ژنتیک نوین
دوره پنجم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۹
صفحه ٦٦-٥٧

شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش ریزماهواره در بخشی از یونجه‌های زراعی (*Medicago sativa* L.) ایران

رحمت محمدی*[۱]، محمدرضا نقوی[۲]، رضا معالی امیری[۳]، مهدی رضایی[۴]

۱،۲،۳و۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rm1387@gmail.com

(تاریخ دریافت:۸۸/۱۰/۹ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳۰)

چکیده

ارتباط بین ۱۱ صفت زراعی و ۵۰ نشانگر مولکولی حاصل از مطالعه ده جفت آغازگر ریزماهواره در ٦٧ اکوتیپ یونجه نواحی مختلف ایران به کمک رگرسیون گام به گام مطالعه شد و در مجموع ۱۷ نشانگر SSR رابطه معنی‌داری با حداقل یکی از ۱۱ صفت مورفولوژیکی نشان دادند که می‌توان از آنها در اصلاح به کمک نشانگر استفاده کرد. مقدار قابل توجهی از تغییرات مورفولوژیکی (صفات وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل و وزن تر کل) توسط نشانگر B14B03 با محتوای اطلاعات چند شکلی ۰/۷٤ توجیه شد که این نتایج نشان می¬دهد احتمالا ژن‌های مربوط به این صفات در مکان‌های کروموزومی نزدیک به هم قرار دارند. نتایج نشان می‌دهد با توجه به توزیع مناسب ریزماهواره‌ها در ژنوم یونجه و نشانگرهایی که پیوستگی بالا با صفات مهم زراعی دارند، می‌توان از آنها در شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات مهم زراعی امید داشت.

واژه‌های کلیدی

یونجه زراعی (*Medicago sativa*)، نشانگرهای آگاهی بخش، صفات مورفولوژیکی، SSR، تجزیه رگرسیون

مقدمه

نشانگرهای ملکولی مبتنی برDNA بطور گسترده با اهداف مختلف در گیاهان و حیوانات مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۰). نشانگرهای ملکولی ابزارهای بسیار مهمی برای مدیریت نمونه‌های ژرم پلاسم در بانک ژن، ارزیابی روابط خویشاوندی ژنتیکی، انتخاب گیاهان برتر و بررسی شباهت یا تفاوت بین نمونه‌های مختلف می‌باشند، که برای دستیابی به این اهداف از نشانگرهای مولکولی متعددی استفاده می‌شود (۵). نشانگرهای مولکولی ریزماهواره یا توالی تکراری ساده (SSR) شامل توالی دوگانه تکراری کوتاهی (٦-۲ جفت باز) از DNA هستند (۱۱). این نشانگرها به علت دارا بودن خاصیت چند آللی، وراثت هم بارز، فراوانی نسبی و پوشش وسیع ژنومی و همچنین سهولت آشکار سازی و تشخیص آنها کاربرد فراوانی دارند (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۹). مزیت نشانگرهای SSR در بررسی نشانگرهای آگاهی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

بخش در یونجه از آنجا حائز اهمیت است که اکثر نشانگرهای SSR در یونجه زراعی (*M. sativa*) بر اساس EST-SSR گیاه *M. truncatula* (یونجه دیپلوئید مدل) طراحی شده‌اند و ESTها جز ناحیهٔ رونویسی شده ژنوم می‌باشند در نتیجه احتمال اینکه آغازگرهای طراحی شده در ناحیه عملکردی ژنوم قرار بگیرند بسیار زیاد است. مطابق گزارش ایوجای و همکاران (۲۰۰۴) ۴۸ درصد آغازگرهای طراحی شده از نواحی EST، در یونجه زراعی (*M. sativa*) با ژن‌های عملکردی پیوسته هستند و در نتیجه در صورت شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش قابل اطمینان می‌توان این ژن‌ها را انتقال داد (۸). یکی از کاربردهای مهم نشانگرهای ملکولی در گیاهان زراعی پیدا کردن نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی می‌باشد که اصولی‌ترین روش شناسایی این نشانگرها تهیه جمعیت‌های در حال تفرق و پس از آن ردیابی صفات کیفی یا کمی در این جمعیت‌ها می‌باشد. اگر صفت مورد بررسی کیفی باشد با استفاده از تجزیه تفرق توده می‌توان نقشه لینکاژی در اطراف ژن مورد نظر تهیه نمود. در حالتی که صفت کمی باشد تهیه نقشه‌های پیوستگی یکی از گام‌های اساسی در مکان‌یابی ژن-ها است (۱۶). موسیال و همکاران (۲۰۰۸) برای شناسایی QTL های مقاومت به بیماری *Stagonospora meliloto* در یونجه زراعی (*M. sativa*) از نشانگرهای SSR استفاده کردند، بدین منظور ۵۱۷ آغازگر SSR، *truncatula* برای غربال کردن بر روی گیاهان حاصل از تلاقی برگشتی استفاده شد و در مجموع۲۷ آغازگر چندشکلی نشان دادند که با نقشه پیوستگی *M. sativa* تتراپلوئید همبستگی نشان داشت (۱۵). سلچ و همکاران (۲۰۰۵) جهت پیدا کردن QTL های خشکی در یونجه زراعی از EST های *truncatula* استفاده کردند. دو والد و نسل F_1 را با ۱۶۸۰ آغازگر SSR غربال کردند. آنها با استفاده از این نشانگرها توانستند یک نقشه به طول ۶۲۴ سانتی مورگان با میانگین تراکم نشانگر ۱/۵ تا ۴/۴ سانتی مورگان در هر گروه پیوستگی تهیه کنند (۲۲). برنادت و همکاران (۲۰۰۳) دو نقشه پیوستگی را با استفاده از نشانگرهای SSR و AFLP در یونجه زراعی (*M. sativa*) تهیه کردند. در این تحقیق ۸ گروه پیوستگی حاصل شد که با استفاده از نشانگرهای SSR توانستند ۷۰۹ سانتی مورگان از ژنوم را پوشش دهند (۶).

