

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

analysis of Association among ISSR Markers and Important Traits in Different Soybean Cultivars by Regression Method

زهرا ملک محمدی^{۱*}، حسین صبوری^۲ و عباس بیابانی^۳، ابراهیم هزارجریبی^۴، احمد رضا دادرسی^۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۰

چکیده

یکی از پیشرفت‌های بزرگ در زمینه‌ی تشخیص نشانگرها، شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات زراعی مفید، است و همچنین ارزش نشانگرها در آنالیز وراثت صفات در گیاهان زراعی، مشخص شده است. در این تحقیق ارتباط بین صفات زراعی و نشانگر مولکولی ISSR در ژنوتیپ‌های مختلف سویا مورد بررسی قرار گرفت. تنوع ژنتیکی ارقام مختلف سویا با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR نشان داد که از تعداد ۶۸ قطعه‌ای که در کل ارقام تولید شد ۳۴ قطعه چند شکل بودند. مقدار PIC بین ۰/۱۴۷ تا ۰/۰۵۸ در آغازگرها متغیر بود. بیشترین میزان شاخص نشانگری مربوط به آغازگر PRI-6 با مقدار ۸/۳۹ به دست آمد که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالاتر این آغازگر نسبت به سایر آغازگرها است. تجزیه ارتباط با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و با مدل‌های آماری MLM، GLM و با استفاده از نرم افزار TASSEL برای ۲۱ متغیر انجام شد. مدل MLM در سطح احتمال ۵ درصد ۶ نشانگر مرتبط با صفات ارزیابی شده را شناسایی نمود. مطابق نتایج تجزیه ارتباط بالاترین ضریب تبیین به نشانگر 2-ISSR9 با توجیه ۰/۲۱ درصد از تغییرات تعداد شاخه اصلی اختصاص داشت. در مجموع با توجه به بالا بودن آماره‌های تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای 1-ISSR2، 2-ISSR9 و 4-ISSR2 می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی دیگر استفاده کرد.

کلمات کلیدی: شاخص نشاگری، ضریب تبیین، محتوای اطلاعات چند شکلی، قدرت تفکیک بالاتر، برنامه‌های اصلاحی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

۲-۳- دانشجویان گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

۴- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان

۵- استادیار پژوهشی بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان

*- مسئول مکاتبه E-mail: malekmohamadi.zahra@yahoo.com

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

مقدمه

زمینه‌ی تشخیص نشانگرها، شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات زراعی مفید است و همچنین ارزش نشانگرها در آنالیز وراثت صفات در گیاهان زراعی مشخص شده است (Roy et al., 2008). روی و همکاران (Roy et al., 2006) به بررسی ارتباط ۵۵ آغازگر SSR و ۳۸ آغازگر AFLP با ۱۴ صفت زراعی در ۱۵ لاین گندم پرداختند و نشانگرهای مورد مطالعه حداقل با یکی از ۱۴ صفت زراعی ارتباط نشان دادند و همچنین بیان کردند این نوع نشانگرها می‌توانند به عنوان نشانگرهای مثبت برای برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر معرفی شوند. ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2009) در بررسی ۵۷ رقم جو با استفاده از ۲۱ جفت آغازگر ریز ماهواره متوسط تعداد آلل‌ها را ۱۷۶ و متوسط میزان اطلاعات چندشکلی را ۰/۸۹۵ گزارش کردند. اورابی و همکاران (Orabi et al., 2004) در بررسی ۲۴۰ لاین جو که از ۲۴ مزرعه نمونه‌گیری شده بود میانگین تنوع ژنتیکی را بین ۰/۳۵ تا ۰/۵۵ بدست آوردند. در بررسی دیگری که به منظور شناسایی نواحی موثر در محتوای بتا گلوکان در دانه‌ی ۸۹ توده‌ی جو با منشاء لاتوریان و ۲۲ توده با منشاء هالس با استفاده از ۱۲۳۷ نشانگر SNP انجام شد. با استفاده از مدل MLM همراه با ماتریس‌های K و Q تعداد سه نشانگر 1-0673، 2-0880 و 1-1445 بر روی کروموزوم 7H شناسایی شد که ارتباط معنی‌داری را با محتوای بتا گلوکان داشتند (Mezaka et al., 2011). با توجه به اهمیت و کاربرد نشانگرهای مولکولی از جمله نشانگر ISSR در مشخص نمودن فراوانی توالی ریزماهواره‌ها، بررسی در جمعیت‌های طبیعی و جداسازی گونه‌ها، همچنین تعیین و برآورد تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی و با توجه به اینکه استفاده از تجزیه ارتباط برای تعیین نشانگرهای پیوسته با صفات مهم می‌تواند اطلاعات پایه‌ای بسیار مفیدی را در اختیار محققین و به‌نژادگران قرار دهد و همچنین به دلیل اینکه استفاده از تجزیه‌ی ارتباط در سویا و گونه‌های مختلف آن زیاد گزارش نشده است این تحقیق با هدف شناسایی نشانگرهای مثبت و مرتبط با صفات مهم با استفاده از روش تجزیه‌ی ارتباط در گونه‌های مختلف سویا انجام گرفت.

