ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره۳، پاییز ۱۳۹۳
صفحه ۲۸۸- ۲۷۹

مطالعه تنوع ژنتیکی گندم نان (*Triticum aestivum* L.) به کمک نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه ارتباطی برای صفات فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره

Genetic diversity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) as revealed by microsatellite markers and association analysis of physiological traits related to spring cold stress

مجید محمدی [۱]، سیدرضاقلی میرفخرایی*[۱]، علیرضا عباسی [۲]

۱- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار دانشگاه تربیت مدرس
۲- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج دانشگاه تهران

Mohamadi M[1], Mirfakhraee SRG*[1], Abbasi AR[2]

1.Graduated MSc and Assistant Professor, Tarbiat Modares University, Tehran
2. Assistant Professor, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abdhoorz@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۷- تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۳)

چکیده

وجود تنوع ژنتیکی برای تداوم و پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی و افزایش کارایی انتخاب ضروری است. در این راستا نشانگرهای مولکولی بطور موفقیت‌آمیز در ارزیابی تنوع ژنتیکی انواع گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بدین منظور ۲۰ رقم گندم نان در قالب طرح کاملا تصادفی کشت شدند و ۵ صفت فیزیولوژیک کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و پایداری غشا سیتوپلاسمی در آنها اندازه‌گیری شد و همچنین در سطح مولکولی نیز از ۱۲ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد. جهت تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام و ارقام مورد بررسی به چهار گروه تقسیم شدند. سطح اطلاعات چند شکلی از ۰/۳۲ (مکان ژنیXgwm10) تا ۰/۷۲۵ (مکان ژنی Xgwm33) برای نشانگرهای SSR متفاوت بود. با استفاده از روش رگرسیون گام به گام ارتباط بین هر کدام از ۵ صفت فیزیولوژیک و ۴۰ نشانگر چند شکل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام ارتباط معنی‌دار دو نشانگر را با ۵ صفت فیزیولوژیک در دمای شاهد (۸°C) و ارتباط معنی‌دار ۶ نشانگر را با ۵ صفت تحت تنش شدید (۲°C-) نشان داد که می‌توان از آنها در انتخاب مقدماتی در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. همچنین نتایج نشان داد که برخی ازنشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط دارند که بیانگر پیوستگی صفات با یکدیگر و یا تاثیر ژن‌های چند اثره می‌تواند باشد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه ارتباط
تنش سرمای بهاره
تنوع ژنتیکی
گندم
نشانگر ریزماهواره

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

مقدمه

دما یکی از عوامل مهم محیطی است که در گسترش و پراکنش موجودات زنده نقش مهمی ایفا می‌کند. خطرات دمایی مربوط به نوسانات آن است که بیشترین خسارت را بر گیاهان زراعی وارد می‌سازد (Samach and Wigge 2005). تنش‌های محیطی، از جمله سرما، سبب کاهش معنی‌دار در عملکرد محصولات کشاورزی می‌شوند. با توجه به اینکه اقلیم‌های سرد و فراسرد، بیش از ۶۲ درصد از سطح کشور را تحت پوشش خود دارند (Khalili et al. 1991). می‌توان انتظار داشت، تنش سرما در فرم‌های سرمازدگی[1]، انجماد[2] و افت ناگهانی دما[3]، زراعت‌های گندم را در اراضی واقع در اقلیم‌های مذکور با آسیب‌های جدی مواجه سازد (Mirfakhraii et al. 2010). آگاهی از نقش صفات فیزیولوژیک موثر بر فاکتورهای محدودکننده عملکرد و نحوه توارث آنها به منظور طراحی برنامه‌های به‌نژادی دقیق‌تر، برای بهبود ژنتیکی پتانسیل عنملکرد، ضروری است (Hall 2001).

