضریب تبیین تصحیح شده در رگرسیون چندگانه بین صفات مورفولوژیک و مکان‌های ژنی ISSR و RAPD در سطوح مورد نظر

نشان ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم										نشان ۴۵ میلی مولار کلرید سدیم										
نسبت پاسم به سدیم	پاسم	سدیم	حجم ریشه	طول ریشه	نسبت پاسم به سدیم	پاسم	سدیم	حجم ریشه	طول ریشه	نسبت پاسم به سدیم	پاسم	سدیم	حجم ریشه	طول ریشه	نسبت پاسم به سدیم	پاسم	سدیم	حجم ریشه	طول ریشه	
۱/۴۷	۵۴۴/۶۹	۴۱/۰۳	۴/۵۲	۲۲/۳۰	۲/۹۵	۹۸۴/۳۶	۲۸/۳۶	۲/۶۲	۴۳/۹۳	۲۶/۰۰	۹۴۴/۵۰	۱۱/۵۴	۴۱/۷۴	عرض از میلا	۳۵/۳۶**	۳۲/۴۴**	۶۹/۹۷*	۱۲۱/۶۳**	۷۸/۲۹*	S ₁₂
۰/۳۶**					-۲۰/۷۳**	-۵۴/۱۹**	۱/۱۷**	۰/۳۶**						S ₁₃						S ₁₃
				۱/۰۳**			-۰/۲۱*							S ₂₁						S ₂₁
							-۰/۵۸**							S ₂₂						S ₂₂
														S ₂₃						S ₂₃
														S ₂₅						S ₂₅
														S ₂₆						S ₂₆
۰/۱۴*														S ₃₂						S ₃₂
۰/۴۹**														S ₁₁₋₁						S ₁₁₋₁
														S ₁₁₋₃						S ₁₁₋₃
-۰/۳۵**														S ₁₁₋₅						S ₁₁₋₅
														S ₁₃₋₁						S ₁₃₋₁
														S ₁₃₋₄						S ₁₃₋₄
														S ₁₅₋₅						S ₁₅₋₅
														S ₁₆₋₂						S ₁₆₋₂
														S ₁₆₋₄						S ₁₆₋₄
														S ₁₆₋₅						S ₁₆₋₅
														S ₁₆₋₆						S ₁₆₋₆

ns, *, ** به ترتیب غیر معنادار و معنادار در سطح احتمال پنج و یک درصد

S و R به ترتیب نشان دهنده نشانگرهای ISSR و RAPD و اعداد به ترتیب شماره آغازگر و شماره نشانگر است.

امید سفالیان و همکاران

ادامه جدول 1. ضرایب رگرسیون و ضریب تبیین تصحیح شده در رگرسیون چندگانه بین صفات مورفولوژیک و مکان‌های ژنی ISSR و RAPD در سطوح مورد نظر

تنش ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم		تنش ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم		شاهد	
نسبت پتاسیم به سدیم	نسبت پتاسیم به سدیم	نسبت پتاسیم به سدیم	نسبت پتاسیم به سدیم	نسبت پتاسیم به سدیم	نسبت پتاسیم به سدیم
طول ریشه	حجم ریشه	طول ریشه	حجم ریشه	طول ریشه	حجم ریشه
پتاسیم سدیم	سدیم	پتاسیم سدیم	سدیم	پتاسیم سدیم	سدیم
S ₁₀₋₁	۰/۰۵**	۶/۰۱۳**	-۱۰/۱۳۰**	-	-
S ₁₀₋₂	-۰/۴۳*	-۲۶۰/۸۹**	-	-	-
S ₃₀₋₁	-۱/۸۳**	۱۰۰/۱۵**	-	-	-
S ₃₀₋₂	۷۱/۳۳*	-۴۴/۳۱**	۴۸/۸۲**	۵/۲۹**	۷/۱۸*
S ₃₀₋₃	-۱/۰۴*	۰/۴۱**	-	-	-
S ₃₀₋₄	۱/۲۴**	-۹/۵۵**	-۴/۸۹**	-	-
S ₂₁₋₁	-۹/۵۵**	۶/۸۰**	-	-	-
S ₂₁₋₃	-۰/۵۱**	-۵۷/۰۰**	-۶۷/۰۳**	۱۰۶/۷۰**	-۰/۹۸*
S ₂₁₋₁	-	-	-۸۲/۴۳**	-	-
S ₂₁₋₂	-۱/۰۸*	-۱/۰۵**	-	-	-
S ₂₁₋₃	-	-	-	-	-
S ₃₈₋₁	۵/۶۹**	-۱۸/۵۴*	-	-	-
S ₃₈₋₃	-	-	-	-	-
S ₃₀₋₁	-	-	-	-	-
S ₃₀₋₂	-	-	-	-	-
S ₃₀₋₃	-	-	-	-	-
R ₁₇₋₂	-۱/۵۱*	-۱/۸۴**	-	-	-
R ₃₄₋₂	-۷۷/۰۲*	-۸۹/۷۷*	-	-	-
S ₁₀₋₁	۰/۲۸	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۹
R ²	-	-	-	-	-

*، **، *** به ترتیب غیرمعنادار و معنادار در سطح احتمال پنج و یک درصد
R و S به ترتیب نشان‌دهنده نشانگرهای ISSR و RAPD و اعداد به ترتیب شماره آغازگر و شماره نشانگر است.