سویا گیاهی است با نام علمی *Glycine max* که دارای ۴۰ کروموزوم است. این گیاه روز کوتاه بوده و در فارسی با نام‌های سوژا، لویاروغنی و نخودفرنگی چینی نامیده می‌شود (Pharsi and Bagheri, 2009). از گیاه سویا می‌توان به عنوان مرتع، علوفه خشک، کودسبز یا علوفه تازه استفاده کرد. دانه‌های سویا ارزش غذایی زیادی دارند و در صنایع غذایی زیادی از آن استفاده می‌شود. کنجاله سویا نیز در تغذیه دام‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. براساس آمار، بخش قابل توجهی از روغن مورد نیاز کشور از خارج وارد می‌گردد، بنابراین تولید داخلی گیاهان روغنی حایز اهمیت می‌باشد (Brown et al., 1985). نشانگر ISSR از جمله نشانگرهای نیمه‌تصادفی می‌باشد که با آغازگرهای واجد نوکلئوتیدهای تکراری مانند GT، AC و AG در ارتباط است به همین دلیل MPPCR نیز نامیده می‌شود. استفاده از تکنیک ISSR نیاز به داشتن آگاهی‌های ابتدایی در مورد توالی ژنوم ندارد و الگوهای چندشکلی زیاد و چندمکانی ایجاد می‌کند. از نشانگر ISSR در انگشت‌نگاری ژنومی، گوناگونی ژنتیکی، آنالیز فیلوژنتیکی، نقشه‌یابی ژنوم، مشخص نمودن فراوانی توالی‌های ریزماهواره‌ها، بررسی در جمعیت‌های طبیعی و جداسازی گونه‌ها استفاده می‌گردد (Reddy et al., 2002). جهت تعیین و برآورد تنوع ژنتیکی گیاهان از نشانگرهای متفاوتی مانند نشانگرهای مرفولوژیک، بیوشیمیایی و DNA استفاده می‌شود (Naghavi et al., 2004). نشانگرهای مولکولی و صفات مرفولوژیک تکمیل‌کننده‌ی همدیگر بوده و نمی‌توانند به تنهایی ابزار مفید و سودمندی در روش‌های مختلف اصلاحی محسوب شوند (Roldan-Ruiz et al., 2003; Martinez et al., 2001). مطالعه‌ی رابطه‌ی بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای کاربردهای متعددی است که برخی از آن‌ها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، شناسایی آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌ی ژرم‌پلاسما، تسهیل مکان‌یابی دقیق QTLها و تایید ژن‌های کاندیدای مسئول صفات کمی (Gebhardt et al., 2004). یکی از پیشرفت‌های بزرگ در

مواد و روش‌ها

مزرعه تحقیقاتی دانشگاه گنبد کاووس مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های سویا، ۴۸ ژنوتیپ سویا از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه گردید و در قالب طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در سه تکرار در

PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت و فرآورده‌های PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد برده شد، سپس باندهای تکثیر یافته با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند و با دستگاه ژل‌داک عکسبرداری از ژل‌ها انجام شد. براساس الگوهای نواری حاصل از الکتروفورز، نمره‌دهی در صورت حضور باند (۱) عدم حضور باند (۰) صورت گرفت. محتوای اطلاعات چندشکل (Polymorphism Information Content) که نشان دهنده ارزش هر نشانگر برای بیان چندشکلی است توسط رابطه محاسبه شد (Mohammadi, 2006). رابطه (۱) $PIC = 1 - \sum f_i^2$

در دست نبود تعداد بهینه‌ی K با شبیه‌سازی محاسبه گردید. K تعداد زیر جمعیت‌های مورد مطالعه در جمعیت مورد نظر با استفاده از نرم افزار STRUCTURE می‌باشد. در حقیقت تعیین تعداد زیر واحدهای ژنتیکی برای انجام تجزیه‌های آماری مهم مانند تجزیه‌ی ارتباط برای تعیین نشانگرهای معنی‌دار واقعی اهمیت زیادی دارد. بدین منظور برای جمعیت مورد استفاده تعداد K از ۲ تا ۱۰ در نظر گرفته شد و برای محاسبه‌ی تعداد زیر جمعیت برای محاسبات استفاده شد و برای هر K، میانگین L(K) و انحراف معیار (Stdev) تکرارها محاسبه شد. سپس تفاضل‌های K از روش ایوانو و همکاران (Evanno et al., 2005) استفاده شد. بدین صورت که از دو ستون خلاصه شده K و $Lnp(D)$ برای محاسبات استفاده شد

استخراج و واکنش زنجیره پلی‌مرز (PCR)

۴۸ ژنوتیپ مورد بررسی به منظور استخراج DNA در گلدان‌های مناسب کشت و نمونه‌های برگ‌ی پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا شسته شده و سپس در معرض نیتروژن مایع به سرعت آسیاب شد. جهت بررسی تنوع ژنتیکی در سطح مولکولی، DNA ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش موری و تامسون استخراج شد (Thompson, Murray & 1980). سپس در ژل آگارز ۱ درصد جهت مشاهده‌ی کیفیت آن الکتروفورز گردید. از ۱۰ نشانگر ISSR برای برآورد تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی استفاده شد (جدول ۲). واکنش

تجزیه‌ی ساختار ژنتیکی

تجزیه ساختار ژنتیکی به منظور شکستن کل جمعیت به زیر جمعیت‌هایی با ساختارهای متفاوت محتمل را امکان‌پذیر می‌سازد. زیر جمعیت‌های تشکیل شده از لحاظ ژنتیکی متمایز از هم می‌باشند و چنانچه ژنوتیپ‌هایی به صورت اختلاط یافته باشند پس از انجام این تجزیه قابل تشخیص خواهند بود (Dadras, 2012). برای انجام تجزیه‌ی ساختار و تفکیک کل جمعیت به زیر جمعیت‌های متمایز از لحاظ ساختار ژنتیکی از نرم افزار 2 3 4 STRUCTURE، پریکارد و همکاران (Pritchard et al., 2000) استفاده شد و ماتریس صفر و یک حاصل از نشانگر ISSR (al) استفاده شد. به دلیل آن که از ساختار جمعیت اطلاعات قبلی

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

ژنوتیپ‌های سویا را نشان می‌دهد. در صورتی که نمودار دو طرفه K و ΔK رسم گردد، نقطه‌ی اوج منحنی همان تعداد بهینه‌ی K خواهد بود. شکل ۱ نمودار دو طرفه برای تعیین بهینه‌ی K را نشان می‌دهد.