مطالعات تجزیه ارتباطی مبتنی بر لینکاژ، ردیابی ژن‌های مختلف مرتبط با صفات زراعی را مقدور کرده است ولی اغلب به دلیل فاصله زیاد بین نشانگر و صفت زراعی، هم اصلاح با کمک نشانگر، جداسازی و همسانه‌سازی ژن مورد نظر مشکل می‌باشد و هم از تعداد کمی ژنوتیپ به عنوان والد در نقشه‌یابی جمعیت‌ها استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر برای فائق آمدن بر این مشکل از تجزیه ارتباطی بین نشانگرها و صفات زراعی استفاده شده است که نه تنها نقشه‌یابی ژن‌ها را با درجه اطمینان بالا ممکن می-سازد، بلکه شناسایی ژن‌هایی را که در نقشه‌یابی مبتنی بر پیوستگی قابل ردیابی نیستند مقدور می‌سازد (۱۵، ۱۸). در سیستم‌های گیاهی مطالعات کمی در مورد تجزیه ارتباطی صورت گرفته است (۱۷، ۲۰). در این تحقیق شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش[1] مرتبط با صفات زراعی مطالعه شده در ۶۷ توده یونجه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این آزمایش با ٦٧ اکوتیپ یونجه زراعی از نواحی مختلف کشور، در قالب طرح مربع لاتیس با دو تکرار در مزرعه‌ی پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج در سال ۱۳۸۷ انجام گرفت. بذور از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تهیه گردید (جدول ۱).

ارزیابی فنوتیپی

به منظور بررسی‌های مورفولوژیکی، هر اکوتیپ در چهار خط سه متری و با فاصله‌ی ۳۰ سانتیمتر در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۷ کشت گردید. کرت‌های آزمایشی با یک خط نکاشت از یکدیگر جدا شدند. در هر خط حدود یک گرم بذر مصرف شد. صفات مورد بررسی شامل روز پس از اولین برداشت تا ۱۰٪ گلدهی، وزن خشک و تر برگ، وزن خشک ساقه، وزن تر و خشک کل، نسبت وزن تر برگ به ساقه، نسبت وزن خشک برگ به ساقه،

[1] Informative markers

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

درصد ماده خشک کل بوته، درصد ماده خشک ساقه، درصد ماده خشک برگ بود. کلیه اندازه‌گیری‌ها در مرحلهٔ رسیدن به ۱۰٪ گلدهی انجام شد. در اندازه‌گیری وزن‌های تر از هر تکرار دو گیاه و در مجموع چهار گیاه از هر اکوتیپ از قسمت طوقه جدا شده و پس از اندازه‌گیری وزن کل چهار بوته، برگ‌ها جدا شده و وزن برگ و ساقه جداگانه اندازه‌گیری شد. برگ‌ها و ساقه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۲ درجه‌ی سانتیگراد قرار گرفته و سپس وزن خشک برگ و ساقه محاسبه گردید. در محاسبات آماری میانگین کلیه صفات استفاده گردید (فقط صفات فنوتیپی ذکر شده‌اند که برای آنها نشانگرهای آگاهی بخش یافت شده است).