منابع

9. Gupta PK, Mir RR, Mohan A and Kumar J (2008) Wheat genomics: present status and future prospects. International Journal of Plant Genomics. Article ID 896451, 36 P.
10. Kaushik A, Saini N, Jain S, Rana P, Singh RK and Jain RK (2003) Genetic analysis of a *Csr10* (*indica*) × *Taraori* Basmati F3 population segregating for salt tolerance using ISSR markers. Euphytica. 134: 231-238.
11. Kingsbury RW and Epstein E (1986) Salt sensitivity in wheat. A case for pacification toxicity. Plant Physiology. 90: 651-654.
12. Liu ZQ, Pei Y and Pu ZJ (1999) Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on RAPD markers in wheat, *Triticum aestivum* L. Plant Breeding. 118: 119-123.
13. Martinez L, Caragnaro P, Masuekki R and Rodriguez J (2003) Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. Biotechnology. 6(3): 241-250.
14. Mateescu RG, Zhang Z, Tsai K, Phavaphutanon Burton-Wurster NI, Lust G, Quaas R, Murphy K, Acland GM and Todhunter RJ (2005) Analysis of allele fidelity polymorphic information content and density of microsatellites in a genome wide screening for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. Heredity. 96(7): 847-853.
15. Mohan M, Suresh N, Bhagwat A, Krishna TG and Yano M (1996) Genome mapping, molecular marker and marker-assisted selection in crop plants. Molecular Breeding. 3: 87-103
16. Muminovic J, Melchinger AE and Lubberstedt T (2004) Genetic diversity in cornsalad (*Valerianella locusta*) and related species as determined by AFLP markers. Plant Breeding. 123: 460-466.
1. عبدالهی مندولکانی ب.، سیدطباطبایی بدرالدین ا.، شاه نجات بوشهری ع. ا.، قنادها م. ر. و امید م (۱۳۸۲) مطالعه روابط خویشاوندی و تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های گندم (*Triticum aestivum*) با نشانگرهای RAPD. علوم کشاورزی ایران. ۳۴(۲): ۴۵۴-۴۴۷.
2. کریمی ه (۱۳۷۵) گیاهان زراعی، انتشارات دانشگاه اصفهان، ۲۸۵ صفحه.
3. محمدی و. و نجفی میرکت (۱۳۸۵) اصلاح نباتات (عمومی و خصوصی)، انتشارات دیباگران تهران، ۱۸۸ صفحه.
4. نقوی ر.، قره‌یاضی ب. و حسینی سالکده ق (۱۳۸۶) نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ دوم، ۳۳۴ صفحه.
5. دشتی ح.، نقوی م. ر.، شاه‌نجات بوشهری ع. ا. و ششیرانی ح (۱۳۸۸) بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای RAPD. ژنتیک نوین. ۴(۳): ۶۲-۵۵.
6. Alamgir A, Kutube KK and Paul T (1997) Use of mathematical growth curves in the analysis of growth and nutrient distribution patterns in wheat growth under salinity stress. Chitagong university studies. 21: 37-46.
7. Botstein D, White RL, Skolnick M and Davis RW (1980) Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics. 32: 314-331.
8. Esfandiari E, Shokrpour M and Alavi-Kia S (2010) Effect of mg deficiency on antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation. Agricultural Science. 2(3): 131-136.

17. Munns A, Greenway H, Delan R and Gibbs J (1982) Ion concentration and carbohydrate status of elongating leaf tissue of *Hordeum vulgare* growing at high external NaCl. *Experimental Botany*. 33: 574-583.
18. Mwamburi MT (2005) Associating molecular markers with phenotypes in sweet potatoes and liriopogons using multivariate statistical modeling. Ph.D. dissertation Louisiana State Univ.
19. Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*. 89: 583-590.
20. Peakall R and Smouse PE (2006) GenAl Ex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6, 288-295.
21. Powell W, Morgante M, Andre C, Hannafey M, Vogel J, Tingey S and Rafalaski A (1996) The comparisons of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germ plasm analysis. *Molecular Breeding*. 2: 225-238.
22. Romesburg HC (1990) Cluster analysis for researchers Robert F. Kriger pub. Co. Malabar. Florida. pp. 324.
23. Roy JK, Bandopadhyay R, Rustgi S, Balyan HS and Gupta PK (2006) Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*. 90: 683-694.
24. Saghai-Maroo MA, Soliman KM, Jorgensen RA and Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance chromosomal location, population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Sciences*. 81: 8014-8018.
25. Schneider KA, Brothers ME and Kelly JD (1997) Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean. *Crop Science*. 37: 51-60.
26. Tian Q, Zhou R and Jia J (2005) Genetic diversity trend of common wheat (*Triticum aestivum* L.) in China revealed with AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 52 (3): 325-331.
27. Virk PS, Zhu J, Newburg HJ, Bryan GJ, Jackson MT and Ford-Lloyd BV (2000) Effectiveness of different classes of molecular marker for classifying and revealing variation in rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. *Euphytica*. 112: 275-284.
28. Wyn Jones RG, Gorham J and McDonnell E (1984) Organic and inorganic solution contents as selection criteria for salt tolerance in the triticeae In: Staples, R.C and Toenniessen, G.H. Salinity tolerance in plants. John Wiley and Sons, New York. pp: 189-197.