رابطه ۲ $K = L(K)$ تکرارها برای هر $Lnp(D)$ میانگین

رابطه ۳ $L'(K) = L(K)n - L(K)n - 1$

رابطه ۴ $L''(K) = L'(K)n - L'(K)n - 1$

استفاده قرار می‌گیرد. اما در مدل دوم علاوه بر دو سری داده‌ی فوق، داده‌های ساختار جمعیت یعنی ماتریس Q که با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE محاسبه شده است نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مدل سوم که یک مدل خطی مخلوط می‌باشد، سه سری داده‌ی مدل دوم به همراه داده‌های خویشاوندی حاصل از مشابهت کلی افراد از لحاظ زمینه‌ی ژنتیکی ناشی از خویشاوندی موسوم به ماتریس K استفاده می‌شود. لازم به توضیح است که ماتریس K با استفاده از نرم‌افزار TASSEL قابل محاسبه است. پس از انجام تجزیه‌های فوق، نتایج مورد تفسیر قرار گرفت.

نشانگری در آغازگر PRI-6 با مقدار ۸/۳۹ مشاهده شد که نشان دهنده قدرت تفکیک بالاتر این آغازگر نسبت به سایر آغازگرها است و کمترین شاخص نشانگری مربوط به آغازگر PRI-5 با مقدار ۱/۶۵ بود (جدول ۴). کوتی یار نونی و همکاران (Chotiyarnwong, 2007) نیز با مطالعه ۱۶۰ ااریته محلی و نوترکیب سویا گزارش کردند که میانگین شاخص تنوع ژنتیکی (۰/۸۳۱) بود و همبستگی مثبتی را با تعداد آلل موثر نشان داد و این نتیجه با نتیجه‌گیری ما مطابقت داشت.

و برای هر K ، میانگین $L(K)$ و انحراف معیار (Stdev) تکرارها محاسبه شد. سپس تفاضل میانگین تکرارها برای گروه‌های مجاور به صورت گروه بالاتر منهای گروه پایین‌تر و به نام $L'(K)$ تعیین و سپس تفاضل $L'(K)$ برای گروه‌های مجاور و به نام $L''(K)$ محاسبه گردید که در نهایت از این محاسبات ΔK تعیین شد (Dadras, 2012). خلاصه‌ی عملیات ذکر شده به صورت روابط زیر می‌باشد. جدول ۳ آماره‌های محاسبه شده برای تعیین مقدار برای

تجزیه ارتباط

پس از استخراج ماتریس Q از نرم‌افزار TASSEL بارادبوری و همکاران (Bradbury et al., 2007) برای انجام تجزیه ارتباط نشانگرهای ISSR و صفات فنوتیپی با استفاده از سه مدل جدول ۴ استفاده شد. رویه‌ی GLM می‌تواند به صورت همراه با اعمال اثر ساختار جمعیت و بدون آن انجام پذیرد. اخیراً از رویه‌ی MLM به منظور درک ارتباط بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود (Agrama et al., 2007). مدل اول و دوم جزء مدل خطی عمومی (GLM) می‌باشد، با این توضیح که در مدل اول فقط دو سری داده مورد

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی ارقام مختلف سویا با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت. از میان همه آغازگرهای مورد بررسی ۷ آغازگر چندشکلی مناسبی را نشان دادند. طبق نتایج جدول ۵ بیشترین و کمترین درصد چندشکلی به ترتیب به آغازگر PRI-2 با ۶۶/۶۶ درصد و آغازگر PRI-5 با ۲۸/۵۷ درصد تعلق داشت. بیشترین محتوای اطلاعات ژنتیکی مربوط به آغازگر PRI-6 با مقدار ۰/۱۴۷ و کمترین محتوای اطلاعات ژنتیکی مربوط به آغازگر PRI-5 با مقدار ۰/۰۵۸ بود. بیشترین میزان تنوع ژنتیکی در آغازگر PRI-5 با مقدار ۰/۴۸۵ و کمترین میزان تنوع ژنتیکی در آغازگر PRI-1 با مقدار ۰/۳۰۰ مشاهده شد. بیشترین میزان شاخص

هر فرد، در هر گروه درصد عضویت نیز محاسبه نمود. بر اساس روش اسپاتارو و همکاران (Spataro et al., 2011) یک ژنوتیپ هنگامی می‌تواند به انتساب یک گروه در آید که درصد عضویت آن بیشتر از ۰/۷ باشد و در صورتی که درصد عضویت آن کمتر از ۰/۶۹ باشد به عنوان ژنوتیپ مخلوط در نظر گرفته می‌شود. جدول ۶ درصد عضویت ۴۸ ژنوتیپ سویا را نشان می‌دهد. این جدول تکمیل کننده ی بارپلات STRUCTURE است که بر اساس آن ژنوتیپ ۳۶ با درصد عضویت کمتر از ۰/۶۹ جزء ژنوتیپ‌های مخلوط قرار گرفت. کومادران (Comadran, 2011) به منظور بررسی الگوهای چندشکلی و عدم تعادل پیوستگی در ۱۹۰ توده‌ی رقم الیت جو با ۴۵۹۶ نشانگر SPN مطالعه‌ی انجام داد. مقدار بهینه‌ی K با نرم‌افزار STRUCTURE3 به دست آمد و نشان داد که این نشانگرها قادرند تنوع موجود را برای نقشه‌ی صفات توجیه کنند.

مدل مرتبط با صفت تعداد غلاف شاخه‌ی فرعی بودند. اکثر صفات مانند تعداد شاخه‌ی فرعی، تعداد غلاف، تعداد شاخه‌ی اصلی و ارتفاع اولین غلاف از زمین با بیش از یک نشانگر مرتبط بودند. نتایج نشان داد که بعضی از نشانگرها مانند ISSR10-1، ISSR2-3 و ISSR2-4 با بیش از یک صفت ارتباط نشان دادند که نشان دهنده‌ی این است که این صفات پیوستگی بسیار نزدیکی با همدیگر داشته یا تحت تاثیر ژن‌های چند اثره قرار دارند. جهت روشن شدن این امر تهیه‌ی نسل‌های در حال تفرق و نقشه‌های پیوستگی ضروری می‌باشد. در مدل GLM صفات تعداد شاخه‌ی اصلی و تعداد شاخه‌ی فرعی در هر دو سطح احتمال (۵ درصد و ۱ درصد) معنی‌دار شدند. در سطح ۱ درصد به ترتیب با نشانگرهای ISSR9-2 و ISSR5-2 مرتبط بودند. در این مدل صفت تعداد غلاف شاخه‌ی فرعی مرتبط با دو نشانگر ISSR2-3 و ISSR2-4 فقط در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. در این مدل بالاترین ضریب تبیین (۰/۲۱) مرتبط با تعداد شاخه‌ی اصلی بود. در مدل GLMQ صفت

