

## شناسایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفات زراعی مهم در کینوا (*Chenopodium quinoa*, Willd)

ابراهیم سوری لکی<sup>۱</sup>، بابک ربیعی<sup>۲\*</sup>، سید حسن مرعشی<sup>۳</sup>، وحید جوکارفرد<sup>۴</sup> و آندریاس برنر<sup>۵</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۴)

### چکیده

در این تحقیق، تعداد ۵۰ ژنوتیپ کینوا با استفاده از ۴۰ جفت نشانگر ریزماهواره (SSR) بررسی شد تا ضمن شناسایی ژنوتیپ‌های برتر از نظر عملکرد دانه و اجزای موثر بر آن، نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه نیز با استفاده از روش تجزیه ارتباطی شناسایی و معرفی شوند. مطالعه صفات عملکرد دانه و اجزای موثر بر آن نشان داد که صفات روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، طول خوشه، تعداد خوشه در بوته و وزن هزار دانه مهم‌ترین صفات موثر بر عملکرد دانه بودند که در نهایت ژنوتیپ‌های ۱، ۳۲ و ۴۹ از نظر این صفات به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر معرفی شدند. مطالعه ساختار جمعیت با استفاده از نرم‌افزار Structure دو زیر گروه احتمالی ( $K=2$ ) را در جمعیت مورد مطالعه نشان داد و نتایج حاصل از بارپلات نیز آن را تأیید کرد. نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) و مدل خطی مخلوط (MLM) تعداد ۴۹، ۵۳ (GLM) و تعداد ۴۸، ۵۲ (MLM) ارتباط نشانگر- صفت معنی‌دار را به ترتیب برای سال اول (۱۳۹۸) و دوم (۱۳۹۹) شناسایی کرد. از بین روابط نشانگر- صفت معنی‌دار شناسایی شده برای صفات مختلف، بیشترین تعداد ارتباط معنی‌دار برای صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه به ترتیب با شش و پنج ارتباط شناسایی شد. در مجموع بر اساس نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی تعداد ۱۲ نشانگر پیوسته و دارای ارتباط معنی‌دار با صفات ارزیابی شده طی هر دو سال شناسایی شد و بنابراین می‌توان از این نشانگرها به‌عنوان نشانگرهای ثابت و پایدار در برنامه‌های مختلف به‌نژادی کینوا استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباطی، تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت، ارتباط نشانگر- صفت

۱، ۲ و ۴. به ترتیب دانش آموخته دکتری، استاد و دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۳. استاد، گروه آموزشی بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

۵. استاد، گروه بانک ژن، مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی لاینیز (آی.پی.کی.)، لاینیز، آلمان.

\*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: rabiei@guilan.ac.ir

## مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa*, Willd) از خانواده اسفناج، با قدمتی بیش از ۵۰۰۰ سال، بومی منطقه آند در بولیوی، شیلی و پرو است. نزدیکترین گونه‌های مرتبط *C. berlandieri* و *C. hircinum* هستند (۱۷). این گیاه از لحاظ ژنتیکی گیاهی آلوتراپلوئید ( $2n = 4x = 36$ ) است که در بیش‌تر صفات کیفی رفتار دیپلوئیدی از خود نشان می‌دهد. اگرچه کینوا یک گونه خودگرده‌افشان است، اما ممکن است در پاسخ به گلدهی و تلاقی دانه‌های گرده، ۱۷-۱۰ درصد دگرگرده‌افشانی در آن رخ دهد (۲۴). گیاه کینوا به رشد در شرایط آب و هوایی دشوار معروف است و مقاوم به تنش‌های خشکی، شوری و سرما است. عملکرد بالقوه کینوا بسته به نوع رقم و شرایط محیطی منطقه کشت ۶-۲ تن در هکتار گزارش شده است (۸). حداکثر عملکرد دانه آن در هر بوته ۲۵۰ گرم است. همچنین، قطر ساقه، ارتفاع بوته، طول و قطر دانه در ارقام مختلف آن متفاوت است (۲۳). چرخه تولید و طول دوره رشد کینوا با طول روز مرتبط است و مدت زمان آن ۲۴۰-۱۲۰ روز است، درحالی‌که برخی از ارقام ۹۰ روز پس از کاشت به بلوغ فیزیولوژیک می‌رسند (۱۰).

با توجه به اهمیت گیاه کینوا، تجزیه و تحلیل صفات پیشرفته در تحقیقات آن بسیار مهم است. در حال حاضر کینوا در آغاز توسعه بهره‌وری است. با وجود ارزش تغذیه‌ای و محتوای ساپونین، مهم‌ترین ویژگی‌های تجاری دانه‌های کینوا، عملکرد، میزان پروتئین و درصد ساپونین هستند که جزو صفات کمی هستند (۹). اگرچه اطلاعات کمی در رابطه با ساختار ژنتیکی صفات مهم و به‌ویژه صفات کمی وجود دارد ولی در حال حاضر به‌منظور پی بردن به ماهیت ژنتیکی صفات کمی، روش‌های مختلف ژنومیکس، امکان کالبد شکافی دقیق آن‌ها را فراهم می‌کنند. از جمله این روش‌ها می‌توان به نقشه‌یابی پیوستگی (mapping Linkage) و تجزیه ارتباطی (Association analysis) یا نقشه‌یابی عدم تعادل پیوستگی اشاره کرد که اکثراً جهت فهم ارتباط بین یک ژنوتیپ و یک

فنوتیپ خاص مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه موفقیت نقشه‌یابی پیوستگی در شناسایی QTL ها برای صفات متعدد و در بسیاری از گونه‌ها به اثبات رسیده است، ولی با توجه به اینکه ناحیه شناسایی شده بیشتر از چند سانتی‌مورگان و شامل صدها ژن می‌باشد، شناسایی QTL های مناسب را با مشکل مواجه می‌سازد. همچنین تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی مانند لاین‌های اینبرد نوترکیب (RILs) از طریق تلاقی‌های کنترل شده و سپس چندین نسل خودگشتی زمان بر بوده و این نیز خود یکی دیگر از محدودیت‌های استفاده از نقشه‌های پیوستگی می‌باشد (۱۴). نقشه‌یابی ارتباطی به‌عنوان یک روش جایگزین و یا مکمل جهت شناسایی ارتباط بین نشانگر و صفت، دارای مزایای زیادی نسبت به نقشه‌یابی QTL است که از آن جمله می‌توان به افزایش وضوح QTL، استفاده از ژرم‌پلاسم طبیعی و افزایش پوشش آلی اشاره کرد (۲۶).

موگان و همکاران (۱۵) اولین نقشه پیوستگی ژنتیکی کینوا را بر اساس ۲۳۰ نشانگر AFLP، ۱۹ نشانگر ریزوماهواره و ۶ نشانگر RAPD تهیه کردند. این نقشه حاوی ۳۵ گروه لینکاژی به طول ۱۰۲۰ cM بود و میانگین فاصله بین نشانگرها ۴ cM به‌دست آمد. نتایج آن‌ها نشان داد که از بین نشانگرهای استفاده شده (AFLP، RAPD و SSR) نشانگرهای SSR هتروزیگوسیتی بالاتری نسبت به دیگر نشانگرهای استفاده شده نشان دادند که می‌توان از آن‌ها در نقشه‌یابی ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی کینوا بهره برد.

جارویس و همکاران (۱۳) در جهت توسعه نشانگرهای SSR و تهیه نقشه لینکاژی کینوا از تعداد ۲۱۶ نشانگر SSR استفاده کردند. ارزش هتروزیگوسیتی این نشانگرها به‌طور متوسط ۵۷٪ برآورد شد. این نقشه شامل ۳۸ گروه لینکاژی به طول ۹۱۳ cM بود. رودریگز و همکاران (۲۲) تنوع ژنتیکی بین ۲۰ ژنوتیپ کینوا را با استفاده از ۲۰ صفت مورفولوژیک و نشانگرهای AFLP مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که نتایج حاصل از نشانگرهای AFLP با نتایج حاصل از صفات مورفولوژیک مهمی چون رنگ دانه، رنگ پانیکل،

هکتار اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه آماره‌های توصیفی از نرم افزار Minitab ver.16 استفاده شد.

جهت مطالعات آزمایشگاهی که شامل استخراج DNA و تکثیر نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه با استفاده از نشانگرهای مولکولی بود، اقدامات زیر صورت گرفت:

DNA ژنومی از بافت برگ‌های جوان در مرحله ۳-۴ برگی با استفاده از روش CTAB (۵) استخراج و کمیت و کیفیت DNA استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد و همچنین با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری تعیین شد. سپس تکثیر DNA با استفاده از ۴۰ جفت نشانگر SSR (جدول ضمیمه ۱)، انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شده و فرآورده‌های PCR روی ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید ۶٪ توسط دستگاه الکتروفورز عمودی تفکیک شدند. رنگ‌آمیزی ژل‌ها نیز با استفاده از روش نیترات نقره انجام شده و نهایتاً ژل‌ها عکس‌برداری و با توجه به نوارهای ایجاد شده اسکوردهی شد. تمام آزمایشات مولکولی در آزمایشگاه ژنومیکس دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد.