ارزیابی ملکولی

در این تحقیق از ده جفت نشانگر ریزماهواره استفاده شد (جدول۲). استخراج DNA از ٦٧ توده و از هر توده ۵ بوته جهت نمونه‌گیری انتخاب گردید. نمونه‌های گیاهی پس از خشک شدن در ازت مایع بلافاصله در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند. استخراج DNA از برگ‌های جوان (برگ‌های سالم وسبز) بر اساس روش سقایی معروف (۱۹۸٤) انجام شد (۲۱).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در دستگاه Bio Rad انجام گرفت و چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۱۰ چرخه اول به صورت تاچ داون (Touch down) انجام شد بطوریکه در هر چرخه دمای اتصال یک درجه سانتی‌گراد کاهش یافت و مرحله بسط آغازگری در دمای ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه بود. ۲۵ چرخه بعدی به صورت چرخه‌های دمای ۹۴ درجه در ۲ دقیقه، ۵۵ درجه در ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه در یک دقیقه انجام شد. در نهایت ده میکرولیتر از محتوی محصولات PCR بر روی ژل پلی آکریلامید واسرشته ساز ٦ درصد با توان ثابت ۹۰ وات الکتروفورز شده و رنگ آمیزی با روش نیترات نقره انجام شد (٤).

تجزیه آماری

با استفاده از فراوانی آللی، آماره PIC و MI در هر نشانگر جداگانه محاسبه شد. میزان اطلاعات چند شکلی[2] بر اساس فرمول $PIC = 1 - \sum_{I=1}^{N} P_I^2$ و شاخص نشانگر (Marker Index) با استفاده از فرمول $MI = PIC.N.\beta$ (۳، ۱۸) در هر آغازگر بطورجداگانه محاسبه گردید که PIC میانگین اطلاعات چند شکلی برای هر جفت آغازگر، N تعدادکل باندها برای هر جفت آغازگر، β نسبت چند شکلی برای هر جفت آغازگر می‌باشد. این شاخص علاوه بر مزایای شاخص PIC، تعداد کل باند را درنظر گرفته و پتانسیل هر آغازگر در تولید باند بیشتر را نیز محاسبه می‌کند. تجزیهٔ رگرسیون چند گانه با روش گام به گام برای ۱۱ صفت زراعی در اکوتیپ‌های یونجه با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد به طوری که در هر بار انجام تجزیه یکی از صفات مورفولوژیکی به عنوان متغیر وابسته (Y) و کلیه نشانگرها به عنوان متغیرهای مستقل (X) در تجزیه وارد شدند. با تعیین نشانگرهایی که درصد بالایی از تغییرات را توجیه می‌کردند، موقعیت آنها در روی ژل مشخص گردید.

نتایج و بحث

جدول ۳ ضریب همبستگی دوگانه صفات مورد نظر را نشان می‌دهد. وزن تر برگ دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با وزن خشک برگ (۰/۹۸٦)، وزن خشک ساقه (۰/۸۵۷) و وزن کل تر (۰/۹۳) بود. همبستگی وزن خشک برگ و وزن خشک ساقه نیز مثبت و معنی‌دار (۰/۸٦۵) بود و همبستگی مثبت و معنی‌داری میان نسبت وزن تر برگ به ساقه با نسبت وزن خشک برگ به ساقه (۰/۹۳۳) وجود داشت. همبستگی‌های فوق نشان داد که هر چه وزن ساقه در یونجه بیشتر باشد، وزن برگ‌های بوته نیز بیشتر خواهد بود. وزن خشک ساقه با نسبت وزن تر برگ به ساقه و نسبت وزن خشک برگ به ساقه همبستگی منفی و معنی‌دار (به ترتیب ۰/۲۷۳- و ۰/٤۱٦-) داشت.

ده جفت آغازگر بکار رفته در این تحقیق چند شکلی نشان دادند و به کمک آغازگرها در مجموع ۵۰ باند نمره‌دهی شد که از این تعداد ۳۷ باند چند شکلی نشان داد. آغازگر MTIC332 دارای بیشترین مقدار PIC (۰/۹۴) و آغازگر MAL369471 کمترین مقدار PIC (۰/۳٤) را داشتند و میانگین PIC در آغازگرها ۰/۶۳ برآورد شد. آغازگر ENOD20 بیشترین میزان MI (۴/۸) و

[2] Polymorphic Information Content

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

آغازگر MAL369471 کمترین میزان MI (۰/٦۸) را نشان داد و میانگین MI در آغازگرها ۲/۵ بود (جدول۲). به منظور تعیین ارتباط بین صفات کمی یادداشت شده با داده‌های مولکولی و شناسایی نشانگرهایی که بالقوه قابلیت پیوستگی با این صفات را دارند از روش رگرسیون گام به گام استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون ارتباط معنی‌دار ۱۷ نشانگر را با ۱۱صفت نشان داد (جدول ٤ و ۵). بیشترین تعداد نشانگر، در صفت تاریخ گلدهی (۸ نشانگر) و کمترین تعداد نشانگر در صفات وزن تر و خشک برگ (هر کدام با یک نشانگر) شناسایی شد. بیشترین ضریب تبیین (R^2) مربوط به نسبت برگ به ساقه خشک (۲٤/۱٪) و بیشترین ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای آگاهی بخش (R^2_T) مربوط به نسبت برگ به ساقه تر (٦۲ ٪) بود. نشانگر MAL36947 دارای بیشترین R^2 (۲٤/۱۱٪) در صفت نسبت برگ به ساقه خشک و دارای بیشترین R^2 (۱۰/۳٪) برای تاریخ گلدهی بود. نشانگر FMT13 ۱۹/۲٪ از تغییرات صفت نسبت برگ به ساقه تر و نشانگر ENOD20 ۱۸/۷٪ از تغییرات درصد ماده خشک برگ را توجیه نمودند. نشانگر B14B03 با بیشترین تعداد صفات همبستگی نشان داد و توانست ۱۰/۷٪ تا ۱۳/۵٪ تغییرات صفات مورد بررسی را توجیه کند به طوری که دارای بیشترین R^2 در صفات وزن تر و خشک برگ، وزن خشک کل، وزن تر کل و وزن خشک ساقه بود. نشانگر MTIC332 دارای بیشترین R^2 (۱۳/۵٪) در درصد ماده خشک کل بوته بود و نشانگر B21E13 ۱۳/۱٪ از تغییرات درصد ماده خشک کل ساقه را توجیه کرد.