تجزیه ساختار ژنتیکی

طبق نتایج حاصل از نرم افزار structure، k و Δk که به ترتیب تعداد زیر گروه‌ها و میزان تغییرات آن‌ها با توجه به شبیه‌سازی‌های انجام شده در نرم افزار می‌باشد، استخراج و نمودار دو بعدی آن رسم شد. مطابق شکل ۱ مقدار بهینه‌ی K نقطه‌ی اوج منحنی است که با توجه به نمودار، بهترین K در این مطالعه ۲ بود. ژنوتیپ‌های این بررسی بر اساس چند شکلی‌های حاصل از نشانگرهای ISSR، به دو بخش تقسیم شدند که بیشترین ژنوتیپ‌ها در بخش قرمز رنگ قرار داشتند مطابق نتایج حاصل از تجزیه ساختار، تعداد خوشه‌هایی که پارامتر ΔK را به حداکثر خود می‌رساند برابر ۲ بوده است. طبق روش ایوانو و همکاران (Evanno et al., 2005) همه‌ی ژنوتیپ‌ها می‌توانند به دو گروه شکسته شوند و می‌توان برای

تجزیه ارتباط

در این بررسی از سه مدل آماری برای تجزیه ارتباط استفاده شده است (جدول ۴). سطح معنی دار در این تجزیه ۵ درصد در نظر گرفته شده است و میزان دقیق احتمال هر نشانگر در جدول در زیرستون سطح احتمال آورده شده است که امکان ارزیابی دقیق‌تری را برای انتخاب و یا تصمیم‌گیری فراهم آورد. روش آزمون در این تجزیه مدل‌های آماری mixed linear می‌باشد. در مجموع، برای ۲۱ متغیر تعداد ۴۸ نشانگر در سطح ۵ درصد و ۱۵ نشانگر در سطح ۱ درصد ارتباط معنی‌داری با این صفات نشان دادند. صفات تعداد غلاف، تعداد غلاف شاخه‌ی فرعی، روز تا گلدهی کامل و تعداد شاخه‌ی اصلی در هر سه مدل توسط نشانگرهای مختلف معنی‌دار شدند و بیشترین تعداد نشانگر مرتبط با صفت تعداد شاخه‌ی اصلی بود (جدول ۷). نشانگرهای ISSR10-1 و ISSR4-1 مرتبط با صفات تعداد شاخه‌ی فرعی و تعداد روز از شروع غلاف‌دهی تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی و نشانگرهای ISSR2-4 و ISSR2-3 در هر سه

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

کاربردهای متعددی است که برخی از آن‌ها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، شناسایی آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌ی ژرم‌پلاسما، تسهیل مکان‌یابی دقیق QTLها و تایید ژن‌های کاندیدای مسئول صفات کمی (Gebhardt *et al.*, 2004). یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2010) در بررسی به منظور شناسایی جایگاه صفات کمی و تجزیه ارتباط در ۱۵۵ ذرت اینبرد با ۱۵۳۶ SNP انجام شد، نشان دادند که استفاده از مدل MLM ۱/۱۵، ۱/۱۵ و ۱/۶۶ درصد SNPها ارتباط معنی‌دار با تمامی محتوای توکوفول 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 خوبی ندارند اما استفاده از مدل مبتنی بر K و Q بطور مشترک در مدل MLM نتایج بهتر و موثرتری را در بر دارد. در این مطالعه صفات کمتری در مدل MLM توسط نشانگرهای مختلف معنی‌دار شد و مدل MLM کارایی کمتری نسبت به دو مدل دیگر در بررسی ارتباط بین نشانگر ISSR و صفات مرفولوژیک نشان داد و این نتیجه گیری با نتایج ما مغایرت داشت.

نمایند. کاساس و همکاران (Casas *et al.*, 2006) در مطالعاتی که بر روی ۲۲۵ توده جو (شامل ۱۷۵ توده SBCC) با استفاده از ۳۷ نشانگر SSR در طول ژنوم جو انجام شد تجزیه ساختار جمعیت با نرم افزار STRUCTURE با استفاده از داده‌های ۶۴ نشانگر ISSR توانست توده‌های اسپانیایی را به خوبی از سایر توده‌های اروپایی تفکیک کند. پژوهش آن‌ها نشان داد که اعمال اثر ساختار جمعیت در تجزیه ارتباط باعث کاهش تعداد ارتباط معنی‌دار می‌شود یعنی بخشی از ارتباطات واقعی بین صفت و نشانگر که ناشی از ساختار جمعیت نیست را نشان می‌دهد. اگر چه تعداد نشانگرهای معنی‌دار در این پژوهش کم بود اما باز هم تعدادی