برای تجزیه ساختار جمعیت، ابتدا براساس روش بیزین (۲۱) و با استفاده از نرم‌افزار Structure، تعداد زیر جمعیت‌های احتمالی موجود در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه (K) تخمین زده شد. جهت مطابقت دادن نتایج با یکدیگر و اطمینان از برآورد صحیح پارامترها ۷ تکرار مستقل برای هر یک از زیر جمعیت‌ها لحاظ شد. در این آزمایش مقدار اولیه K از ۱ تا ۱۰ در نظر گرفته شد. برای تعیین بهترین تعداد زیر جمعیت موجود از روش ایوانو و همکاران (۷) استفاده شد. در نهایت به منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مورد نظر و ارزیابی پایداری آن‌ها، تجزیه ارتباطی براساس مدل‌های خطی عمومی (GLM) (مبتنی بر ماتریس Q) و خطی مخلوط (MLM) (مبتنی بر ماتریس Q و K) با استفاده از داده‌های فنوتیپی حاصل از سال اول (۱۳۹۹) و سال دوم (۱۴۰۰) با استفاده از نرم افزار TASSEL 5.0 انجام گرفت (۲).

فنولوژی و توزیع جغرافیایی ژنوتیپ‌ها همبستگی بالایی دارند. ال‌هارتی و همکاران (۶) در تحقیقی تنوع ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ کینوا را براساس ۱۷ صفت کیفی و ۱۱ صفت کمی ارزیابی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌های کینوا از نظر صفات بررسی شده تنوع قابل توجهی وجود داشت. براساس نتایج حاصل از تجزیه مولکولی، ژنوتیپ‌های با منشاء امریکای جنوبی میانگین مقادیر بالاتری نسبت به شاخص‌های بررسی تنوع ژنتیکی از جمله میانگین تعداد آلل‌ها، شاخص شانون (۰/۴۱)، تنوع ژنی (۰/۲۷) و درصد چندشکلی (۸۳/۹) ارایه کردند.

علی‌رغم اهمیت کینوا به دلیل تحمل بالای آن در مقابل تنش‌های محیطی از جمله خشکی و شوری و قابلیت کاشت آن در مناطق مختلف کشور و همچنین استفاده از کیفیت و ارزش غذایی بالای آن، تاکنون در ایران هیچ پژوهشی در زمینه تجزیه ارتباطی صورت نگرفته است. به این دلیل، تحقیق حاضر با هدف، شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد به منظور استفاده در پژوهش‌های بعدی از جمله شناسایی و معرفی ژنوتیپ‌های پرمحصول و پایدار انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد ۵۰ ژنوتیپ کینوا (جدول ۱) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در استان لرستان (شهرستان کوه‌دشت) به مدت دو سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر ژنوتیپ در سه خط ۶ متری با فاصله خطوط ۳۵ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در عمق دو سانتی‌متری، به صورت دستی کشت شد. در طول فصل رشد، اندازه‌گیری و یادداشت‌برداری صفات مختلف انجام شد. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه، محصول هر کرت بعد از حذف حاشیه‌ها برداشت شده و سپس با کمابین آزمایشگاهی مدل Sampo خرم‌نکوبی و سپس میزان دانه تولیدی توزین و در نهایت عملکرد دانه بر حسب کیلوگرم در

جدول ۱. مشخصات ژنوتیپ‌های کینوا مورد مطالعه

ردیف	ژنوتیپ	شناسه	منشا	ردیف	ژنوتیپ	شناسه	منشا
1	CHEN542	D10180	Peru	26	CHEN175	D9354	Bolivi
2	CHEN285	D9773	Peru	27	CHEN491	D9979	Bolivi
3	CHEN353	D9844	Peru	28	CHEN651	D11995	Bolivi
4	CHEN545	D11891	Peru	29	CHEN672	D12016	Bolivi
5	CHEN585	D12240	Peru	30	CHEN654	D11998	Bolivi
6	CHEN597	D11939	Peru	31	CHEN653	D11997	Bolivi
7	CHEN335	D9826	Peru	32	CHEN680	D12024	Bolivi
8	CHEN347	D9838	Peru	33	CHEN243	D9466	Bolivi
9	CHEN250	D9486	Peru	34	CHEN178	D9357	Bolivi
10	CHEN315	D9810	Peru	35	CHEN249	D9484	Bolivi
11	CHEN360	D9851	Peru	36	CHEN144	D9372	Bolivi
12	CHEN395	D9883	Peru	37	CHEN129	D9323	Bolivi
13	CHEN438	D9925	Peru	38	CHEN195	D9406	Bolivi
14	CHEN470	D9958	Peru	39	CHEN308	D9801	Bolivi
15	CHEN439	D9926	Peru	40	CHEN138	D9366	Bolivi
16	CHEN542	D10180	Peru	41	CHEN158	D9377	Bolivi
17	CHEN469	D9957	Peru	42	CHEN160	D9375	Bolivi
18	CHEN338	D9829	Peru	43	CHEN222	D9441	Bolivi
19	CHEN444	D9931	Peru	44	CHEN128	D9320	Bolivi
20	CHEN495	D9983	Peru	45	CHEN290	D9778	Bolivi
21	CHEN520	D10009	Peru	46	CHEN227	D9447	Bolivi
22	CHEN429	D9917	Peru	47	CHEN238	D9460	Bolivi
23	CHEN500	D9989	Peru	48	CHEN233	D9453	Bolivi
24	CHEN613	D11957	Peru	49	CHEN310	D9804	Bolivi
25	CHEN555	D11902	Peru	50	CHEN152	D9383	Bolivi

## نتایج و بحث

به منظور تجزیه و تحلیل توصیفی صفات مورد ارزیابی و همچنین داشتن یک دید کلی از محدوده آماره‌های توصیفی صفات آماره‌ها به مدت دو سال زراعی ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۲).

با توجه به این که ضریب تغییرات ژنوتیپی صفات بررسی شده زیر ۲۰ می‌باشد آزمایش از دقت قابل قبولی برخوردار بوده است. در این میان صفات ارتفاع بوته و روز تا تشکیل گل‌آذین به ترتیب با ۱۷/۶ و ۱۶/۶ بالاترین ضریب تغییرات ژنوتیپی و صفات درصد پروتئین و شاخص برداشت به ترتیب با مقدار

۸/۶۸ و ۹/۷۲ کمترین مقدار را دارا بودند (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین صفات عملکرد و اجزای آن در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که از نظر صفت روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی، ژنوتیپ ۱۶ و ۲۷ به ترتیب با ۹۶ و ۱۴۷ روز زودرس و دیررس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. از نظر طول خوشه اصلی، ژنوتیپ‌های شماره ۴۹ و ۳۲ به ترتیب با میانگین ۲۴/۷ و ۲۴/۳ سانتی‌متر دارای بیشترین و ژنوتیپ شماره ۲۹ با میانگین ۱۲ سانتی‌متر دارای کمترین طول خوشه بودند (جدول ضمیمه ۲). همچنین نتایج ضرایب همبستگی نشان داد که بین صفت طول خوشه و عملکرد دانه رابطه مثبت

جدول ۲. آماره‌های توصیفی صفات ارزیابی شده در پژوهش

صفات	میانگین	حداکثر	حداقل	انحراف معیار	ضریب تغییرات ژنوتیپی (درصد)
روز تا سه برگی	۱۱/۵	۱۵/۳	۸/۲۵	۱/۶۴	۱۴/۲
روز تا تشکیل گل آذین	۴۱/۱	۵۷/۶	۳۰/۳	۶/۸۴	۱۶/۶
روز تا رنگی شدن گل آذین	۴۸/۶	۷۶/۷	۳۴/۲	۷/۴۹	۱۵/۶
روز تا گرده افشانی	۵۸/۵	۸۶/۳	۴۰/۴	۸/۵۹	۱۴/۶
روز تا شیرینی شدن	۷۰/۵	۹۸/۴	۵۲/۵	۸/۴۵	۱۱/۹
روز تا خمیری شدن	۸۲/۵	۱۱۰	۶۴/۶	۸/۲۳	۹/۹۶
روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	۱۱۷/۷	۱۴۷	۹۶/۰	۱۴/۶	۱۲/۴
ارتفاع بوته (سانتی متر)	۸۶/۲	۱۴۳	۶۵/۸	۱۵/۲	۱۷/۷
طول خوشه اصلی (سانتی متر)	۲۱/۲	۲۴/۷	۱۲/۰	۲/۴۸	۱۱/۷
تعداد خوشه	۱۴/۵	۱۷/۷	۱۱/۳	۱/۶۹	۱۱/۶
وزن هزاردانه (گرم)	۲/۸۶	۲/۶۶	۱/۱۳	۰/۲۸	۹/۷۹
سپونین دانه (درصد)	۲/۱۲	۳/۴۵	۱/۶۵	۰/۳۴	۱۶/۱
درصد پروتئین	۱۸/۵	۲۱/۶	۱۵/۳	۱/۶۱	۸/۶۸
عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)	۲۲۷۲	۳۰۴۹	۱۳۴۸	۳۵۰	۱۵/۴
شاخص برداشت (درصد)	۲۸/۴	۳۶/۴	۱۹/۶	۴/۱۱	۹/۷۲

و بسیار معنی داری (۰/۷۶) وجود داشت (جدول ضمیمه ۳). بهار او و همکاران (۱) ارتباط مثبت و معنی داری بین طول خوشه و عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های کینوا گزارش کردند، به طوری که هر چقدر طول خوشه ژنوتیپ‌ها بلندتر بود، از عملکرد دانه بالاتری نیز برخوردار بودند. به این ترتیب، در اصلاح کینوا به منظور بهبود عملکرد دانه، استفاده از ژنوتیپ‌های با طول خوشه بیشتر توصیه می‌شود (۹).