روی و همکاران (۲۰۰٦) با بررسی تجزیه ارتباطی ١٤ صفت مورفولوژیکی در گندم نان با نشانگرهای SSR، AFLP[3] و SAMPL[4] از طریق روش رگرسیون گام به گام قادر به شناسایی ۵۱ نشانگر شدند که با حداقل یکی از صفات ارتباط داشت و در نهایت پیشنهاد نمودند که از این نشانگرها می‌توان در برنامه‌های اصلاح به کمک نشانگر همراه استفاده کرد (۲۰). رشیدی و همکاران نیز با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزن ۳۲ نشانگر SSAP در گندم را شناسایی کردند که حداقل با یکی از ۶ صفت زراعی مورد بررسی رابطه معنی‌داری داشت (۱). اسکات و همکاران از نشانگرهای AFLP برای پیدا کردن نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی در چاودار استفاده کردند، آنها ۳ نشانگر پیوسته با تاریخ خوشه‌دهی را شناسایی کردند که با QTL های شناسایی شده بر روی کروموزوم ۷ پیوستگی نزدیکی نشان داد و توانست ۷۰ درصد از تغییرات تاریخ خوشه دهی را توجیه - کند (۲۳). زی سیانگ و همکاران (۲۰۰۸) از نشانگرهای SSR برای پیدا کردن نشانگرهای پیوسته با ۱۶ صفات زراعی و کیفی در گونه‌های زراعی و وحشی سویا استفاده کردند که به ترتیب ۲۷ و ۳۴ نشانگر پیوسته با این صفات در گونه‌های زراعی و وحشی شناسایی کردند (۲۴). ما قبلاً در بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های یونجه از نشانگرهای ریزماهواره استفاده کردیم. آغازگرهای ریزماهواره توانستند نمونه‌های درون و بین جمعیتی یونجه‌های نواحی مختلف ایران را به خوبی از یکدیگر تفکیک کنند که این نتایج احتمالا نشان دهنده توزیع مناسب ریزماهواره‌ها در ژنوم یونجه می‌باشد (۲). بنابراین، در برنامه‌های اصلاحی بکارگیری این آغازگرها ممکن است در شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش که همبستگی بالایی با صفات مهم زراعی دارند، مفید باشند. برخی از نشانگرها (مثل نشانگر B14B03) با بیش از یک صفت (وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه، وزن خشک و تر کل) ارتباط داشت و همبستگی دو به دو این صفات نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام نشان داد که مقدار قابل توجهی از تغییرات (بالای ۱۰ درصد) توسط این نشانگر (B14B03) توجیه می‌شوند و احتمالا ژن‌های مربوط به این صفات، ژن‌های نزدیک به هم در مکان‌های کروموزومی بوده و ممکن است در فراهم آوردن اطلاعات اولیه در خصوص انتخاب غیرمستقیم صفات از طریق نشانگرهای مرتبط مفید باشند. البته برای اطمینان از وجود ارتباط پیوسته بین نشانگرها و صفات مختلف زراعی نیاز به تهیه جمعیت‌های تفرق مانند F_2، RIL[5]، DH[6] می‌باشد تا بر اساس این جمعیت‌ها نقشه- های پیوستگی تهیه و سپس محل مکان‌های کنترل کننده این

[3] Amplified Fragment Length Polymorphism
[4] Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic
[5] Recombinant Inbreed Line
[6] Double Haploid

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

صفات را بر روی کروموزوم‌ها مشخص نمود (۱۶). در تهیه نقشه‌های پیوستگی، اطلاعات نشانگری فراهم شده در این تحقیق، در جهت انتخاب آغازگرهای مناسب مفید خواهد بود ولیکن در دسترس نبودن جمعیت‌های در حال تفرق، عدم وجود لینکاژ مناسب بین صفات زراعی و نشانگرهای ملکولی و زمان کافی از جمله مهمترین محدودیت‌ها در زمینه شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی می‌باشند (۹). با استفاده از نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات مهم زراعی از جمله اجزاء عملکرد، به خصوص نشانگرهایی که مکان کروموزومی آنها مشخص می‌باشد، می‌توان با تولید لاین‌های با جایگزینی کروموزومی[7]، صفات زراعی مورد نظر را در یک لاین فاقد آن صفت از طریق تلاقی انتقال داد. توالی‌یابی باندهای آگاهی بخش و مقایسه آنها با توالی‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی به اطمینان انتخاب به کمک مارکر و همسانه‌سازی آنها می‌افزاید.