امروزه از نشانگرهای مولکولی DNA به عنوان ابزار مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم‌پلاسم‌ها و تعیین مکان ژن‌های مقاومت به بیماری و تنش‌های محیطی و همچنین رابطه بین اجداد اولیه و رقم‌های اصلاح شده در گیاهان استفاده می‌شود. در این میان، نشانگرهای ریزماهواره به دلیل چندشکلی بالا (Condon et al. 2008)، توارث پذیری، همبارز بودن و فراوانی در گیاهان، نشانگرهای ایده‌آلی برای دامنه‌ی وسیعی از کاربردها از جمله تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به کمک نشانگر، مطالعات ژنتیک جمعیت و تکاملی، انگشت نگاری ژنتیکی، تجزیه و تحلیل شجره‌نامه و مشخص کردن میزان تغییرات تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم‌ها هستند (Roder et al. 1998; Kolliker 2001). مطالعه روابط بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای کاربردهای متعددی است که برخی از آن‌ها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص، شناسایی الل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌های ژرم‌پلاسمی، تسهیل مکان‌یابی دقیق الل‌های صفات کمی و تأیید ژن‌های کاندیدای مرتبط با صفات کمی (Gebhardt et al 2004). در گندم تعداد زیادی ژن برای صفات متفاوت (از جمله صفات کیفی، مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی) شناسایی شده‌اند. شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم زراعی یکی از مهمترین روش‌ها برای تسریع انتقال صفات مطلوب به ژنوتیپ‌های دیگر و ردیابی آن‌هاست. اصولی‌ترین روش شناسایی این نشانگرها تهیه جمعیت‌های در حال تفرق و پس از آن ردیابی صفات کیفی و یا کمی در این جمعیت‌ها می‌باشد، تا بر اساس آن نشانگرهای پیوسته شناسایی شوند. در حالتی که صفت کمی باشد تهیه نقشه پیوستگی یک امر مهم در مکان‌یابی آلل‌های آن است. ولی برای صفات کیفی تهیه نقشه لینکاژی تنها در اطراف ژن مورد نظر کافی است و از طریق روش تجزیه تفرق توده نیز قابل تحقیق است (Naghavi et al. 2007). چون تهیه جمعیت‌های در حال تفرق وقت گیر و پرهزینه است، اگر بتوان قبل از تهیه این جمعیت‌ها، نشانگرهای دارای ارتباط مناسب با صفات مورد نظر را از طریق تجزیه رگرسیونی شناسایی کرد می‌توان از آنها در برنامه‌های اصلاحی به عنوان نشانگرهای آگاهی بخش[4] استفاده کرد (Ranjbar et al. 2009). بررسی ارتباط بین نشانگرها و صفات زراعی نه تنها نقشه‌یابی ژن‌ها را تسهیل کرد بلکه شناسایی ژن‌هایی را نیز که در نقشه‌یابی‌های مبتنی بر لینکاژ قابل ردیابی نیستند، مقدور می‌سازد (Roy et al. 2006).

در مطالعه‌ای، ۳۰ رقم گندم را با ۲۴ آغازگر ریزماهواره ارزیابی و در مجموع ۱۱۵ آلل در دامنه‌ای از ۲ تا ۹ آلل و میانگین ۴/۶ آلل برای هرجایگاه گزارش کردند (Liu et al. 2007). در مطالعه‌ای در ایران ۳۶ توده وحشی گندم‌های دیپلوئید غرب ایران را با ۱۴ آغازگر RAPD، ۱۷ آغازگرAFLP و۱۷ آغازگر SSR ارزیابی و میزان اطلاعات چند شکلی به ترتیب ۰/۴۵ ، ۰/۵۶ و۰/۸۱ به‌دست آمد که نشانگر SSR بیشترین میزان اطلاعات چند شکلی را داشت (Naghavi et al. 2009). در مطالعه با استفاده از تجزیه ارتباط و نشانگرهای SSR، یازده QTL را با صفت محتوای پروتئین در ۹۶ نمونه سویا شناسایی کردند که برخی از این QTLها قبلاً شناسایی نشده بودند (Shalini et al. 2007). در گزارشی ارتباط بین ۱۱ صفت زراعی و ۵۰ نشانگر مولکولی با استفاده از رگرسیون گام به گام بررسی شد که در مجموع ۱۷