از نظر تعداد خوشه در بوته، ژنوتیپ‌های شماره ۴۹، ۳۲ و ۶ به ترتیب با میانگین ۱۷/۷، ۱۷/۱ و ۱۷ خوشه، بیشترین و ژنوتیپ‌های ۲۹ و ۴۸ به ترتیب با ۱۱/۳ و ۱۲ خوشه، کمترین تعداد خوشه را در بین همه ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ضمیمه ۲). همچنین نتایج ضرایب همبستگی این تحقیق نشان داد که ارتباط مثبت و معنی داری بین تعداد خوشه در بوته و عملکرد دانه (۰/۶۷۷) وجود داشت، به طوری که ژنوتیپ‌های با تعداد خوشه بیشتر، دارای عملکرد دانه بالاتری نیز بودند (جدول ضمیمه ۳).

همانند نتایج این تحقیق، در آزمایش‌های دیگری نیز وجود ارتباط مثبت و معنی دار بین تعداد خوشه در بوته و عملکرد دانه در کینوا گزارش شده است (۴). برای صفت درصد پروتئین دانه نیز ژنوتیپ‌های شماره ۴۹ و ۳۲، با میانگین بیش از ۲۱ درصد و ژنوتیپ‌های شماره ۱۱، ۱۹، ۲۷، ۲۹ و ۴۸ با میانگین کم‌تر از ۱۷ درصد بیشترین و کمترین میزان پروتئین دانه را دارا بودند. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر وزن هزار دانه نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۳۲ و ۴۹ به ترتیب با میانگین ۲/۶۶، ۲/۵۳ و ۲/۵۰ گرم دارای بیشترین و ژنوتیپ شماره ۲۹ با ۱/۱۳ گرم دارای کمترین وزن هزار دانه بودند (جدول ضمیمه ۲). نتایج ضرایب همبستگی نیز نشان داد همبستگی مثبت و بسیار معنی-داری بین وزن هزار دانه و عملکرد دانه (۰/۹۴) وجود داشت، به طوری که ژنوتیپ‌های با وزن هزار دانه بیشتر دارای عملکرد دانه بالاتری بودند (جدول ضمیمه ۳). نتایج مطالعات دیگران نیز نشان داده است که رابطه مثبت و معنی داری بین وزن هزار دانه و

اعتماد باشد. در صورتی که اثر ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در تجزیه ارتباط در نظر گرفته نشوند، نتایج مثبت کاذب به وجود خواهد آمد (۳). بنابراین در نقشه‌یابی ارتباطی با آگاهی از ساختار جمعیت می‌توان از شناسایی ارتباطات مثبت کاذب بین نشانگرها و صفات جلوگیری کرد (۲۰). لذا برای این منظور، در این تحقیق مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE4.0 انجام شد.

نتایج حاصل از نرم‌افزار STRUCTURE، دو زیر جمعیت احتمالی ( $K=2$ ) را براساس روش ایوانو و همکاران (۷)، برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شناسایی کرد که به‌عنوان  $K$  مطلوب در برآورد ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس  $Q$ ) در نظر گرفته شد (شکل ۱). 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 صورتی که درصد عضویت کم‌تر از ۰/۷ باشد به‌عنوان ژنوتیپ با ساختار مخلوط در نظر گرفته می‌شود. بر اساس نتایج ارایه شده در بارپلات، ۵۰ ژنوتیپ کینوا مطالعه شده در این پژوهش، ۲۵ ژنوتیپ زیر ساختار اول (قرمز)، ۱۹ ژنوتیپ زیر ساختار دوم (سبز) و ۶ ژنوتیپ زیر ساختار مخلوط (در هیچ کدام از ساختارهای اول و دوم قرار نگرفتند) داشتند. محور عمودی بارپلات، ضریب تعلق هر ژنوتیپ را به ساختارها نشان می‌دهد (شکل ۲). الهارتی و همکاران (۶) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE2.3.4 ساختار ۳۲ ژنوتیپ کینوا را بررسی کردند و برای این ژنوتیپ‌ها، دو زیرجمعیت احتمالی ( $K=2$ ) شناسایی کردند. در پژوهش آنها، ۳۲ ژنوتیپ در دو خوشه اصلی و مخلوط به‌صورت: خوشه اول شامل ۱۳ ژنوتیپ (۴۱ درصد)، ۸ ژنوتیپ (۲۵ درصد) در خوشه دوم و ۱۱ ژنوتیپ (۳۴ درصد) ساختار مخلوط داشتند.

#### تجزیه ارتباطی صفات مورد مطالعه به وسیله مدل‌های GLM

#### و MLM

چالش اصلی در تجزیه و تحلیل ارتباطی، شناسایی روابط واقعی

طول دوره رشد کینوا با عملکرد دانه آن وجود دارد، بدین معنی که ژنوتیپ‌های با طول دوره رشد طولانی‌تر، به دلیل وجود زمان بیشتر برای ذخیره مواد پرورده، از وزن هزار دانه و عملکرد دانه بیش‌تری نیز برخوردار بودند (۱ و ۱۱).

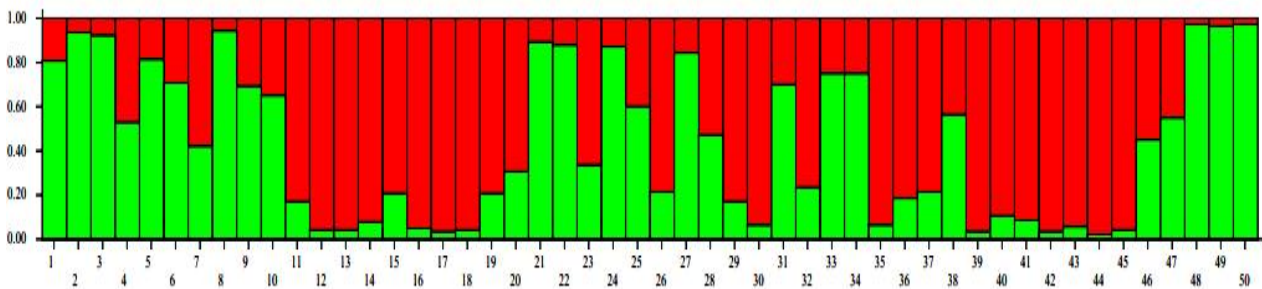
نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۳۲ و ۴۹ با میانگین عملکرد دانه بیش از ۲۹۰۰ کیلوگرم در هکتار در هر دو سال اجرای آزمایش، بیشترین میزان دانه را تولید کردند. از بین این ژنوتیپ‌ها، بیشترین مقدار عملکرد دانه را ژنوتیپ شماره ۱ به‌خود اختصاص داد، به‌طوری‌که این ژنوتیپ با ۳۰۴۹ کیلوگرم در هکتار دارای بالاترین میزان عملکرد دانه بود. در مقابل، کمترین میزان عملکرد دانه مربوط به ژنوتیپ شماره ۲۹ با ۱۳۴۸ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ضمیمه ۲). با توجه به نتایجی که بیان شد، می‌توان ۳ ژنوتیپ ۱، ۳۲ و ۴۹ را به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر از نظر عملکرد و اجزای موثر بر عملکرد معرفی کرد. جاکوبسن (۱۲)، پلا و همکاران (۱۹) در پژوهش‌های مشابهی روی کینوا، سطح بالایی از تنوع را برای بسیاری از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گزارش کردند.

#### ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی

به‌منظور بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی ۵۰ ژنوتیپ مختلف کینوا از ۴۰ جفت نشانگر SSR با توزیع و پوشش ژنومی مناسب استفاده شد (جدول ضمیمه ۱). در مجموع ۱۸۱ آلل توسط مارکرهای استفاده شده تکثیر شد که از این تعداد سهم آلل‌های چند شکل ۱۷۶ آلل (۹۷ درصد) بود. در مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت که برای توضیح روابط افراد در درون و بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود، چشم‌اندازی از روابط تکاملی افراد در یک جمعیت را ارایه می‌دهد. همچنین در مطالعات تجزیه ارتباطی در حالت ایده‌آل نباید ساختاری در جمعیت مورد مطالعه وجود داشته باشد، یعنی جمعیت نباید خود به لحاظ ساختاری به زیرگروه‌ها تقسیم شود، زیرا وجود ساختار در جمعیت مورد مطالعه می‌تواند عامل بازدارنده در جهت دست‌یابی به نتایج قابل



شکل ۱. نمودارهای دوسویه برای تعیین تعداد مناسب زیرجمعیت در ۵۰ ژنوتیپ کینوا مورد مطالعه (K=2) با نشانگرهای ریزماهواره



شکل ۲. تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل Bayesian برای ۵۰ ژنوتیپ کینوا مورد مطالعه بر اساس ۴۰ مکان ریزماهواره (K=2) هر رنگ یک

زیرجمعیت یا کلاستر را نشان می‌دهد. محور عمودی ضریب تعلق هر فرد به هر کلاستر را نشان می‌دهد.

درصد متغیر بود. بیشترین مقدار  $R^2$  در مدل GLM به ارتباط نشانگر ۱ با عملکرد دانه و در مدل MLM به ارتباط نشانگر ۱۲ با صفت وزن هزار دانه تعلق داشت. از این رو دو نشانگر ذکر شده، نشانگرهای مفید و کارآمدی جهت شناسایی ژن‌های کدکننده صفات مطلوب هستند و جهت توالی‌یابی ژنومی می‌توان روی آن‌ها متمرکز شد و همچنین نشانگرهای بسیار قابل اعتمادی هستند که می‌توان جهت اصلاح عملکرد دانه و اجزای آن از طریق روش‌های مبتنی بر نشانگر مورد استفاده قرار گیرند (جدول ۳).