[7] Chromosome Substitusion Line

جدول ۱- منشا جغرافیایی توده‌های بومی مورد استفاده در این تحقیق

کد دسترسی*	محل جمع آوری	کد دسترسی	محل جمع آوری	کد دسترسی	محل جمع آوری	کد دسترسی	محل جمع آوری
۱-٤٤	زرین شهر ۱	٢٦٨	فزوه۳	۱-٤٠	همدان- قریه فامین چه	٢٠٤	مرند- عریان تپه
۱-۲۳	دامغان	۱-۱۱	کهریزسنگ	۱۹۱	همدان- ترکیه	۱-٤۳	آذربایجان شرقی
۱-۱۲٦	فزوه۱	۱۲٦	فزوه٤	۱۷٦	همدان- آب انبار	۲-٤۳	آذربایجان شرقی
٦٨	زرین شهر	۱۸۸	رفسنجان	۱۸۲	همدان- ایتالیا	۲۱۲	جلفا- سیه رود
٤۲	کوهپایه۱	۲٥	سبزوار	۱۸۹	جهاد همدان- ترکیه	۲۰۲	جلفا- مرازاد
٤۷	کاشان۱	۲٤	یزد	۱۷۹	همدان- ایتالیا	۱۷۲	دیواندره- باقرآباد
۲-۹	گرگان۱	۱٤٥	جیرفت	۱۸٦	همدان- ترکیه	۲۸۱	چهارمحال وبختیاری
۳۹	کوهپایه۲	۲۹	گناباد	۱۷٥	همدان- عبدالرحیم	٦٥-۱	کوشک کرج
۲۷	شاهرود	۲-۱۰	نیشابور	۱۷۰	همدان- ایتالیا	٦٥-۲	کوشک کرج
٤٥	گلستانکوه	۲-۳٤	بیرجند۱	۲۰۸	همدان	۳۰	ورامین
٦۷	گرگان۲	٦	سیرجان	۱۸۰	همدان- اصفهان	۲۲۳	شاهرود
۸۳	فلاورجان	۱-۳٤	بیرجند۲-	۱۰۳	همدان- جفه	۲-۲۷	شاهرود
۲-۳۰	ورامین	۱-۳٦	شهر بابک	۱۸٤	همدان- اسدآباد	۱۹۳	دامغان
۱-۱٤۷	فزوه۲	٤	سیستان و بلوچستان	۱۹٦	همدان	۲-٤۹	کرمانشاه
۸	اصفهان	۳۲	تربت	۱۸٥	همدان- کرج	٥۷	ایتالیا
۲-۱٤	کاشان۲	۲-٥٦	بم	۲۱۳	گلپایگان- همدان	۲-٥٤	ترکیه
٥	میمه			۲۱۹	مهاباد	۱-٥۲	استرالیا

* اکوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق با کدهای ارائه شده از مرکز اصلاح بذر و گیاه اصفهان قابل دسترس است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

جدول۲- نمایش توالی و مشخصات آغازگرها و میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI)

نام آغازگر	توالی آغازگر	تعدادکل باند	تعداد باند های چند شکل	درصد چند شکلی	میزان اطلاعات جند شکلی	شاخص نشانگر
MTIC345	۵'-tccgatcttgcgtcctaact-۳' ۳'-ccattgcggtggctactct-۵'	٤	۳	۷۵	۰/۵۶	۱/٦۸
B21E13	۵'-gccgatggtactaatgtagg-۳' ۳'-aaatcttgcttgcttctcag-۵'	۵	٤	۸۰	۰/۵۶	۱/٦۸
MTIC332	۵'-ccctgggtttttgatccag-۳' ۳'-ggtcatacgagctcctccat-۵'	٤	٤	۱۰۰	۰/۹٤	۳/۷٦
B14B03	۵'-gcttgttcttcttcaagctc-۳' ۳'-acctgacttgtgttttatgc-۵'	۵	٤	۸۰	۰/۷٤	۲/۹٦
MTIC432	۵'-tggaatttgggatataggaa-۳' ۳'-ggccataagaacttccactt-۵'	۵	۳	٦۰	۰/٦٦	۲/٦٤
FMT13	۵'-gatgagaaaatgaaaagaac-۳' ۳'-caaaaactcactctaacacac-۵'	۷	۵	۷۱	۰/۵۱	۳/۰۳
AFct45	۵'-taaaaaacggaaagagttggttag-۳' ۳'- gccatcttttctttgcttc-۵'	۵	٤	۸۰	۰/٦۲	۲/٤۸
MAL369471	۵'-attcacacaaacccatcttc-۳' ۳'-aaacccttagcaccgaca-۵'	٤	۱	۲۵	۰/۳٤	۰/٦۸
ENOD20	۵'-cgaacttcgaattaccaaagtct-۳' ۳'-ttgagtagcttttgggttgtc-۵'	٦	٦	۱۰۰	۰/۸٤	٤/۱۸
MTIC250	۵'-gcctgaactattgtgaatgg-۳' ۳'-cgttgatgatgttcttgatg-۵'	۵	۳	٦۰	۰/٦۲	۱/۸٦
میانگین		۵/۱	۳/۸	۷۳/٤	۰/٦۳	۲/۵