[1] Frost
[2] Freezing
[3] Chilling
[4] Informative markers

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

نشانگر ریزماهواره رابطه معنی‌داری با حداقل یکی از ۱۱ صفت مورفولوژیک نشان دادند (Mohammadi et al. 2010) در مطالعه‌ای دیگر تجزیه ارتباط ۱۰ صفت زراعی با ۷۰ نشانگر ریزماهواره بر روی ۱۱۵ ژنوتیپ بومی جو ایرانی مشخص شد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط هستند (Ebrahimi et al. 2011).

مواد و روش‌ها

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی تحت تنش سرمای بهاره

این تحقیق در گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس و پردیس کشاورزی کرج، دانشگاه تهران در یک آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ۲۰ رقم گندم نان به اسامی: گاسپارد، طوس، الموت، آذر۲، سرداری، زرین، سبلان، بزوستایا (زمستانه)، پیشتاز، چمران، روشن، بک‌کراس‌روشن، نیک‌نژاد، زاگرس، تجن، بهار، فلات (بهاره)، قدس، کراس اروند، مهدوی (بینابین) که از مؤسسه اصلاح بذر و نهال تهیه شدند و ۴ تیمار سرمایی (۸+(شاهد)، ۲+، صفر و ۲- درجه سانتی‌گراد) بودند. با رسیدن بوته‌های گندم به اوایل مرحله زایشی (سنبله‌دهی و گلدهی، کد زیداکی برابر ۵۰ الی ۶۸) (zadoks et al. 1974)، گلدان‌ها برای القا تنش سرما، به اتاقک رشد منتقل و به مدت یک هفته در دمای ۱۶°C روز به مدت ۱۶ ساعت و ۸°C شب به مدت۸ ساعت قرار گرفتند و بعد از طی این مدت برای شروع تنش، نمونه‌ها در دمای ۸°C و در تاریکی مطلق قرار داده شدند. پس از آن هر یک ساعت، ۲°C دما کاهش داده شد، و با رسیدن به هر یک از سطوح دماهای ۲+، صفر و ۲- درجه سانتی‌گراد، گلدان‌ها به مدت دو ساعت تحت تنش سرما قرار گرفتند و بعد از پایان تنش، دمای محیط هر ساعت ۲°C افزایش داده شد تا دمای محیط به شرایط دمای شاهد رسید و گلدان‌های شاهد نیز به منظور مقایسه تاثیر سرما بر گیاه گندم در شرایط عادی و بدون تنش روز/شب ۸/۱۶ و دمای ۸°C/۱۶°C قرار داده شدند، و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌گیری به عمل می‌آمد. برای اندازه‌گیری کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید از روش (Lichtenthaler 1987) و تعیین پایداری غشا سیتوپلاسمی از روش (Bertin et al. 1996) استفاده شد.

ارزیابی مولکولی

در این تحقیق، از ۱۲ جفت نشانگر ریزماهواره استفاده شد (Roder et al. 1998). استخراج دی.ان.ا. از برگ به روش دلاپورتا انجام گرفت (Dellaporta et al. 1983). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر دی.ان.ا. ژنومی (غلظت ۵۰-۴۰ نانوگرم)، ۱/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۱/۵ میکرولیتر dNTPs (دو میلی‌مولار)، یک میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیش‌رو و پس‌رو (۱۰pmol/µl)، نیم واحد آنزیم Taq پلیمراز (۰/۱ میکرولیتر)، ۰/۷۲ میکرولیتر از کلرید منیزیم ۲۵ میلی مولار و ۷/۱۸ میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴°C به مدت چهار دقیقه، ۳۵ چرخه حرارتی (۱۰ چرخه اول سیکل حرارتی به صورت Touch Down) برنامه‌ریزی شده بود و دمای اتصال آغازگرها به رشته الگو ۱۰°C بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه بخش اول با کاهش یک درجه سانتی‌گراد، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعدی به بعد دمای اتصال ثابت (بر حسب دمای اتصال آغازگر) و در زمان ۳۰ ثانیه انجام شد. در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشته‌سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۴°C در نظر گرفته شد. همچنین زمان و دمای بسط رشته به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۷۲°C بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل امید واسرشته‌ساز تفکیک و رنگ‌آمیزی به روش نیترات نقره انجام گرفت (An et al. 2009).