تعداد غلاف مرتبط با هر سه آغازگر 1-1 ISSR، 4-2 ISSR و 1-1 ISSR در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. در این مدل آغازگر 1-1 ISSR با بیشترین تعداد صفات مانند تعداد روز از شروع غلاف‌دهی تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی، روز تا شروع غلاف‌دهی، تعداد شاخه‌ی فرعی و تعداد شاخه‌ی اصلی مرتبط بود همچنین در این مدل بالاترین ضریب تبیین متعلق به صفت تعداد شاخه‌ی اصلی (۰/۱۸) بود. تجزیه ارتباط با مدل MLM توانست ۵ آغازگر مرتبط با ۲۱ متغیر مورد بررسی را شناسایی کند. در این مدل بیشترین ضریب تبیین به آغازگر 4-2 ISSR با (۰/۱۲) مرتبط با صفت تعداد غلاف شاخه‌ی فرعی تعلق داشت. در این مدل صفات روز تا گلدهی کامل، تعداد شاخه‌ی اصلی، تعداد غلاف و تعداد غلاف در شاخه‌ی فرعی در سطح ۵ درصد معنی‌دار شدند. در این مطالعه صفات کمتری در مدل MLM توسط نشانگرهای مختلف معنی‌دار شد و مدل MLM کارایی کمتری نسبت به دو مدل دیگر در بررسی ارتباط بین نشانگر ISSR و صفات مرفولوژیک نشان داد. در مجموع با توجه به بالا بودن آماره‌های تنوع ژنتیکی نشانگرهای 1-1 ISSR، 3-2 ISSR و 4-2 ISSR می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی دیگر به عنوان ترکیبات مناسب استفاده نمود. مطالعه‌ی رابطه‌ی بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای جولینو و همکاران (Julio *et al.*, 2006) در بررسی که بر روی توتون به منظور شناسایی نواحی ژن‌های مرتبط با مقاومت به سه بیماری معمول توتون از نشانگرهای AFLP و ۹۲ نمونه‌ی مختلف *N. Tabacum* استفاده کردند که در کل هفت نشانگر به ترتیب دو، سه و دو نشانگر مرتبط با مقاومت به بیماری پوسیدگی ریشه (*Black root rot*)، کپک آبی (*Blue mold*) و ویروس Y سیب زمینی (*potato Virus Y*) شناسایی شدند. همچنین آن‌ها تعدادی از این نشانگرها را به SCAR تغییر داده و سپس در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب و هاپلوئید مضاعف به تایید رساندند. این نشانگرها قادر بودند نمونه‌های بیمار و سالم را از هم تفکیک

جدول ۱- اسامی ارقام مورد استفاده در این تحقیق

Table 1. names of cultivars used in this study

شماره	والد مادری	والد پدری	نام لاین	اسامی قابل استفاده
No	Female parent	Male parent	Line name	Names used
1				Williams
2				Sahar
3				Gorgan 3
4				Katol
5	Davis	Williams		DW
6	Hobbit	TN4.54		HT
7	Pershing	Epps		PE
8	Williams	Essex		Saman
9				Talar
10				Sare
11	Talar	Gorgan3		Nekador
12	Talar	Hel		Caspean
13	Safi abadi	Duglas	L 14	Saland
14			M 7	M 7
15			M 9	M 9
16			L 17	L 17
17	Delsoy4210	Iropouis	D42.I9	D42.I9
18	Delsoy4210	Williams82	D42.Will8 2-3	D42.Will82
19			HMS31	HMS31
20				Linford
21				Clean
22	For a	Epps		FE
23	Pershing	Collombus	PC4	PC4
24	Williamsdaneseyah	Epps		Black WE
25	Katol	For a		KF
26	Katol	Krasnodar778	KK10	KK10
27	Katol	Sepedeh	KS5	KS5
28	Pershing	Katol	H3051	H3051
29	Pershing	Katol	H3058	H3058
30	Williams	Katol	H3123	H3123
31	Hamilton	Katol	H3137	H3137
32	Hamilton	Katol	H3145	H3145
33	Krasnodar778	Katol	H3155	H3155
34	Katol	Rend	KR3	KR3
35	Katol	Yougetsu	Ky3	Ky3
36	Katol	Kottman	KK1	KK1
37	Katol	Nemaha	KN3	KN3
38	Katol	Darby	KD1	KD1
39	Katol	Darby	KD2	KD2
40	Williams	Katol	WK3	WK3
41	Williams	Katol	WK9	WK9
42	Katol	Hamilton	KH3	KH3
43	Hamilton	Katol	HK1	HK1
44	Omaha	Pershing	OP3	OP3
45	Accomac	Yougetsu	AY3	AY3
46	Accomac	Nemaha	AN3	AN3
47	Hamilton	Nemaha	HN6	HN6
48	Line nejer	Sepedeh	NS3	NS3

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Table 2. information of used primers

نام آغازگر primer name	دمای اتصال Fusing temperature	توالی آغازگر Primer se- quence
PRI-1	54	(CAG)5
PRI-2	42	(GAAT)4
PRI-3	47	(CCTA)4
PRI-4	42	(CT)8T
PRI-5	54	(CCA)5
PRI-6	42	(ATG)5
PRI-7	47	(CAA)5
PRI-8	42	(CT)8A
PRI-9	46	(ACTG)4
PRI-10	42	(GT)6CC

جدول ۳- آماره‌های محاسبه شده برای مقدار بهینه K با استفاده از نرم افزار STRUCTURE

Table 3. statistics calculated for optimum k using the software STRUCTURE

K	L (K)	Stdev	L' (k)	L' (K)	KΔ
1	1021.65	0.693			0
2	919.99-	4.34	1941.64-	2032.1	467.49
3	829.53-	2.30	90.46	18-	7.810
4	757.07-	5.58	72.46	8.72	1.56
5	675.89-	5.11	81.18	56.82-	11.09
6	651.53-	79.156	24.36	59.19	0.37
7	567.98-	40.74	83.55	50.61-	1.24
8	535.04-	7.54	32.94	47.27-	6.26
9	549.37-	41.10	14.33-	72.35-	1.76
10	636.05-	145.66	86.68-	86.68	0.59