لازم به ذکر است که برخی از مکان‌های مرتبط با برخی صفات فقط از طریق مدل GLM (مانند ارتباط نشانگرهای ۱۶ با روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی، ۲۵ با تعداد خوشه، ۳۶ با طول خوشه، ۲ با وزن هزار دانه و ۲۴ با شاخص برداشت) و برخی دیگر فقط از طریق مدل MLM (مانند ارتباط نشانگرهای ۴ با روز تا تشکیل گل‌آذین، ۱۵ با روز تا گرده‌افشانی و ۳۷ با درصد ساپونین دانه شناسایی شدند و ارتباط بقیه مکان‌ها از طریق هر دو مدل GLM و MLM استفاده شده در پژوهش تایید شد. با توجه به این نتایج می‌توان عنوان کرد که تفاوت در تعداد و نوع

بین نشانگرها و صفات از روابط ناصحیح، با توجه به ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی است که البته اثر روابط خویشاوندی در ارایه نتایج مثبت کاذب بیشتر از ساختار جمعیت است. به منظور ارزیابی پایداری پیوستگی نشانگرهای شناسایی شده در سال‌های مختلف و همچنین مقایسه نشانگرهای شناسایی شده پیوسته با صفات در سال اول با سال دوم و استفاده از آن‌ها به عنوان نشانگرهای پیوسته و مستقل از اثرات محیطی در برنامه‌های مختلف به‌نژادی، تجزیه ارتباطی بر مبنای داده‌های فنوتیپی سال دوم با استفاده از مدل GLM و MLM صورت گرفت.

نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی بر مبنای داده‌های فنوتیپی سال اول (۱۳۹۹) بر اساس مدل‌های GLM و MLM نشان داد که نشانگرهای استفاده شده در این پژوهش به ترتیب ۴۹ (GLM) و ۴۸ (MLM) ارتباط معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) با صفات مورد ارزیابی را نشان دادند.  $R^2$  درصد تغییرپذیری صفات که توسط نشانگرها توجیه می‌شوند را نشان می‌دهد. میزان  $R^2$  برای صفات بررسی شده در سال اول (۱۳۹۹) به ترتیب برای مدل GLM از ۰/۰۶ تا ۰/۳۳ و برای مدل MLM از ۰/۰۴ تا ۰/۲۹

جدول ۳. نتایج تجزیه ارتباطی بین نشانگرهای SSR و صفات مرتبط با عملکرد و اجزای آن در سال ۱۳۹۹

مدل MLM		مدل GLM		شماره نشانگر	صفت
P-value	R <sup>2</sup>	P-value	R <sup>2</sup>		
۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۱۸	۱۰	روز تا سه برگی
۰/۰۲	۰/۱۹	۰/۰۱	۰/۲۲	۶	
۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۶	۳	
۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۱۴	۰/۰۶	۴	روز تا تشکیل گل آذین
۰/۰۱	۰/۱۷	۰/۰۱	۰/۲۱	۸	
۰/۰۱	۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۱۸	۴	روز تا رنگی شدن گل آذین
۰/۰۳	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۱۴	۷	
۰/۰۲	۰/۲۰	۰/۰۱	۰/۲۵	۱۳	
۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۱۵	۸	روز تا گرده افشانی
۰/۰۴	۰/۱۴	۰/۰۳	۰/۱۸	۹	روز تا شیرگی شدن
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۲۴	۲	
۰/۰۲	۰/۱۷	۰/۰۱	۰/۲۲	۱۵	
۰/۰۳	۰/۱۵	۰/۰۲	۰/۱۹	۱۷	روز تا خمیری شدن
۰/۰۳	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۱۵	۱۳	
۰/۰۲	۰/۱۵	۰/۰۲	۰/۱۷	۱۶	
۰/۰۱	۰/۱۹	۰/۰۱	۰/۲۱	۱۹	روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی
۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۸	۰/۰۷	۱۵	
۰/۱۲	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۱۷	۱۶	
۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۱۵	۱۷	ارتفاع بوته (سانتی متر)
۰/۰۳	۰/۱۷	۰/۰۳	۰/۱۸	۲۱	
۰/۰۱	۰/۲۰	۰/۰۱	۰/۲۴	۳۹	
۰/۰۱	۰/۱۹	۰/۰۲	۰/۲۱	۳۶	تعداد خوشه
۰/۰۱	۰/۱۹	۰/۰۲	۰/۲۰	۲۲	
۰/۰۹	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۱۶	۲۵	
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۲۵	۱۸	طول خوشه اصلی (سانتی متر)
۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۱۸	۲۰	
۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۱۷	۲۰	
۰/۰۱	۰/۱۹	۰/۰۱	۰/۲۲	۲۳	پروتئین دانه (درصد)
۰/۰۱	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۱۸	۲۴	
۰/۰۸	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۱۲	۳۶	
۰/۰۱	۰/۲۴	۰/۰۱	۰/۲۷	۳۵	پروتئین دانه (درصد)
۰/۰۲	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۲۳	۳۴	
۰/۰۴	۰/۱۷	۰/۰۳	۰/۱۸	۳۸	



ادامه جدول ۳.

مدل MLM		مدل GLM		شماره نشانگر	صفت
P-value	R <sup>2</sup>	P-value	R <sup>2</sup>		
۰/۰۵	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۱۸	۴۰	سپونین دانه (درصد)
۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۱۱	۳۷	
۰/۰۱	۰/۲۳	۰/۰۱	۰/۲۶	۲۶	
۰/۰۲	۰/۱۸	۰/۰۲	۰/۲۰	۲۴	
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۲۳	۲۲	وزن هزاردانه (گرم)
۰/۰۲	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۳۰	۱۲	
۰/۰۲	۰/۲۵	۰/۰۱	۰/۲۸	۵	
۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۰۲	۰/۲۱	۴	
۰/۰۷	۰/۱۱	۰/۰۵	۰/۱۴	۲	
۰/۰۱	۰/۲۷	۰/۰۱	۰/۳۳	۱	
۰/۰۲	۰/۲۵	۰/۰۱	۰/۲۸	۴	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
۰/۰۵	۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۲۷	۲۴	
۰/۰۳	۰/۱۹	۰/۰۳	۰/۲۱	۱۴	
۰/۰۳	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۱۷	۲۹	
۰/۰۲	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۱۵	۱۶	
۰/۰۲	۰/۱۷	۰/۰۱	۰/۲۰	۳۱	شاخص برداشت (درصد)
۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۱۷	۳۲	
۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۳	۰/۱۲	۴۰	
۰/۰۹	۰/۱۶	۰/۰۱	۰/۱۹	۲۴	

جدول ۴. لیست نشانگرهای مشترک برای صفات مختلف بررسی شده در این پژوهش (سال اول)

صفت	نشانگرهای مشترک
روز تا شیری شدن و درصد پروتئین	SSR2
روز تا تشکیل گل آذین، روز تا رنگی شدن گل آذین، وزن هزار دانه و عملکرد دانه	SSR4
روز تا رنگی شدن گل آذین و روز تا شیری شدن دانه	SSR7
روز تا گرده افشانی و روز تا خمیری شدن دانه	SSR13
روز تا شیری شدن دانه و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	SSR15
روز تا خمیری شدن دانه، روز تا رسیدگی فیزیولوژی و عملکرد دانه	SSR16
طول خوشه، درصد سپونین، عملکرد و شاخص برداشت	SSR24
ارتفاع بوته و طول خوشه	SSR36
درصد سپونین و شاخص برداشت	SSR40

MLM شناسایی کردند. از آنجایی که شناسایی نشانگرهای مشترک کمک شایانی به گزینش همزمان صفات در تحقیقات به نژادی می‌کند، اهمیت ویژه‌ای در نزد به‌نژادگران دارد (۲۵). براساس نتایج ارائه شده در جدول ۴ می‌توان نتیجه گرفت که ارتباط چند نشانگر با یک صفت خاص (مثلاً ارتباط نشانگرهای

مکان‌های شناسایی شده و مرتبط با صفات مورد مطالعه، ناشی از نوع اطلاعات ورودی مدل‌ها به‌منظور شناسایی ارتباطات نشانگر-صفت باشد. همچنین نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی تعدادی نشانگر مشترک را برای صفات مختلف با استفاده از دو مدل GLM و

مقاومت به سفیدک پودری و هفت مکان مرتبط با صفات روز تا گلدهی، روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، ارتفاع بوته و طول خوشه را بر روی کروموزوم Cq2A گزارش کردند.