تجزیه‌های آماری

همبستگی بین صفات با استفاده از میانگین داده‌های فیزیولوژیک، محاسبه شد. برای داده‌های مولکولی بر اساس وجود باند یک و عدم وجود آن صفر برای هر جفت آغازگر اختصاصی کد گذاری شد. میزان اطلاعات چند شکلی آغازگرها با استفاده از فرمول PIC=1-∑Pi2 محاسبه شد (Powell et al. 1996). و برای گروه‌بندی ارقام از تجزیه خوشه‌ای با روش دورترین همسایگی و معیار تشابه جاکارد از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.02 استفاده شد. سپس تجزیه رگرسیونی ۵ صفت فیزیولوژیک در ۲۰ رقم گندم

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

جدول۱- جدول تجزیه واریانس صفات محتوای کلروفیل کل، a ، b، کارتنوئید و نشت یونی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	نشت یونی
رقم	۱۹	۸۲/۷۲۲**	۱۱/۴۱۴**	۷/۳۲۳**	۶/۱۷۴**	۱۰۰/۴۵**
تنش سرما	۳	۷۷/۳۳۱**	۶/۵۴۰**	۵/۴۹۹**	۱۰/۸۵۸**	۱۲۱۴/۸۷۳**
رقم×تنش سرما	۵۷	۵/۱۹۴*	۰/۷۶۴*	۰/۵۱۸*	۰/۶۰۲**	۴۵/۷۶۲**
اشتباه	۱۶۰	۳/۳۰۵	۰/۵۳۳	۰/۳۲۱	۰/۳۲۷	۱۴/۶۳۷
CV%		۱۱/۵۶	۱۴/۱۵	۱۸/۸۹	۱۹/۰۶	۲۵/۹

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

نان با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 با روش رگرسیون گام به گام انجام شد به طوری‌که در هر بار تجزیه یکی از صفات فیزیولوژیکی به عنوان متغیر وابسته (Y) و کلیه نشانگرها به عنوان متغیرهای مستقل (X) در تجزیه وارد شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که سطوح تنش سرما، ارقام و اثرات متقابل ارقام و تنش سرما در کلیه صفات اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱).

بر اساس میانگین تکرارهای هر رقم ضرایب همبستگی ساده تمامی صفات مورد بررسی تحت دو شرایط شاهد (۸°C) و تنش شدید (۲°C-) محاسبه شد. در شرایط شاهد همبستگی بین صفات رنگدانه‌های گیاهی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اما بین صفت نشت یونی با صفات رنگدانه‌های گیاهی همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۲). همچنین در شرایط تنش شدید همبستگی بین صفات رنگدانه‌های گیاهی کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی‌دار بود. لیکن بین صفت نشت یونی با صفات رنگدانه‌های گیاهی همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۲).

نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی در مجموع توانستند ۴۰ آلل چند شکل با میانگین ۳/۳۳ در هر جایگاه را شناسایی کنند. تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر مکان ژنی بین دو تا ۶ آلل بود که آغازگرهای Xgwm165 و Xgwm33 با ۶ آلل بیشترین تعداد را در میان آلل‌های تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. محتوای اطلاعات چندشکلی به ازای هر نشانگر برابر با میانگین ۰/۵۱۱ بود که بیشترین محتوای اطلاعات چند شکلی با مقدار ۰/۷۲۵ مربوط به نشانگر Xgwm33 با ۶ آلل چند شکل و کمترین میزان محتوای اطلاعات چند شکلی با مقدار ۰/۳۲ مربوط به نشانگر Xgwm10 با دو آلل چند شکل بود. فراوانی آلل رایج (آللی که بیشترین فراوانی را در بین آلل‌های یک جایگاه دارد) در این مطالعه از ۰/۴ (Xgwm33) تا ۰/۸ (Xgwm2 و Xgwm10) متغیر بود (جدول۳). مقایسه تعداد آلل‌های چند شکل و فراوانی آلل رایج در جایگاه‌های ریزماهواره نشان داد که نشانگرهایی با تعداد آلل چند شکل کمتر، حداکثر آلل رایج را داشتند. با بررسی دو پارامتر محتوای اطلاعات چندشکلی و فراوانی آلل رایج مشخص شد که نشانگرهایی با محتوای اطلاعات چند شکلی بالا، فراوانی آلل رایج کمتری داشتند. مقایسه نشانگرهایی با توالی تکراری متفاوت نشان داد که نشانگرهایی با توالی تکراری دو نوکلئوتیدی دارای بیشترین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چندشکلی و کمترین میزان فراوانی آلل رایج بودند.

در مطالعه‌ای، ۳۰ رقم گندم را با ۲۴ آغازگر ریزماهواره ارزیابی و در مجموع ۱۱۵ آلل در دامنه‌ای از دو تا ۹ آلل و میانگین ۴/۶ آلل برای هرجایگاه گزارش کردند (Liu et al. 2007). در مطالعه‌ای دیگری، ۱۰ رقم از گندم‌های پاکستان را با ۱۴ آغازگر ریزماهواره ارزیابی و میانگین ۵/۲ آلل در هر جایگاه ژنی گزارش کردند (Zeb et al. 2009). در مطالعه‌ای در ایران ۳۶ توده وحشی گندم

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

جدول۲- ضرایب همبستگی ساده بین صفات فیزیولوژیک مورد مطالعه در ارقام گندم بهاره در شرایط دمایی شاهد (بالای قطر) و شرایط تنش شدید (۲-°C) (پایین قطر).

صفات	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	نشت یونی
کلروفیل a	۱	۰/۹۸۱**	۰/۹۹۹**	۰/۹۵۱**	۰/۰۷۵ ns
کلروفیل b	۰/۹۶۸**	۱	۰/۹۸۹**	۰/۹۰۴**	۰/۰۰۳ ns
کلروفیل کل	۰/۹۹۸**	۰/۹۸۳**	۱	۰/۹۴۲**	۰/۰۵۶ ns
کارتنوئید	۰/۹۵۱**	۰/۸۶۸**	۰/۹۳۵**	۱	۰/۰۱۵ ns
نشت یونی	-۰/۲۱۵ns	-۰/۱۸۲ ns	-۰/۲۰۷ ns	-۰/۲۲۸ ns	۱

ns و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

جدول۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه و تعداد آلل چند شکل، فراوانی آلل رایج ومحتوای اطلاعات چند شکلی نشانگرهای ریزماهواره