جدول ۵- نتایج حاصل از بررسی ۴۸ ژنوتیپ سویا با استفاده از نشانگر ISSR

Table 5. The results of 48 soybean genotypes using ISSR marker

نام	توالی	دمای اتصال	تعداد	تعداد باندهای	درصد چند شکلی	شاخص	محتوای	شاخص	تنوع	تعداد
آغاز گر	آغاز گر	آغاز گر	کل	چند شکل	Polymorphism(0/0)	نشانگری	اطلاعات	شانون	ژنتیکی	آلل
Primer name	Primer sequence	Amealing Temperature	باندها No.of Scored bands	No.of Polymorphic bands		MI	ژنتیکی PIc	I	H	موثر Ne
PRI-1	(CAG)5	54	6	3	50	3.8	0.076	0.467	0.300	1.479
PRI-2	(GAAT)4	42	6	4	66.66	6.33	0.095	0.658	0.466	1.879
PRI-3	(CCTA)4	47	6	3	50	3.8	0.076	0.666	0.473	1.904
PRI-4	(CT)8T	42	10	5	50	4.75	0.095	0.629	0.438	1.796
PRI-5	(CCA)5	54	7	2	28.57	1.65	0.058	0.678	0.485	1.943
PRI-6	(ATG)5	42	7	4	57.14	8.39	0.147	0.600	0.414	1.750
PRI-7	(CAA)5	47	5	3	60	6.72	0.112	0.534	0.353	1.579
PRI-8	(CT)8A	42	7	3	42.58	2.99	0.07	0.585	0.397	1.675
PRI-9	(ACTG)4	46	8	4	50	4.75	0.095	0.628	0.438	1.803
PR-10	(GT)6CC	42	6	3	50	4.75	0.095	0.650	0.458	1.848

بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

جدول ۶- درصد عضویت ژنوتیپ‌ها بر اساس نتایج مستخرج از نرم افزار STRUCTURE

Table 6. Member percentage of genotype taken based on the results of STRUCTURE software

شماره ژنوتیپ NO.OF Genotep	درصد عضویت گروه ۱	درصد عضویت گروه ۲	شماره ژنوتیپ NO.OF Genotep	درصد عضویت گروه ۱	درصد عضویت گروه ۲
	Member of Group 1	Member of Group 2		Member of Group 1	Member of Group 2
(Williams) 1	0.987	0.013	(KF) 25	0.05	0.95
(Sahar) 2	0.988	0.012	(KK10) 26	0.013	0.987
(Gorgan) 3	0.961	0.039	(KS5)27	0.008	0.992
(Kato1) 4	0.986	0.014	(H3051)28	0.023	0.977
(DW) 5	0.986	0.014	(H3058) 29	0.009	0.991
(HT) 6	0.94	0.06	(H3123)(30	0.007	0.993
(PE) 7	0.966	0.034	(H3137) 31	0.008	0.992
(Saman) 8	0.954	0.046	(H3145) 32	0.007	0.993
(Talar) 9	0.942	0.058	(H3155) 33	0.009	0.991
(Sari) 10	0.981	0.019	(KR 3) 34	0.01	0.99
(Nekador) 11	0.983	0.017	(Ky3) 35	0.027	0.973
(Kaspeyan) 12	0.982	0.018	(kk1) 36	0.654	0.346
(Saland) 13	0.981	0.019	(KN 3) 37	0.875	0.125
(M7) 14	0.993	0.007	(KD1)38	0.961	0.039
(M9) 15	0.986	0.014	(KD2)39	0.972	0.028
(L17) 16	0.984	0.016	(WK3)40	0.984	0.016
(D42.19) 17	0.992	0.008	(WK9)41	0.959	0.041
(D42.Will8)18	0.964	0.036	(KH3)42	0.983	0.017
(HMS31) 19	0.952	0.048	(HK1)43	0.978	0.022
(Linfo) 20	0.963	0.037	(OP3)44	0.982	0.018
(Clean)21	0.972	0.028	(AY3)45	0.968	0.032
(FE) 22	0.958	0.042	(AN3)46	0.957	0.043
(PC4) 23	0.917	0.083	(HN6)47	0.95	0.05
(Black WE) 24	0.857	0.143	(NS3)48	0.949	0.051

جدول ۷- نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مختلف

Table 7. The result of association Analysis between ISSR markers and different traits

		مدل ۳ (MLM)			مدل ۲ (GLMQ)			مدل ۱ (GLM)		
R ²	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	R ²	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	R ²	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	صفت trait	
						0.12335	0.01438	ISSR1-1	تعداد روز تا	
						0.08325	0.04671	ISSR2-3	زمان رسیدگی	
						0.11339	0.01927	ISSR7-2	Days to maturity	
			0.08841	0.04171	ISSR1-3	0.08223	0.04814	ISSR1-3	ارتفاع اولین	
			0.010751	0.02398	ISSR4-4	0.08607	0.04299	ISSR4-4	غللاف از زمین	
			0.09342	0.03607	ISSR4-5	0.09156	0.03658	ISSR4-5	height of	
			0.08841	0.04171		0.08265	0.04756	ISSR8-3	The first pod	
			0.07919	0.04607	ISSR4-1	0.1007	0.02797	ISSR1-1	تعداد شاخه‌ی	
			0.10858	0.01846	ISSR7-1	0.09269	0.03539	ISSR2-2	فرعی	
			0.10165	0.02291	ISSR7-3	0.11265	0.01969	ISSR2-3	NO.second	
			0.10558	0.00495	ISSR10-1	0.14178	0.00834	ISSR5-2	ary branch	
0.02833	ISSR6-4	ISSR6-4	0.16138	0.00335	ISSR1-1	0.09234	0.03575	ISSR2-2	تعداد غلاف	
			0.13061	0.00897	ISSR2-4	0.121	0.01541	ISSR2-4	No. pod	
			0.13891	0.00689	ISSR4-1	0.11497	0.0184	ISSR5-2		
			0.10068	0.02416	ISSR2-1				تعداد شاخه‌ی	
									بارور	
									No.Fertile branches	
0.09278	0.04234	ISSR3-1	0.06936	0.03215	ISSR3-1	0.10027	0.02833	ISSR3-1	روز تا گلدهی	
			0.09611	0.03239	ISSR8-1				کامل	
			0.10935	0.02312	ISSR3-1	0.1101	0.02122	ISSR3-1	Days to complet of flowering	
			0.14456	0.00835	ISSR10-1	0.12805	0.01252	ISSR10-1	روز تا شروع غلاف‌دهی	
			0.08324	0.04901	ISSR8-1				Days to beginning poding	
									روز تا تکمیل	
									غللاف‌دهی	
									Days of complet of poding	
			0.11702	0.01613	ISSR8-1				تعداد روز تا	
									پر شدن دانه	
									No. days to full	