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

جدول ۳- ضرایب همبستگی دوگانه بین صفات اندازه‌گیری شده در اکوتیپ های یونجه زراعی.

صفات	علائم اختصاری	DATE	FTW	FLW	TDW	DLW	DSW	FLSrate	DSLrate	PDTW	PDLW	PDSW
تاریخ گلدهی	DATE											
وزن کل تر	FTW	-۰/۰۷										
وزن تر برگ	FLW	-۰/۰۸۹	۰/۹۳**									
وزن کل خشک	TDW	-۰/۱۰۶	۰/۹۸**	۰/۹۲۳**								
وزن برگ خشک	DLW	-۰/۱۲۵	۰/۹۳**	۰/۹۸۶**	۰/۹۳۳**							
وزن خشک ساقه	DSW	-۰/۱۰۳	۰/۹۷**	۰/۸۵۷**	۰/۹۸۷**	۰/۸۶۵**						
نسبت وزن برگ به ساقه تر	FLSrate	۰/۰۶۹	-۰/۱۳**	۰/۱۵۶	-۰/۱۴۳	۰/۱۳۸	-۰/۲۷۳*					
نسبت وزن برگ به ساقه خشک	DSLrate	۰/۰۳۲	۰/۲۷۵*	۰/۰۱۶	-۰/۲۹۷*	۰/۰۱۹	-۰/۴۱۶**	۰/۹۳۳**				
درصد ماده خشک کل بوته	PDTW	-۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۱۲۷	۰/۲۵۳*	۰/۲۲۶	۰/۲۵۴*	۰/۰۵۰	-۰/۱۱۸			
درصد ماده خشک برگ	PDLW	-۰/۰۸	-۰/۱۷	-۰/۱۹۱	-۰/۰۷۸	۰/۰۴۵	-۰/۰۹	-۰/۰۹۸	۰/۰۱۹	۰/۶۸۷**		
درصد ماده ماده خشک ساقه	PDSW	-۰/۱۴	۰/۱۹	۰/۲۳۳	۰/۲۹۹**	۰/۳۰۲*	۰/۲۸۴	۰/۲۳۶	-۰/۰۱۱	۰/۹۵۱**	۰/۴۶۴**	

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و یک درصد.

جدول۴- نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات و میزان تغییرات توجیه شده این صفات به‌کمک نشانگرها

صفت	تعداد نشانگر(T)	R^2_{max}(%)	R^2_T(%)	نشانگر سرگروه*	طول نشانگر* (bp)
تاریخ گلدهی	۸	۱۰/۳	۲۷/۳	MAL36947	۷۵
وزن کل تر	۲	۱۰/۹	۲۰/۷	B14B03	۱۱۵
وزن برگ تر	۱	۱۳/۵	۱۳/۵	B14B03	۱۱۵
وزن کل خشک	۲	۱۲/۳	۲۲	B14B03	۱۱۵
وزن برگ خشک	۱	۱۳/۵	۱۳/۵	B14B03	۱۱۵
وزن ساقه خشک	۲	۱۰/۷	۲۰/۱	B14B03	۱۱۵
نسبت برگ به ساقه تر	۵	۱۹/۲	۶۲	FMT13	۱۰۰
نسبت برگ به ساقه خشک	۳	۲۴/۱	۴۵/۶	MAL36947	۷۵
درصد ماده خشک کل بوته	۳	۱۳/۵	۳۶/۱	MTIC332	۱۳۰
درصد ماده خشک برگ	۳	۱۸/۷	۴۵/۲	ENOD20	۲۵۰
درصد ماده خشک ساقه	۳	۱۳/۱	۳۵/۳	B21E13	۱۱۵

T: تعداد نشانگرهای آگاهی بخش برای صفات کمی

R^2_T: ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای آگاهی بخش برای صفات کمی

R^2_{max}: بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر برای صفت کمی

* طول نشانگر با بیشترین R^2

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

جدول ۵- تجزیه رگرسیون چندگانه با روش گام به گام برای ۱۱ صفت زراعی بعنوان متغیرهای وابسته و نشانگرهای آگاهی بخش بعنوان متغیرهای مستقل با استفاده از ۳۷ نوار چند شکل SSR.