نشانگر	مکان نشانگر	آغازگر معکوس (5′-3′)	آغازگر پیشرو (5′-3′)	نوع توالی تکراری	دمال اتصال (°C)	تعداد آلل	فراوانی آلل رایج	PIC
Xgwm284	۳B	GGA GTC ACA CTT GTT TGT GCA	CAC TGC ACA CCT AAC TAC CTG C	(GA)19	۶۰	۴	۰/۵۰	۰/۶۱۵
Xgwm68	۵B	CGC ACC ATC TGT ATC ATT CTG	TGG TCG TAC CAA AGT ATA CGG	(AT)5 (GT)15	۵۰	۳	۰/۷۵	۰/۳۹۵
Xgwm113	۴A	CTG CAA GCC TGT GAT CAA CT	CAT TCT CAA ATG ATC GAA CA	(CA)18	۵۰	۳	۰/۶۰	۰/۵۵۵
Xgwm583	۵D	TGC AGT GGT CAG ATG TTT CC	CTT TTC TTT CAG ATT GCG CC	(GA)20	۶۰	۲	۰/۷۵	۰/۳۷۵
Xgwm33	۱A	CGG CCC TAT CAT GGC TG	GCT TGC AAG TTC CAT TTT GC	(CA)34	۶۰	۶	۰/۴۰	۰/۷۲۵
Xgwm10	۲A	AGA CTG TTG TTT GCG GGC	TAG CAC GAC AGT TGT ATG CAT G	(CT)19	۶۰	۲	۰/۸۰	۰/۳۲۰
Xgwm191	۲B	AAT GAA AAA ACA CTT GCG TGG	GCA CAT TTT TCA CTT TCG GG	(GA)17	۶۰	۴	۰/۴۵	۰/۶۷۵
Xgwm146	۷B	ATT CGA GGT TAG GAG GAA GAG G	GAG GGT CGG CCT ATA AGA CC	(GT)12	۵۵	۲	۰/۶۵	۰/۴۵۵
Xgwm608	۴D	AGG CCA GAA TCT GGG AAT G	CTC CCT AGA TGG GAG AAG GG	(GA)3(G)3(GA)25	۶۰	۲	۰/۷۵	۰/۳۷۵
Xgwm471	۷A	CCA AAA AAA CTG CCT GCA TG	CTC TGG CAT TGC TCC TTG G	(GA)5GG(GA)20	۶۰	۴	۰/۶۰	۰/۵۷۵
Xgwm165	۴B	ACA TTG TGT GTG CGG CC	GAT CCC TCT CCG CTA GAA GC	(GA)16	۶۰	۶	۰/۴۵	۰/۶۹۲
Xgwm2	۳A	TTC ACA CCC AAC CAA TAG CA	TCT AGG CAG ACA CAT GCC TG	(CA)27	۶۰	۲	۰/۸۰	۰/۳۷۵
میانگین	--	----------	----------	----------	--	۳/۳۳	۰/۶۲	۰/۵۱

های دیپلوئید غرب ایران را با ۱۴ آغازگر RAPD، ۱۷ آغازگر AFLP و۱۷ آغازگر SSR ارزیابی و میزان اطلاعات چند شکلی به ترتیب ۰/۴۵، ۰/۵۶ و ۰/۸۱ به‌دست آمد که نشانگر SSR بیشترین میزان اطلاعات چند شکلی را داشت (Naghavi et al. 2009). در مطالعه‌ای دیگر در ایران ۲۱ رقم و لاین گندم ایرانی را با استفاده از ۵۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند. تعداد آلل‌ها از دو تا ۱۰ آلل متغیر و میانگین تعداد آلل در جایگاه‌ها برابر با ۵/۳ بود. همچنین محتوی اطلاعات چند شکلی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

را از ۰/۱۸۸ تا ۰/۷۵۵ و با میانگین ۰/۵۶ گزارش کردند (Fazelinasab et al. 2006).

از نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات مشابه نشان می‌دهد که محتوای اطلاعات چند شکلی نمی‌تواند عدد ثابتی باشد و به عواملی متعددی نظیر تعداد آلل در هر جایگاه و به محتوای نوکلئوتیدهای G و T در نواحی تکرارشونده وابسته است (roder et al. 1998). تکرارهای دو نوکلئوتیدی نسبت به سه و چهار و حتی تکرارهای بیشتر، چند شکلی بیشتری می‌توانند داشته باشند (Maccaferri et al. 2003). تفاوت در تعداد آلل شناسایی شده در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل منشا و خصوصیات متفاوت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و نیز ماهیت نشانگرهای ریزماهواره از نظر تعداد نوکلئوتید واحدهای تکراری باشد (Jamali rad et al. 1387) . همچنین تعداد ژنوتیپ و تعداد آغازگر ریزماهواره نیز همبستگی مثبتی با محتوای چند شکلی دارند (Prasad et al. 2000).