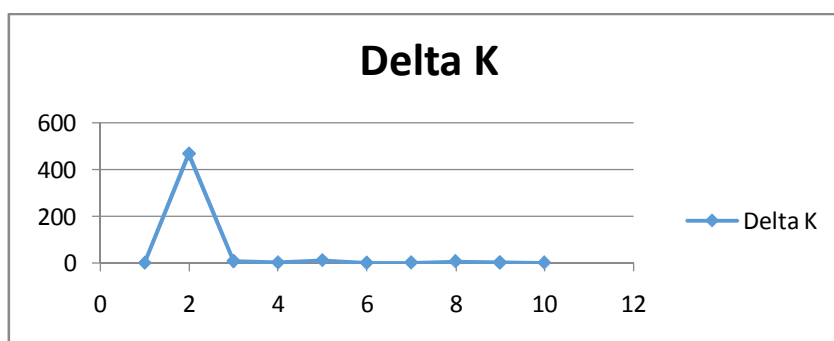
بررسی ارتباط بین نشانگرهای ISSR و صفات مهم در ارقام مختلف سویا با روش رگرسیون

							seed
				0.0865	0.04246	ISSR2-1	تعداد روز از شروع گلدهی تا ۵۰ درصد گلدهی No.day after plant to 50 0/0 flowering
	0.12208	0.0148	ISSR4-1	0.088	0.4061	ISSR1-1	تعداد روز از شروع غلاف دهی تا ۵۰ درصد غلافدهی No.day after plant to 50 0/0 podding
	0.11584	0.0178	ISSR10-1				

ادامه جدول ۷

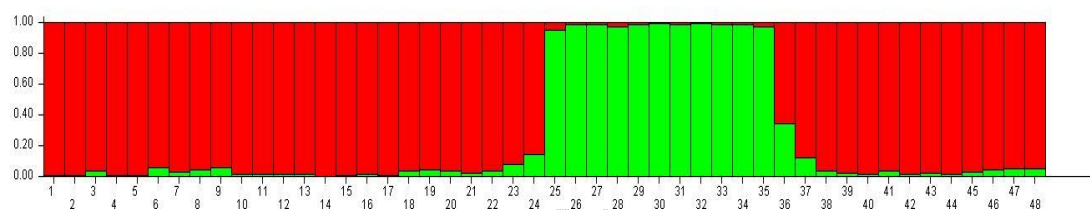
Continued Table 7

مدل ۳ (MLM)			مدل ۲ (GLMQ)			مدل ۱ (GLM)			
R2	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	R2	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	R2	سطح احتمال Probability level	نشانگر Primer	صفت trait
0.08791	0.04788	ISSR4-4	0.09512	0.02875	ISSR8-3	0.1145	0.01865	ISSR1-2	تعداد
			0.15949	0.00388	ISSR2-3	0.12068	0.01555	ISSR2-2	شاخه‌ی
			0.18805	0.00156	ISSR9-2	0.09306	0.03501	ISSR4-3	اصلی
			0.18387	0.00178	ISSR9-4	0.09875	0.02962	ISSR4-4	NO.
			0.1405	0.00705	ISSR10-1	0.1235	0.01432	ISSR7-2	main
			0.18937	0.00149	ISSR10-3	0.09972	0.02878	ISSR9-2	branch
						0.11981	0.01596	ISSR10-2	
						0.1172	0.01723	ISSR10-3	
						0.21015	0.00105	ISSR9-2	
0.11676	0.02349	ISSR2-3	0.12071	0.01516	ISSR2-3	0.14778	0.00698	ISSR2-3	تعداد غلاف
0.12232	0.02057	ISSR2-4	0.15827	0.00493	ISSR2-4	0.15195	0.00617	ISSR2-4	شاخه‌ی
			0.0807	0.04961	ISSR7-3				فرعی
									No. Secondary branch of pod



شکل ۱- نمودار دو طرفه برای تعیین تعداد بهینه K

Figure 1. Bilateral chart to determine the optimal number K



شکل ۲- بار پلات ساختار جمعیت مستخرج از STRUCTURE و نشانگر ISSR که در دو بخش رنگی تقسیم شده است. نام ژنوتیپ ها در جدول ۴ آورده شده است
 Figure 2. Bar plot of population structure as inferred by STRUCTURE AND ISSR marker data set partitioned in to K coloured segment(k=2). The genotypes name exist in the table 4