صفت	منبع واریانس	df	SSR_{Max}%	df	SSR Complete%
تاریخ گلدهی	X***	۱	۷۳*	۸	۲۵/۹۶
	Y****	۱۹۶	۳/۱۲	۱۸۹	۲/۵۳
وزن کل تر	X	۱	۱۹۶۵۷/۸۳**	۲	۱۸۶۳۷/۰۹
	Y	۳۸	٤۲۲۳/۹۸	۳۷	۳۸٦۲/۰۳
وزن برگ تر	X	۱	۳۲۳۲/۷۱**	۱	۳۲۳۲/۷۱
	Y	۳۸	٥٤۳/۰٥	۳۸	٥٤۳/۰٥
وزن کل خشک	X	۱	۱٤۱۳/۳۷**	۲	۱۲٦٥/۳۷
	Y	۳۸	۲٦٥/٤٤	۳۷	۲٤۲/٤۱
وزن برگ خشک	X	۱	۱۳۹**	۱	۱۳۹/٦۹
	Y	۳۸	۲۳/٥۱	۳۸	۲۳/٥۱
وزن ساقه خشک	X	۱	٦٦٤/۳۹**	۲	٦۲٥/٤۱
	Y	۳۸	۱٤٦/۱۷	۳۷	۱۳٤/۲۸
نسبت برگ به ساقه تر	X	۱	۰/۲۲٥**	٥	۰/۱٤
	Y	۳۸	۲/٤۹	۳٤	۱/۳
نسبت برگ به ساقه خشک	X	۱	۰/۱٦*	۳	۰/۱۰
	Y	۳۸	۱/۳٥	۳٦	۱/۰۲
درصد ماده خشک کل بوته	X	۱	۳٤*	۳	۳۰/٦٥
	Y	۳۸	٥/۸۰	۳٦	٤/٥۲
درصد ماده خشک برگ	X	۱	۲۲/۸۸**	۳	۱۸/٤٦
	Y	۳۸	۲/٦۲	۳٦	۱/۸٦
درصد ماده خشک ساقه	X	۱	٥٦/٤٤*	۳	٥۰/۷٤
	Y	۳۸	۹/۸٤	۳٦	۷/۷۳

* و ** به ترتیب معنی داری در سطح ۱ و ۵ درصد.

SSR_{Max}: درصدی از تغییرات که توسط متغیر مستقل اول توجیه می شود.

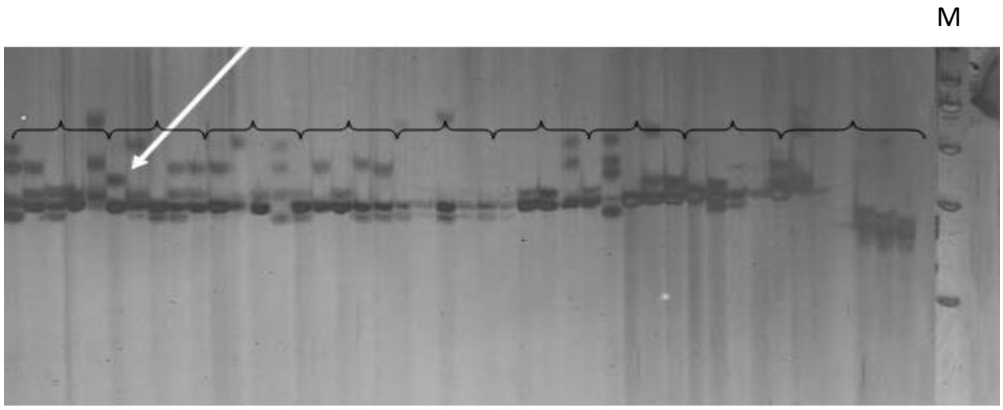
SSR Complete: درصدی از تغییرات که توسط کل متغیرهای مستقل که وارد رگرسیون شده اند توجیه می شود.

X***: رگرسیون

y****: باقیمانده (خطا)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]



شکل۱: نشانگر آگاهی بخش (علامت پیکان) مربوط به آغازگر B14B03 که با صفات وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه و کل گیاه و وزن کل تر ارتباط رگرسیونی معنی‌داری نشان داد. M نشانگر اندازه (SM1131) می‌باشد. ۱:همدان-قریه فامین‌چه؛ ۲:دامغان؛ ۳:کرمانشاه؛ ۴:همدان؛ ۵:همدان-آب انبار؛ ۶:ورامین؛ ۷:همدان (۱۹۶)؛ ۸: کوشک کرج؛ ۹:مرند-عریان تپه.