نشانگرهای پیوسته و دارای ارتباط معنی‌دار با صفات مورد ارزیابی طی دو سال در جدول ۶ ارائه شده است. در این پژوهش، وجود نشانگرهای مشترک برای یک صفت خاص در سال‌های مختلف بررسی شده ممکن است حاکی از عدم وجود اثرات متقابل بین این نشانگرها با سال باشد، به نحوی که پیوستگی این نشانگرها با صفات مورد نظر تحت تأثیر اثر سال قرار نمی‌گیرند. بنابراین می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های مختلف به‌نژادی کینوا به‌عنوان نشانگرهای پیوسته با صفات مدنظر و مستقل از سال استفاده کرد. با توجه به اینکه هدف نهایی اکثر برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی، افزایش عملکرد دانه می‌باشد، ممکن است ژن یا نواحی ژنومی مرتبط با عملکرد دانه یا اجزای آن در بروز حداکثر پتانسیل خود به عوامل محیطی تولید وابسته باشند. به عبارتی دیگر حصول یک عملکرد قابل قبول نتیجه تظاهر ژن‌ها به‌طور مستقل نبوده و در حقیقت برآیند عملکرد نواحی ژنومی مرتبط در محیط می‌باشد، بنابراین شناسایی چنین نواحی ژنومی پیوسته با صفات مهم مرتبط با عملکرد دانه و تعیین میزان پایداری پیوستگی آنها در محیط‌های مختلف می‌تواند از اهمیت خاصی برخوردار باشد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از روش GLM و MLM همراه با ترکیبی از نشانگرهای مختلف می‌تواند در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مهم زراعی در کینوا به‌ویژه عملکرد و اجزای آن مؤثر باشد. البته بهتر است جهت افزایش کارایی شناسایی نشانگرهای مرتبط، از نشانگرهای بیشتر مانند نشانگرهای SNP و ISSR در مطالعات تجزیه ارتباطی استفاده شود. همچنین لازم است نشانگرهای شناسایی شده در چنین مطالعاتی در جمعیت‌های بزرگ‌تری مورد بررسی قرار گیرد تا از ارتباط آنها با صفات مورد مطالعه اطمینان

۴ و ۷ با صفت روز تا تشکیل گل‌آذین یا ارتباط نشانگرهای ۴، ۱۶ و ۲۴ با عملکرد) حاکی از ماهیت وراثت کمی و چند ژنی صفات بررسی شده در این پژوهش داشت. از طرفی کم بودن مقدار ضریب تبیین ( $R^2$ ) برای اکثر نشانگرهای مرتبط نیز مؤید همین امر بوده و نشان‌دهنده بخش کمی از تغییرات این صفات از طریق مکان‌های شناسایی شده و بنابراین تأثیر بیش‌تر اثرات محیط (نسبت به اثرات ژنتیکی) روی تغییرات این صفات می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی برای داده‌های فنوتیپی سال دوم (۱۴۰۰) در مجموع براساس دو مدل GLM و MLM، ۱۰۵ ارتباط معنی‌دار بین نشانگر (مکان) با صفات مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد را شناسایی کرد، که از این تعداد به‌ترتیب ۵۳ ارتباط معنی‌دار به GLM و ۵۲ ارتباط معنی‌دار به MLM اختصاص یافت (جدول ۵). در سال دوم صفات عملکرد دانه با شش مکان و روز تا رنگی شدن گل‌آذین با یک مکان به‌ترتیب بیشترین و کمترین ارتباط معنی‌دار را با نشانگرهای استفاده شده در این پژوهش داشتند. میزان  $R^2$  برای صفات بررسی شده در سال دوم (۱۴۰۰) به‌ترتیب برای مدل GLM از ۰/۰۸ تا ۰/۳۶ و برای مدل MLM از ۰/۰۵ تا ۰/۳۱ درصد متغیر بود. ارتباط نشانگر ۳۵ با عملکرد دانه بیشترین مقدار  $R^2$  را در هر دو مدل GLM و MLM داشت و کمترین مقدار  $R^2$  در مدل GLM به ارتباط نشانگر ۲۵ با طول خوشه و در مدل MLM به ارتباط نشانگر ۶ با روز تا رنگی شدن گل‌آذین اختصاص یافت.

میزنو و همکاران (۱۶) به منظور بررسی ساختار جمعیت و بهبود نتایج و کاهش نتایج مثبت دروغین از مدل MLM در بررسی ۱۲ صفت فنوتیپی مانند طول ریشه، وزن هزاردانه، ارتفاع گیاه و قطر ساقه در کینوا استفاده کرده و نتایج دقیق‌تری نسبت به مدل‌های خطی منفرد K و Q گزارش کردند. پاتیرنج و همکاران (۱۸) با استفاده از روش مکان‌یابی ارتباطی، ارتباط بین ۱۰ مجموعه مارکر SNP با ۱۷ صفت کمی و کیفی در ۳۱۰ ژنوتیپ کینوا را بررسی کردند و ضمن تایید روش استفاده شده، ارتباط معنی‌دار دو مکان با صفت وزن هزار دانه و یک مکان با

جدول ۵. نتایج تجزیه ارتباطی بین نشانگرهای SSR و صفات مرتبط با عملکرد و اجزای آن در سال ۱۴۰۰

MLM		GLM		شماره نشانگر	صفت
P-value	R <sup>2</sup>	P-value	R <sup>2</sup>		
۰/۰۳	۰/۱۸	۰/۰۱	۰/۲۲	۱	روز تا سه برگی
۰/۰۲	۰/۱۵	۰/۰۳	۰/۱۶	۲	
۰/۰۱	۰/۱۳	۰/۰۳	۰/۱۵	۳	
۰/۰۱	۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۱۸	۴	روز تا تشکیل گل آذین
۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۱۶	۵	
۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۰۳	۰/۱۴	۴	روز تا رنگی شدن گل آذین
۰/۰۲	۰/۰۵	۰/۰۹	۰/۰۹	۶	
۰/۰۱	۰/۲۳	۰/۰۱	۰/۲۵	۷	روز تا گرده افشانی
۰/۰۲	۰/۱۷	۰/۰۳	۰/۱۹	۸	
۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۱۷	۹	
۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۰۲	۰/۲۴	۱۰	روز تا شیری شدن
۰/۰۳	۰/۲۰	۰/۰۳	۰/۲۱	۱۱	
۰/۰۱	۰/۱۲	۰/۰۵	۰/۱۴	۱۲	
۰/۰۱	۰/۱۶	۰/۰۱	۰/۲۰	۱۳	روز تا خمیری شدن
۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۰۳	۰/۱۵	۱۰	
۰/۰۳	۰/۰۶	۰/۰۸	۰/۰۸	۱۴	
۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۰۴	۰/۱۲	۱۵	روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی
۰/۰۲	۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۱۹	۱۶	
۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۰۳	۰/۱۶	۱۷	
۰/۰۴	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۳	۲	
۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۰۱	۰/۲۰	۱۸	ارتفاع بوته (سانتی متر)
۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۰۳	۰/۱۴	۱۹	
۰/۰۸	۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۱۹	۲۰	
۰/۰۳	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۱۶	۲۱	
۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۵	۲۲	تعداد خوشه
۰/۰۲	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۱۵	۲۳	
۰/۰۴	۰/۱۰	۰/۰۶	۰/۱۱	۲۴	
۰/۰۷	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۳	۱۶	
۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۰۸	۲۵	طول خوشه اصلی (سانتی متر)
۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۱۰	۲۶	
۰/۰۲	۰/۱۳	۰/۰۳	۰/۱۵	۲۴	
۰/۰۱	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۱۸	۲۷	
۰/۰۱	۰/۲۱	۰/۰۱	۰/۲۳	۲۸	درصد پروتئین (درصد)
۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۲۰	۲۹	
۰/۰۴	۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۱۹	۳۰	
۰/۰۵	۰/۱۲	۰/۰۳	۰/۱۵	۲۴	
۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۰۴	۰/۱۱	۱۶	سایپونین دانه (درصد)
۰/۰۲	۰/۱۳	۰/۰۴	۰/۱۵	۳۱	
۰/۰۳	۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۱۰	۳۲	
۰/۰۱	۰/۱۱	۰/۰۲	۰/۱۶	۲۴	
۰/۰۵	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۴	۱۶	
۰/۰۹	۰/۲۶	۰/۰۱	۰/۲۸	۳۳	

## ادامه جدول ۵.

MLM		GLM		شماره نشانگر	صفت
P-value	R <sup>2</sup>	P-value	R <sup>2</sup>		
۰/۰۱	۰/۱۸	۰/۰۳	۰/۲۰	۳۴	وزن هزاردانه (گرم)
۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۲	۰/۲۴	۲۴	
۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۱۷	۲۶	
۰/۰۳	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۳۰	۲۲	
۰/۰۵	۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۱۶	۲	
۰/۰۱	۰/۳۱	۰/۰۱	۰/۳۶	۳۵	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
۰/۰۲	۰/۲۹	۰/۰۱	۰/۳۱	۳۶	
۰/۰۵	۰/۲۶	۰/۰۲	۰/۲۷	۳۷	
۰/۰۳	۰/۱۸	۰/۰۲	۰/۲۳	۲۴	
۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۲۰	۲۶	
۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۰۴	۰/۱۶	۱۶	
۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۲۵	۳۸	شاخص برداشت (درصد)
۰/۰۳	۰/۱۶	۰/۰۱	۰/۲۱	۳۹	
۰/۰۲	۰/۱۱	۰/۰۳	۰/۱۶	۴۰	
۰/۰۴	۰/۱۴	۰/۰۳	۰/۱۵	۲۴	
۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۵	۰/۱۱	۲۶	

جدول ۶. لیست نشانگرهای پیوسته با صفات مورد نظر طی دو سال

صفت	نشانگرهای مشترک
وزن هزار دانه	SSR2
روز تا سه برگی	SSR3
روز تا رنگی شدن گل آذین، شاخص برداشت	SSR4
روز تا رنگی شدن گل آذین	SSR9 و SSR8
روز تا شیری شدن	SSR13
روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی	SSR15
روز تا رسیدگی فیزیولوژیکی، عملکرد	SSR16
ارتفاع بوته	SSR21
تعداد خوشه، وزن هزار دانه	SSR22
طول خوشه، درصد ساپونین، عملکرد	SSR24
شاخص برداشت	SSR40

حاصل شود و بدین ترتیب کارایی کاربرد این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی افزایش یابد. با توجه به اینکه اکثر نشانگرهای تولیدی توسط آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق بر روی صفات مورد مطالعه مؤثر بودند، بنابراین احتمال

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از پروفسور Andreas Börner استاد مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی لایبزیگ آلمان، دپارتمان بانک ژن IPK، که بزرگوارانه کلیه ژنوتیپ‌های کینوا مطالعه شده در این تحقیق را فراهم و ارسال کردند، صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی می‌کنند.