با توجه به ماتریس تشابه بدست آمده، دو رقم زاگرس و سرداری، بیشترین شباهت ژنتیکی معادل ۰/۹۲۸ که هر دو از رقم‌های دیم محسوب می‌شوند و دو رقم گاسپارد و فلات، کمترین شباهت ژنتیکی معادل ۰/۱۲۵ را داشتند. با توجه به اینکه رقم فلات دارای تیپ رشد بهاره که رقم وارداتی از مرکز سیمیت می‌باشد و برای مناطق نیمه گرمسیری تا گرمسیری توصیه شده است و رقم گاسپارد که دارای تیپ رشد زمستانه بوده و از ارقام وارداتی فرانسوی می‌باشد، احتمالا این فاصله ناشی از اختلاف در فواصل جغرافیایی و ژنتیکی بین این دو رقم می‌باشد. بررسی دندروگرام‌های حاصل از روش‌های مختلف نشان داد که الگوریتم دورترین همسایگی بر اساس ضریب تشابه جاکارد بهترین گروه‌بندی را ارائه کرد. با توجه به‌اینکه همبستگی کوفنتیک این دندروگرام ۰/۷۱ بود و معنی‌دار بودن در سطح احتمال یک درصد و نیز جداسازی قابل توجیه ژنوتیپ‌ها، این الگوریتم انتخاب شد. در گروه‌بندی حاصل ارقام در چهار گروه قرار گرفتند و با توجه به تیپ رشدی خود تا حدود زیادی از هم تفکیک شدند (شکل ۱).

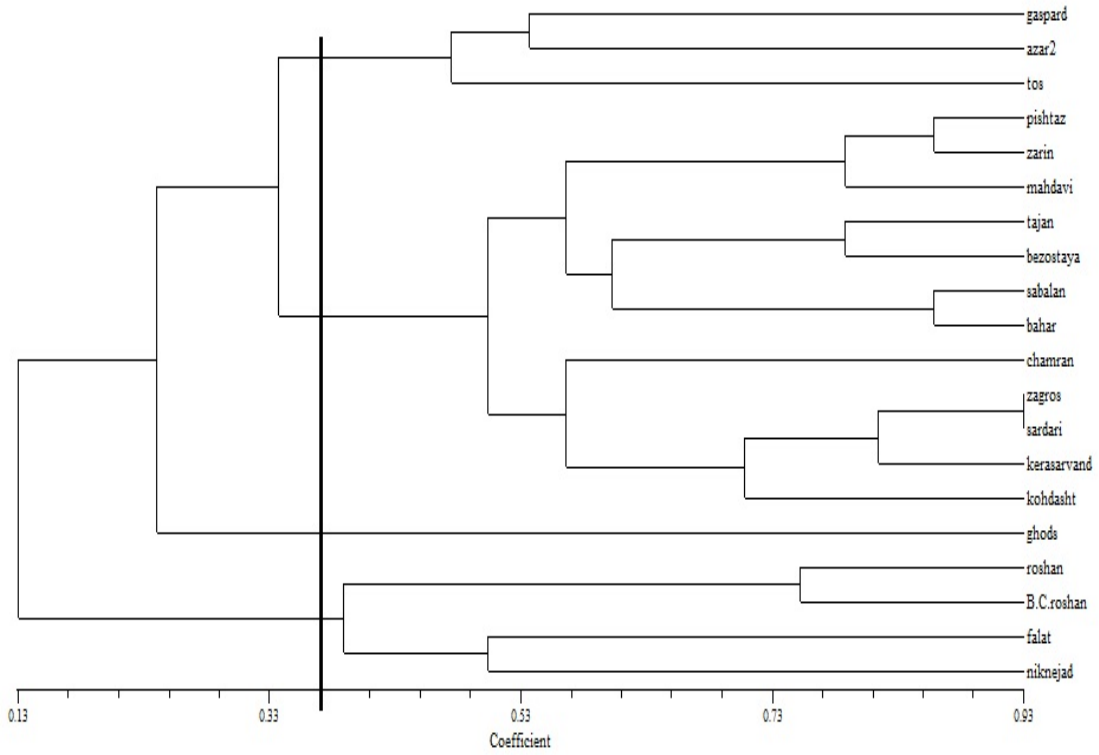
تجزیه ارتباط ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای ریزماهواره و صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در تحمل به تنش سرمای بهاره در ارقام گندم، برای هر صفت بطور جداگانه رگرسیون گام به گام انجام گرفت و مشخص شد که بیشترین تعداد نشانگر در شرایط شاهد و تنش شدید مربوط به صفت کارتنوئید به ترتیب دو و سه نشانگر بود. بیشترین ضریب تبیین در شرایط شاهد مربوط به صفت کارتنوئید (۳۶/۲ درصد) و در شرایط تنش برای صفت نشت یونی (۳۵/۸ درصد) بود. همچنین بیشترین ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای آگاهی بخش در شرایط شاهد (۵۶/۵ درصد) و تنش (۷۳/۵ درصد) مربوط به صفت کارتنوئید بود (جدول۴). نشانگر Xgwm583 در شرایط شاهد با کلیه صفات همبستگی نشان داد و توانست ۲۵/۲ درصد تا ۳۶/۲ درصد تغییرات صفات مورد بررسی را توجیه کند. همچنین در شرایط تنش شدید، نشانگر Xgwm146 به غیر از صفت نشت یونی با کلیه صفات همبستگی نشان داد و توانست ۲۳/۲ درصد تا ۳۰ درصد تغییرات صفات مورد بررسی را، بر اثر تنش سرمای بهاره، توجیه کند. بیشترین ضریب تبیین نشانگرها در شرایط شاهد مربوط به نشانگر Xgwm583 (۳۶/۲ درصد) و در شرایط تنش مربوط به نشانگر Xgwm284 (۳۵/۸ درصد) بود (جدول ۴).