References

فهرست منابع

- Agrama, H. A., G. C. Eizenga., and W. Yan. 2007.** Association mapping of yield and its components in rice cultivars. *Molecular Breeding*, 19: 341-356.
- Bradbury, P. J., Z. Zhang., D. E. Kroon., T. M. Casstevens., Y. E. Ramdess., and S. Buckler. 2007.** TASSEL: Software for association mapping of complex traits in divers samples. *Bioinformatics Applications Note*, pp: 2633-2635.
- Brown, E. A., C. E. Caviness., and D. A. Brown. 1985.** Response of soybean cultivars to soil moisture deficit. *Agronomy journal*, 77(2): 274-278.
- Casas, A. M., D. Kopahnke., A. Habekub., G. Schwizer., M. P. Gracia., J. M. Lasa., F. J. Ciudad., P. Codesal., M. A. Moralejo., J. L. Molina-Cano., E. Igartua., and F. Ordon. 2006.** Marker-trait association for disease resistance in the Spanish barley core collection. *Eucarpia*, Lleida, pp: 141-145.
- Chotiyarnwong, O., P. Chotiyarnwong., S. Chanprame., and P. Srinives. 2007.** Evaluation of genetic diversity in thai indigenous and recommended soybean varieties by SSR marker. *Thai Journal of Agricultural Science*, 40: 119-126.
- Comadran, J. L., K. Ramsay., P. Mackenzie., T. J. Hayes., G. Close., N. Muehlbauer., M. Stein., and R. Waugh. 2011.** Patterns of polymorphism and linkage disequilibrium in cultivated barley. *Theor Apple Genet*, 122: 523-531
- Dadras, A. R. 2012.** Evaluation of genetic diversity of tobacco (*Nicotianatabacum L*) cultivars using AFLP molecular markers. Iran shahid bahonar University of Kerman. M. Sc. Thesis. Plant Breeding .
- Evanno, G., E. Reganut., and J. Goudet. 2005.** Detecting the number of clustets of individuals using the software STRUCTURE a simulation study. *Molecular Ecologie*, 14: 2611-2620
- Gebhardt, C., A. Ballvora., B. Walkemeier., P. Oberhagemann., and K. Schuler. 2004.** Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association. A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late bligh and maturity type. *Molecular Breeding*, 13:93-102
- Julio, E. J., L. Verrier., and F. Dorlhac de Borne. 2006.** Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum L*. *Theoretical and Applied Genetics*, 112: 335-346
- Martinez, L., P. Caragnaro., R. Masuekki., and J. Rodriguez. 2003.** Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera L.*) varieties using morphological data and AFLP markers. *Journal of Biotechnology*, 6: 241-250
- Mcharo, M., D. R. Labonte., J. H. Oard., S. J. Kays., and W. J. Mclaurin. 2004.** Linking quantitative traits with AFLP markers in sweet potatoes using discriminate analysis. *Acta Hort*, 637:285-293.
- Mezaka, L., M. Bleidere., L. Legzdina., and N. Rostoks. 2011.** Whole genome association mapping identifies naked grain locus NUD as determinant of β -glucan content in barley. *Zemdirbyste Agriculture*, 98(3): 283-292.
- Mohammadi, A. 2006.** Molecular analysis from viewpoint investigate of genetic variation. The 9th Iranian crop sciences congress.
- Murray, M. G., and W. F. Thompson. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *NuclAcid Res*, 8: 4321-4335.
- Mwamburi, M. T. 2005.** Associating molecular markers which phenotypes in sweet potatoes and liriopogons using multivariate statistical modeling. PhD dissertation Louisiana State Univ.
- Naghavi, M. R., M. Mardi., H. A. Ramshini., And B. Fazelinasab. 2004.** Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2: 195 – 202.
- Orabi, J., G. Backes., B. Tekle., A. Wolday., A. Yahyaoui., and A. Jahoor. 2004.** In situ conservation of genetic diversity at small- scale farmer in Eritrea. *International Barley Genetic Symposium*, Brno, Czech Republic, pp: 20-26.
- Pharsi, A., and A. Bagheri. 2009.** Principles of Plant Breeding. Mashhad JahadDaneshgahi press, 368 PP.

- Pritchard, J. K., M. Stephens., N. A. Rosenberg., and P. Donnelly. 2000.** Association mapping in structured populations. *The American Society of Human Genetics*, 67: 170-181.
- Rashedimonfared, S., M. Mardi., A. Hoseinzadeh., And M. R. Taghave. 2008.** Association analysis among important traits and retrotransposons SSAP markers in typs drum wheat (*Triticumturgidum SP. Turgidum L. Conv. Drum*). *Journal of modern genetics*, 3(2):29-35.
- Reddy, M. P., N. Sarla., and E. A. Siddiq. 2002.** Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128:9-12.
- Roldan-Ruiz, F. A., T. J. Gilliland., P. Dubreuil., C.Dillmann., and J. Lallemand. 2001.** A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Loliumperenne L.*) varieties. *Theor. Appl. Genet*, 103: 1138-1150.
- Roy, J. K., R. Bandopadhyay., S. Rustgi., S. H. Balyan., and P. K. Gupta. 2006.** Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in breadwheat. *Current Science*, 5: 683-689.
- Spataro, G., B. Tiranti.,P. Arcaleni., E. Bellucci., G. Attene., R. Rapa.,P.SpagnolettiZeuli., and V. Negri. 2011.** Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseoluscoccineus L.* *Theoretical and Applied Genetics*, 122: 1281-1291.
- Zhang, J.V., X. H. Yang., X. Yu Ya., Z. He.,Z. Wei.,Y.Lide., and H. S.Zhao. 2009.** Study on genetic relationship of Yunnan Naked barley by SSR markers. *Journal of Triticeae Crops*, 2009-01 (In Chinese with English abstract).
- Yang, X., J. Yan., T. Shah., M. L. Warburton., Q. Li., L. Li., Y. Gao., Y. Chai., Z. Fu., Y. Zhou., S. Xu., G. Bai., Y. Meng., Y. Zheng., and J. Li. 2010.** Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. *TheorAppl Genet*, 121(3): 417-431.

analysis of Association among ISSR Markers and Important Traits in Different Soybean Cultivars by Regression Method

Z. Malekmohamadi*¹, H. Sabori², A. Beyabani³, E. Hezarjaribi⁴, A. R. Dadras

Received date: 31 May 2018

Accepted date: 14 October 2018

Abstract

One of the big advances in identifying markers is the identification of continuous markers with agronomic traits, as well as the value of markers in the analysis of heritability of traits in crops is specified. In this study was assessed, the relationship between agronomic traits and molecular marker ISSR in different genotypes of soybean. The genetic diversity of different genotypes of soybean by using the 10 ISSR primer showed that among 68 amplified fragments of cultivars were generated, 34 fragments were polymorphic. PIC values varied between 0.147 to 0.058 for primers. Maximum level of marker index obtained for primer PRI-6 with value of 8.39 which indicating a higher resolution of this primer than the other. Association analysis was performed using structure matrix and statistical models of GLM and MLM by using TASSEL software for 21 variables. The MLM model in 5 percent probability level identified 6 markers related to evaluated traits. According to the results of Association analysis the highest of coefficient determination was for ISSR9-2 with 0.21 percent explanation of variation of number main branch. A total of, due to the high genetic diversity statistics, the ISSR10-1, ISSR2-3 and ISSR2-4 markers can be used to other breeding programs

Keyword: Marker Index, Coefficient of determination, Polymorphism information content, higher resolution, breeding programs

1- MSc Student of Biotechnology. College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University

2-3 Associated prof of college of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Respective

4- Agricultural and Natural Research Center of Golestan Province

5- Research Assistant Professor of Crop and Horticulture Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resource Research

* Corresponding Author: malekmohamadi.zahra@yahoo.com