دارد بتوان از این آغازگرها در برنامه‌های اصلاحی کینوا جهت شناسایی والدین مناسب برای تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی و تولید ارقام هیبرید یا نیمه هیبرید استفاده کرد. در نهایت می‌توان نشانگرهای ۲، ۳، ۴، ۸، ۹، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۲۱، ۲۲، ۲۴ و ۴۰ که دارای ارتباط معنی‌داری با صفت عملکرد دانه و اجزای موثر بر آن بودند را به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش و ژنوتیپ‌های ۱، ۳۲ و ۴۹ به عنوان ژنوتیپ‌های برتر از نظر عملکرد و اجزای آن جهت ادامه برنامه‌های اصلاحی معرفی کرد.

## پیوست

جدول ضمیمه ۱. نام و مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

ردیف	نشانگر	توالی ابتدایی	توالی انتهایی
1	SSR1	tggctatatcatatgcgtaattgtg	gggctcagattgtatctcgac
2	SSR2	tctgcaggatcggttaacctt	ttgtatctcggcttcccact
3	SSR3	aggtacaggcgcgaaggatac	cggtagcatagcacagaacg
4	SSR4	agattgtatctcggctttcca	cacttcattgtattgcatttagga
5	SSR5	cctaagccacggtttcccta	ccgctgaatagacaccagct
6	SSR6	gagtgggagcccagattgta	agcaaagttaaattcaacaagca
7	SSR7	cggagtcagatggttctggt	tcaagtcagctcaatcacc
8	SSR8	ttaaactttattgaccctggaaa	ggatgctattgcattgctga
9	SSR9	tcaaatatgtgtggaccacttaag	ccaatttctgtaaattgattgactt
10	SSR10	agagaccaatgccgataga	gttcgctatagctagaggagtgg
11	SSR11	tgccaactgacgagacaaag	gcgaggactcatatctcac
12	SSR12	ggcagcgcgctgtaata	gggacccaattgtatctcg
13	SSR13	gcatgagtgtaattggagga	cttgaaggagcagctattattcac
14	SSR14	tctcgggttccactactaattcttg	tttatgcagcaagggtgtaaa
15	SSR15	tcatgcctagatcttgcttt	tcgtatacggactaaattgtccac
16	SSR16	ttgagcaggatgatgtggag	ttggagaacataccttgttgg
17	SSR17	gaattgcatgcccttcatt	ccgccctcgtactatgat
18	SSR18	tggtggaggcaaacatacc	tgagggtgaaggaggatg
19	SSR19	gtagttggcggatgtgtct	gcgactgagctagcagggtt
20	SSR20	ccaattgcatgctcctcatt	aatgcaaacatgggaggaga
21	SSR21	atatggaagtcggccaacag	gcatgctcatcatttgttg
22	SSR22	caccagaacctgatctaca	tggttactgttgttgttaattg
23	SSR23	aaagacgcactcctccaat	aacctagccaactccctaaa
24	SSR24	attgccgacaatgaacgaat	atgtaaatgcatgtcccaac
25	SSR25	aaacaattctatcattcggtagg	gccaacgagcctgatgtaa
26	SSR26	tttgggtcaaatgtgttca	ttccaagaccaacctctc
27	SSR27	ttggtagtgggtaagagaacctg	ctcctccagccaataatc
28	SSR28	gcagtgcataaattggaca	gaagctggcaccttatacatgc
29	SSR29	acgtcaggatggctagggt	ccaacaatcatcatcaataacc
30	SSR30	aaattctgcctctgtgcaa	ctcaacttctgctcctga
31	SSR31	tggtgattgataatgtaattgtgga	cattcataacagcgagatgg
32	SSR32	ccaaccaccaaaacttaca	gaaaggaagtgtgaaagaa
33	SSR33	gactaacgggtgccaaactgc	ccttctgattacacctga
34	SSR34	ataaccactccgatggcaaa	cagccacctggcaggtaga
35	SSR35	acctgaaccacaccgaaac	tcgctgctcatcaccatatt
36	SSR36	aatgtaaacagaccagactagca	tgggttcatttagtagaatcaagg
37	SSR37	tggtgagtcgctttaatgg	aataggtgtagccgcgtagg
38	SSR38	ccttctctctacgctctcc	tgggacccaatcttcatag
39	SSR39	gctttagtagaccctgcatgg	ccactccgatataaagttagaatg
40	SSR40	gctgtgttgaccatgttg	caaccacagcaagggtgga

تمامی نشانگرهای انتخاب شده از شرکت Cinagen ایران تهیه شد

جدول ضمیمه ۲. مقایسه میانگین صفات عملکرد دانه و اجزای آن در ۵۰ ژنوتیپ کینوا

ردیف	شناسه ژنوتیپ	تعداد خوشه در بوته	طول خوشه (سانتی متر)	وزن هزار دانه (گرم)	درصد پروتئین (درصد)	روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
۱	CHEN542	۱۶/۳ <sup>abc</sup>	۲۳/۳ <sup>abc</sup>	۲/۶۶ <sup>a</sup>	۲۰/۳ <sup>abc</sup>	۱۰۹ <sup>b-e</sup>	۳۰۴۹ <sup>a</sup>
۲	CHEN285	۱۵/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۳ <sup>abc</sup>	۲/۴۲ <sup>abc</sup>	۱۹/۳ <sup>a-e</sup>	۱۱۷ <sup>a-e</sup>	۲۸۱۴ <sup>abc</sup>
۳	CHEN353	۱۵/۰ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۱/۹۱ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۱۰ <sup>a-e</sup>	۲۲۲۴ <sup>a-d</sup>
۴	CHEN545	۱۴/۳ <sup>a-d</sup>	۲۱/۳ <sup>abc</sup>	۱/۹۰ <sup>a-d</sup>	۱۸/۳ <sup>a-e</sup>	۱۳۴ <sup>a-d</sup>	۲۲۱۷ <sup>a-d</sup>
۵	CHEN585	۱۶/۳ <sup>abc</sup>	۱۳/۳ <sup>abc</sup>	۲/۱۰ <sup>a-d</sup>	۲۰/۳ <sup>abc</sup>	۱۳۱ <sup>a-e</sup>	۲۴۴۹ <sup>a-d</sup>
۶	CHEN597	۱۷/۰ <sup>ab</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰۹ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۱۱ <sup>a-e</sup>	۲۴۳۴ <sup>a-d</sup>
۷	CHEN335	۱۳/۳ <sup>a-d</sup>	۲۰/۳ <sup>bcd</sup>	۱/۵۷ <sup>a-d</sup>	۱۷/۳ <sup>b-e</sup>	۹۷/۳ <sup>de</sup>	۱۸۴۹ <sup>a-d</sup>
۸	CHEN347	۱۴/۰ <sup>a-d</sup>	۲۱/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰۷ <sup>a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۱۰ <sup>a-e</sup>	۲۴۱۶ <sup>a-d</sup>
۹	CHEN250	۱۵/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۳ <sup>abc</sup>	۱/۸۹ <sup>a-d</sup>	۱۹/۳ <sup>a-e</sup>	۱۲۴ <sup>a-e</sup>	۲۲۰۲ <sup>a-d</sup>
۱۰	CHEN315	۱۳/۰ <sup>bcd</sup>	۲۰/۰ <sup>cde</sup>	۱/۸۳ <sup>a-d</sup>	۱۷/۰ <sup>b-e</sup>	۱۱۷ <sup>a-e</sup>	۲۱۹۵ <sup>a-d</sup>
۱۱	CHEN360	۱۲/۷ <sup>bcd</sup>	۱۹/۷ <sup>cde</sup>	۱/۵۵ <sup>a-d</sup>	۱۶/۶ <sup>cde</sup>	۱۰۷ <sup>cde</sup>	۱۸۲۷ <sup>a-d</sup>
۱۲	CHEN395	۱۶/۰ <sup>abc</sup>	۲۳/۰ <sup>abc</sup>	۲/۳۲ <sup>a-d</sup>	۲۰/۰ <sup>a-d</sup>	۱۲۵ <sup>a-e</sup>	۲۶۹۵ <sup>abc</sup>
۱۳	CHEN438	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۲/۳۲ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۱۴ <sup>a-e</sup>	۲۶۹۵ <sup>abc</sup>
۱۴	CHEN470	۱۳/۳ <sup>a-d</sup>	۲۰/۳ <sup>bcd</sup>	۱/۸۷ <sup>a-d</sup>	۱۷/۳ <sup>b-e</sup>	۱۱۶ <sup>a-e</sup>	۲۱۸۷ <sup>a-d</sup>
۱۵	CHEN439	۱۵/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۳ <sup>abc</sup>	۲/۰۷ <sup>a-d</sup>	۱۹/۳ <sup>a-e</sup>	۱۱۸ <sup>a-e</sup>	۲۴۱۲ <sup>a-d</sup>
۱۶	CHEN542	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۱/۸۲ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۹۶/۰ <sup>e</sup>	۲۱۳۲ <sup>a-d</sup>
۱۷	CHEN469	۱۳/۳ <sup>a-d</sup>	۲۰/۳ <sup>bcd</sup>	۱/۵۳ <sup>a-d</sup>	۱۷/۳ <sup>b-e</sup>	۱۰۰ <sup>de</sup>	۱۸۰۵ <sup>a-d</sup>
۱۸	CHEN338	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۲/۴۱ <sup>abc</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۰۲ <sup>cde</sup>	۲۸۰۶ <sup>abc</sup>
۱۹	CHEN444	۱۲/۳ <sup>cd</sup>	۱۹/۳ <sup>cde</sup>	۱/۲۹ <sup>cd</sup>	۱۶/۳ <sup>cde</sup>	۹۶/۳ <sup>e</sup>	۱۵۲۹ <sup>cd</sup>
۲۰	CHEN495	۱۳/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۲/۳۱ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۲۱ <sup>a-e</sup>	۲۶۸۴ <sup>abc</sup>
۲۱	CHEN520	۱۵/۰ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰۴ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۰۹ <sup>b-e</sup>	۲۳۸۳ <sup>a-d</sup>
۲۲	CHEN429	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۲/۰۳ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۱۱ <sup>a-e</sup>	۲۳۷۲ <sup>a-d</sup>
۲۳	CHEN500	۱۵/۷ <sup>a-d</sup>	۲۲/۷ <sup>abc</sup>	۲/۴۱ <sup>abc</sup>	۱۹/۶ <sup>a-d</sup>	۱۲۰ <sup>a-e</sup>	۲۸۰۶ <sup>abc</sup>
۲۴	CHEN613	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۱/۵۳ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۲۸ <sup>a-e</sup>	۱۸۰۱ <sup>a-d</sup>
۲۵	CHEN555	۱۶/۰ <sup>abc</sup>	۳۳/۰ <sup>abc</sup>	۲/۳۱ <sup>a-d</sup>	۲۰/۰ <sup>a-d</sup>	۱۰۶ <sup>cde</sup>	۲۶۸۴ <sup>abc</sup>