منابع

۱. رشیدی منفرد س، مردی م، حسین زاده ع، نقوی م (۱۳۸۷) تجزیه ارتباطی بین صفات زراعی مهم و نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP در نمونه های گندم دوروم، مجله ژنتیک نوین، ج ۳، ش ۲: ۳۶-۲۹.

۲. محمدی م، نقوی م ر، معالی امیری ر، رضایی م، کابلی م م، (۱۳۸۸) ارزیابی تنوع ژنتیکی یونجه‌های زراعی غرب و شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، مجله تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، (زیر چاپ).

3. Anderson J A, Church J E, Autrique S D, Thanksley S and Sorrells M E (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage map.Journal of Genome, 36(1): 181-188.

4. Bassam B, Caetano-Anolles J G and Gressho P M (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA inpolyacrylamide gels. Analytical biochemistry, 196(1): 80-83.

5. Botstein D R, White R L, Skolmick M, and Davis R W (1980) construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism, Human Genetic, 32: 314-332.

6. Bernadette J, Sandrine V, Philippe B, Gaelle C, Sylvain S, Thierry H and Christian H (2003). Construction of two genetic linkage maps in cultivated tetraploid alfalfa *(Medicago sativa)* using microsatellite and AFLP markers. BMC Plant Biology. 3:1-19.

7. Breseghello F & Sorrells M E (2005) Association of kernel size and miling quality in wheat *(Triticum sativum L.)* cultivars. Genatics, DOI 10.1534/genetics.105: 44586.

8. Eujayl I M, Sledge K, Wang L and May G D (2004) Medicago truncatula EST-SSRs reveal cross-species genetic markers for Medicago spp. Theor Appl Genet, 108: 414–422.

9. Gupta P K, Rustgi S and Kulwal P L (2005) Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. Plant Mol. Biol, 57: 461-485.

10. Langridge P, Langudah E S, Holton T A, Apples R, Sharp P J & Chalmer K J (2001) Trends in genetics and genome analysis in wheat: a review. Australian .J. Agri. Res, 52: 1043-1077.

11. Litt M, and Luty J A (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am J Hum Genet, 44: 397–401.

12. King D, Soller M and Kashi Y (1997) Evolutionary tuning knobs. Endeavour, 21: 36–40.

13. Kashi Y and Soller M (1999) Functional roles of microsatellites and minisatellites pp: 12–23. In: Goldstein D B, Schlötterer C (Eds) Microsatellites: evolution and application. Oxford University Press, Oxford, 564pp

14. Kashi Y, King D, Soller M (1997) Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. Trends Genet, 13: 74– 78.

15. Musial J M, Mackie J M, Armour J D, Phan T T H and Ellwood E S (2008) Identify of QTL for resistance and susceptibility to Stagonospora meliloti in autotetrapioid Lucern. Applied Genetic, 1148: 1427-1435.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]

16. Naghavi M R, Mardi M, Pirseyedi S M, Kazemi M, Potki P and Ghaffari M R (2007) Comparison of genetic variation among accessions of *Aegilops tauschii* using AFLP and SSR markers. Genet. Resour. Crop Evol, 54: 237-240.

17. Neale D B & Savolainen O (2004) Association genetic of complex traits in conifers. Trend Plant Science, 9: 325-330.

18. Powell W, Morgante M, Ander C, Hanafey M, Vogel J, Tingy S and Rafalaski A (1996) The comparision of RFLP, RAPD, AFLP and SSR(microsatellite) marker for germplasm analysis. Journal of Molecular Breeding, 2: 225-238.

19. Roder M S, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier M H and Gamal M W (1998) A microsatellite map of wheat, Genetics, 149: 2007-2023.

20. Roy J K, Bandopadhyay R, Rustgi S, Balyan H S and Gupta P K (2006) Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. Current Science, 90:5-10.

21. Saghai-Maroof M A, Soliman K M, Jorgensen R A and Allad R W (1984) DNA spacerlength polymorphismin barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci USA, 81: 8014-8018.

22. Sledge M K, Ray I M and Jiang G (2005) An expressed sequence tag SSR map of tetraploid alfalfa *(Medicago sativa* L.*)*. Theor Appl Genet, 111: 980–992.

23. Skøt L, Humphreys M O, Armstead I P, Heywood S, Skøt K P, Sanderson R, Thomas I D, Chorlton K H and Sackville Hamilton N R (2005). An association mapping approach to identify flowering time genes in natural populations of *Lolium perenne* (L.). Molecular Breeding, 15: 233-245.

24. Zi-Xiang W, Tuan-Jie Z, Yong-Zhan Z, Shun-Hu L, Chun-E W, Fang W and UN-I C (2008) Association Analysis of Agronomic and Quality Traits with SSR Markers in *Glycine max* and *Glycine soja* in China: Population Structure and Associated Markers. acta agronomica sinica, 34: 1169-1 178.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.7.0]