ادامه جدول ضمیمه ۲

ردیف	شناسه ژنوتیپ	تعداد خوشه در بوته	طول خوشه	وزن هزار دانه	درصد پروتئین	روز تا رسیدگی فیزیولوژیک	عملکرد دانه
۲۶	CHEN175	۱۳/۳ <sup>a-d</sup>	۲۰/۳ <sup>abc</sup>	۱/۸۱ <sup>a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۸ <sup>a-e</sup>	۲۱۲۱ <sup>a-d</sup>
۲۷	CHEN491	۱۲/۳ <sup>cd</sup>	۱۹/۳ <sup>cde</sup>	۱/۵۲ <sup>a-d</sup>	۱۶/۳ <sup>cde</sup>	۱۴۷ <sup>a</sup>	۱۷۹۰ <sup>a-d</sup>
۲۸	CHEN651	۱۵/۰ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۱/۸۱ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۱۱ <sup>a-e</sup>	۲۱۲۱ <sup>a-d</sup>
۲۹	CHEN672	۱۱/۳ <sup>d</sup>	۱۲/۰ <sup>g</sup>	۱/۱۳ <sup>d</sup>	۱۵/۳ <sup>e</sup>	۱۰۵ <sup>cde</sup>	۱۳۴۸ <sup>d</sup>
۳۰	CHEN654	۱۵/۰ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۲/۳۰ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۰۹ <sup>b-e</sup>	۲۶۷۳ <sup>a-d</sup>
۳۱	CHEN653	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۱۶/۷ <sup>def</sup>	۱/۴۷ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۲۲ <sup>a-e</sup>	۱۷۳۹ <sup>a-d</sup>
۳۲	CHEN680	۱۷/۱ <sup>a-d</sup>	۲۴/۳ <sup>ab</sup>	۲/۵۳ <sup>ab</sup>	۲۱/۰ <sup>ab</sup>	۱۳۹ <sup>abc</sup>	۲۹۴۳ <sup>ab</sup>
۳۳	CHEN243	۱۴/۳ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۱/۷۸ <sup>a-d</sup>	۱۶/۶ <sup>a-e</sup>	۱۴۵ <sup>ab</sup>	۲۰۸۱ <sup>a-d</sup>
۳۴	CHEN178	۱۴/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۲/۳۰ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۷ <sup>a-e</sup>	۲۶۷۳ <sup>a-d</sup>
۳۵	CHEN249	۱۳/۷ <sup>a-d</sup>	۲۰/۷ <sup>a-d</sup>	۱/۴۶ <sup>a-d</sup>	۱۷/۶ <sup>a-e</sup>	۱۲۲ <sup>a-e</sup>	۱۷۲۱ <sup>bcd</sup>
۳۶	CHEN144	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۱/۷۶ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۲۸ <sup>a-e</sup>	۲۰۵۹/۳ <sup>a-d</sup>
۳۷	CHEN129	۱۴/۰ <sup>a-d</sup>	۲۱/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰ <sup>۳a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۲ <sup>a-e</sup>	۲۳۶۸ <sup>a-d</sup>
۳۸	CHEN195	۱۴/۰ <sup>a-d</sup>	۱۶/۰ <sup>efg</sup>	۱/۴۳ <sup>a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۸ <sup>a-e</sup>	۱۶۹۱ <sup>bcd</sup>
۳۹	CHEN308	۱۴/۰ <sup>a-d</sup>	۲۱/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰ <sup>۲a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۳ <sup>a-e</sup>	۲۳۵۷ <sup>a-d</sup>
۴۰	CHEN138	۱۴/۷ <sup>a-d</sup>	۲۱/۷ <sup>abc</sup>	۱/۳۹ <sup>a-d</sup>	۱۸/۶ <sup>a-e</sup>	۱۱۹ <sup>a-e</sup>	۱۶۵۱ <sup>bcd</sup>
۴۱	CHEN158	۱۴/۳ <sup>a-d</sup>	۲۱/۳ <sup>abc</sup>	۱/۷۵ <sup>a-d</sup>	۱۸/۳ <sup>a-e</sup>	۱۱۶ <sup>a-e</sup>	۲۰۴۸ <sup>a-d</sup>
۴۲	CHEN160	۱۵/۷ <sup>a-d</sup>	۲۲/۷ <sup>abc</sup>	۲/۲۷ <sup>a-d</sup>	۱۹/۶ <sup>a-d</sup>	۱۲۸ <sup>a-e</sup>	۲۶۴۴ <sup>a-d</sup>
۴۳	CHEN222	۱۵/۰ <sup>a-d</sup>	۲۲/۰ <sup>abc</sup>	۲/۲۳ <sup>a-d</sup>	۱۹/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۳ <sup>a-e</sup>	۲۶۰۰ <sup>a-d</sup>
۴۴	CHEN128	۱۵/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۳ <sup>abc</sup>	۲/۲۳ <sup>a-d</sup>	۱۹/۳ <sup>a-e</sup>	۱۰۷ <sup>cde</sup>	۲۶۰۰ <sup>a-d</sup>
۴۵	CHEN290	۱۵/۳ <sup>a-d</sup>	۲۲/۳ <sup>abc</sup>	۲/۰ <sup>۱a-d</sup>	۱۹/۳ <sup>a-e</sup>	۱۰۶ <sup>ade</sup>	۲۳۵۰ <sup>a-d</sup>
۴۶	CHEN227	۱۴/۰ <sup>a-d</sup>	۲۱/۰ <sup>abc</sup>	۲/۰ <sup>۶a-d</sup>	۱۸/۰ <sup>a-e</sup>	۱۲۳ <sup>a-e</sup>	۲۳۳۹ <sup>a-d</sup>
۴۷	CHEN238	۱۵/۷ <sup>b-d</sup>	۲۲/۷ <sup>abc</sup>	۲/۱۹ <sup>a-d</sup>	۱۹/۶ <sup>a-d</sup>	۱۱۰ <sup>b-e</sup>	۲۵۴۹ <sup>a-d</sup>
۴۸	CHEN233	۱۲/۰ <sup>cd</sup>	۱۴/۰ <sup>fg</sup>	۱/۳۹ <sup>bcd</sup>	۱۶/۰ <sup>de</sup>	۱۲۲ <sup>a-e</sup>	۱۶۴۴ <sup>bcd</sup>
۴۹	CHEN310	۱۷/۷ <sup>a</sup>	۲۴/۷ <sup>a</sup>	۲/۵۰ <sup>abc</sup>	۲۱/۶ <sup>a</sup>	۱۱۶ <sup>a-e</sup>	۲۹۰۶ <sup>ab</sup>
۵۰	CHEN152	۱۳/۷ <sup>a-d</sup>	۲۰/۷ <sup>a-d</sup>	۱/۷۴ <sup>a-d</sup>	۱۷/۶ <sup>a-e</sup>	۱۰۹ <sup>b-e</sup>	۲۰۴۱ <sup>a-d</sup>

جدول ضمیمه ۳ ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در ۵۰ ژنوتیپ کینوا

ردیف	صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵
۱	تعداد روز تا سه برگی	۱	۰/۰۸۱	۰/۰۸۳	۰/۱۰۲	۰/۰۸۵	۰/۰۸۳	۰/۲۰۲	۰/۱۳۴	۰/۸۷۶**	۰/۷۶۱**	۰/۶۹۱**	۰/۰۱۷	۰/۹۳۵**	۰/۶۹۳**	۰/۶۹۰**
۲	تعداد روز تا تشکیل گل آذین		۱	۰/۸۵۹**	۰/۸۴۵**	۰/۸۲۸**	۰/۸۰۷**	۰/۰۹۱	۰/۱۱۰	۰/۰۳۰	۰/۱۴۶	۰/۰۹۳	-۰/۱۸۳	۰/۰۸۶	۰/۰۹۳	۰/۰۹۱
۳	تعداد روز تا رنگی شدن گل آذین			۱	۰/۹۲۳**	۰/۹۰۷**	۰/۹۰۱**	۰/۰۰۸	۰/۱۸۵	۰/۰۴۸	۰/۰۸۰	۰/۰۹۵	-۰/۰۵۲	۰/۰۷۹	۰/۰۹۴	۰/۰۹۵
۴	تعداد روز تا گرده افشانی				۱	۰/۹۱۹**	۰/۹۱۱**	۰/۰۰۸	۰/۱۵۲	۰/۰۵۴	۰/۰۰۳	۰/۰۸۸	-۰/۰۵۸	۰/۱۰۲	۰/۰۸۷	۰/۰۸۱
۵	تعداد روز تا شیری شدن					۱	۰/۹۱۴**	۰/۰۲۲	۰/۱۱۷	۰/۰۳۴	۰/۰۷۱	۰/۰۷۹	-۰/۰۵۷	۰/۰۹۰	۰/۰۷۸	۰/۰۷۹
۶	تعداد روز تا خمیری شدن						۱	۰/۰۱۸	۰/۱۱۳	۰/۰۳۱	۰/۰۷۴	۰/۰۸۲	-۰/۰۵۱	۰/۰۹۳	۰/۰۷۴	۰/۰۸۳
۷	تعداد روز تا رسیدگی فیزیولوژیک							۱	۰/۲۰۰	۰/۱۱۲	۰/۲۵۴*	۰/۱۹۳	-۰/۰۸۱	۰/۱۹۰	۰/۱۹۳	۰/۱۹۸
۸	ارتفاع بوته (سانتی متر)								۱	۰/۱۳۱	-۰/۰۷۴	۰/۰۰۲	۰/۱۵۸	۰/۱۲۶	-۰/۰۰۳	۰/۰۰۸
۹	تعداد خوشه در بوته									۱	۰/۷۱۸**	۰/۶۷۶**	۰/۰۳۴	۰/۸۶۷**	۰/۶۷۷**	۰/۶۶۸**
۱۰	طول خوشه اصلی (سانتی متر)										۱	۰/۷۰۳**	-۰/۱۵۴	۰/۸۶۳**	۰/۸۶۳**	۰/۷۰۳**
۱۱	وزن هزار دانه (گرم)											۱	-۰/۰۸۷	۰/۳۳۷**	۰/۹۲۵**	۰/۹۲۵**
۱۲	درصد ساپونین (%)												۱	-۰/۰۷۸	-۰/۰۷۸	-۰/۰۷۸
۱۳	درصد پروتئین (%)													۱	۰/۶۶۹**	۰/۶۶۹**
۱۴	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)														۱	۰/۸۶۴**
۱۵	شاخص برداشت															۱

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد.



## منابع مورد استفاده

- Bhargava, A., S. Shukla and D. Ohri. 2007. Gynomonoecey in *Chenopodium quinoa* Willd. (Chenopodiaceae): variation in inflorescence and floral types in some accessions. *Biologia* 62: 19-23.
- Bradbury, P. J., Z. Zhang, D. E. Kroon, T. M. Casstevens, Y. Ramdoss and E. S. Buckler. 2007. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23: 2633-2635.
- Breseghele, F. and M. E. Sorrells. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics* 172: 1165-1177.
- Curti, R. N., A. J. de la Vega, A. J. Andrade, S. J. Bramardi and H. D. Bertero. 2016. Adaptive responses of quinoa to diverse agro-ecological environments along with an altitudinal gradient in North West Argentina. *Field Crops Research* 189: 10-18.
- Doyle, J. 1991. DNA Protocols for Plants. In *Molecular Techniques in Taxonomy*. Springer, Berlin.
- EL-Harty, E. H., A. Ghazy, T. K. Alateeq, S. A. Al-Faifi, M. A. Khan, M. Afzal, S. S. Alghamdi and H. M. Migdadi. 2021. Morphological and molecular characterization of quinoa genotypes. *Agriculture* 11: 286.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- FAO. 2017. FAOSTAT. Food and agriculture data. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online at: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Gomez-Pando, L. 2015. Quinoa breeding. pp: 87-108. In: K. Murphy, and J. Matanguihan (Eds.), *Quinoa: Improvement and Sustainable Production*. John Wiley and Sons Inc.
- González, J. A., S. S. Eisa, A. E. S. Hussin and F. E. Prado. 2015. Quinoa: An incan crop to face global changes in agriculture. pp: 1-18. In: K. Murphy and J. Matanguihan (Eds.), *Quinoa: Improvement and Sustainable Production*. John Wiley and Sons Inc.
- Hirich, A., R. Choukr-Allah and S. E. Jacobsen. 2014. Quinoa in Morocco—effect of sowing dates on development and yield. *Journal of Agronomy and Crop Science* 200: 371-377.
- Jacobsen, S. 2003. The world wide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food reviews international* 19: 167-177.
- Jarvis, D. E., O. R. Kopo, E. N. Jellen, M. A. Mallory, J. Pattee, A. Bonifacio, C. E. Coleman, M. R. Stevens, D. J. Fairbanks and P. J. Maughan. 2008. Simple sequence repeat marker development and genetic mapping in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Genetics* 87: 39-51.
- Maccaferri, M., M. C. Sanguineti, A. Demontis and A. El-Ahmed. 2010. Association mapping in durum wheat grown across a broad range of water regimes. *Journal of Experimental Botany* 14: 287-293.
- Maughan, P. J., A. Bonifacio, E. N. Jellen, M. R. Stevens, C. E. Coleman, M. Ricks, S. L. Mason, D. E. Jarvis, B. W. Gardunia and D. J. Fairbanks. 2004. A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) based on AFLP, RAPD, and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1188-1195.
- Mizuno, N., M. Toyoshima, M. Fujita, S. Fukuda, Y. Kobayashi, M. Ueno, K. Tanaka, T. Tanaka, E. Nishihara, H. Mizukoshi, Y. Yasui, Y. Fujita. 2020. The genotype-dependent phenotypic landscape of quinoa in salt tolerance and key growth traits. *DNA Research* 27: 1-12.
- Mujica, A. 1994. Andean grains and legumes. pp: 131-148. In: J. E. H. Bermejo and J. Leon (Eds.), *Neglected Crops: 1492 from a Different Prospective*. Plant Production and Protection Series. Rome, Italy.
- Patirange, D. S., E. Rey, N. Emrani, G. Wellman, K. Schmid, S. M. Schmöckel, M. Tester and C. Jung. 2021. Genome-wide association study in quinoa reveals selection pattern typical for crops with a short breeding history. *Plant Molecular Biology* 48: 445-449.
- Pla, J. 2012. Estados, crisis y acumulación: análisis de un marco conceptual para la comprensión de la historia argentina. *OBETS Revista de Ciencias Sociales* 6: 293-328.
- Pritchard, J. K. and P. Donnelly. 2001. Case-control studies of association in structured or admixed populations. *Theoretical Population Biology* 60: 227-237.
- Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Rodriguez, L. A. and M. T. Isla. 2009. Comparative analysis of genetic and morphologic diversity among quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) accessions of South Chile and high land accessions. *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 1: 210-216.
- Rojas, W., M. Pinto, C. Alanoca, L. G. Gómez-Pando, P. León-Lobos, A. Alercia, S. Diulgheroff, S. Padulosi, S. and D. Bazile. 2015. Quinoa genetic resources and ex situ conservation. pp: 56-82. In: D. Bazile, H. D. Bertero and C. Nieto (Eds.), *State of the Art Report on Quinoa Around the World in 2013*. FAO and CIRAD, Rome.

23. Spehar, C. R. and R. L. D. B. Santos. 2005. Agronomic performance of quinoa selected in the Brazilian Savannah. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 609-612.
24. Tuberosa, R., B. S. Gill and S. A. Quarrie. 2002. Cereal genomics: Ushering in a brave new world. *Plant Molecular Biology* 48: 445-449.
25. Yu, J., G. Pressoir, G. W. H. Briggs, I. Vroh Bi, M. Yamasaki, J. F. Doebley, M. D. McMullen, B. S. Gaut, D. M. Nielsen, J. B. Holland, S. Kresovich and E. S. Buckler. 2006. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Natural Genetics* 38: 203-208.

## Identification of Microsatellite Markers Associated with Important Agronomic Traits in Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd)

Ebrahim Souri-laki<sup>1</sup>, Babak Rabiei<sup>2\*</sup>, Hassan Marashi<sup>3</sup>, Vahid Jokar-fard<sup>4</sup>  
and Andreas Borner<sup>5</sup>

(Received: December 25-2022; Accepted: February 13-2023)

### Abstract

In this research, 50 quinoa genotypes were investigated using 40 pairs of microsatellite markers (SSR) to identify the superior genotypes in terms of grain yield, the components affecting it, and the features linked to the studied traits were also introduced using Association Analysis. The study of grain yield traits and the factors affecting it showed that the traits of day to physiological maturity, panicle length, number of panicle per plant, and 1000 -grain weight were the most important traits affecting grain yield, and finally genotypes 1, 32 and 49 were the essential traits in terms of these traits. They were introduced as superior genotypes. Studying the population structure using Structure software showed two possible subgroups (K=2) in the studied population and the results of the bar plot confirmed it. The results of the correlation analysis using the general linear model (GLM) and the mixed linear model (MLM) numbers 49, 53 (GLM) and number 48, 52 (MLM) showed a significant indicator-adjective relationship, respectively, for the first year (2018) and the second (2019). Among the significant marker-trait relationships identified for different traits, the highest number of meaningful relationships were identified for grain yield and 1000-grain weight traits with 6 and 5 relationships, respectively. In conclusion, based on the results of the correlation analysis, 12 continuous markers were identified with a significant relationship with the evaluated traits during both years. Therefore, these markers can be used as fixed and stable markers in different quinoa breeding programs.

**Keywords:** Association analysis, Genetic diversity, Population structure, Marker-trait association

1, 2 and 4. PhD. Graduate, Professor and PhD. Student, Respectively, Department of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

3. Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Ferdowsi, Mashhad, Iran.

5. Professor, Department of Genebank, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Leibniz, Germany.

\*: Corresponding Author, Email: rabiei@guilan.ac.ir