نشانگرهای Xgwm583 و Xgwm146 با بیش از یک صفت ارتباط نشان داشتند. با توجه به وجود همبستگی معنی‌دار (جدول ۲) بین صفات رنگدانه‌های گیاهی می‌توان دریافت که برخی از این صفات پیوستگی بسیار نزدیکی با یکدیگر دارند و یا احتمالا به صورت ژن‌های چند اثره در مکان‌های کروموزومی مستقر می‌باشند. برای درک این موضوع تهیه نسل‌های در حال تفرق و نقشه‌های پیوستگی ضروری می‌باشد (Ebrahimi et al. 2010). البته برای اطمینان از وجود ارتباط پیوستگی بین نشانگرها و صفات مختلف زراعی نیاز به تهیه جمعیت‌های تفرق مانند F2، RIL[1] و DH[2] می‌باشد تا بر اساس این جمعیت‌ها نقشه‌های پیوستگی تهیه و سپس محل مکان‌های کنترل کننده این صفات بر روی کروموزوم‌ها مشخص شوند (Bassam et al. 1991).

در تحقیقی تجزیه ارتباط بین ۱۱ صفت زراعی و ۵۱۹ نشانگر که شامل ۲۲۱ نشانگر SSR، ۴۳ نشانگر SAMPL و ۲۵۵ نشانگر AFLP را در گندم نان انجام دادند، در نشانگرهای SSR بیشترین

[1] Recombinant inbred line
[2] Double haploid

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام گندم نان با استفاده از الگوریتم دورترین همسایگی و ضریب تشابه جاکارد

جدول ۴- تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات فیزیولوژیکی و درصد تغییرات توجیه شده این صفات به کمک نشانگرها.

صفت		تعداد نشانگر (T)	R^2_{max} (%)	R^2_T (%)	نشانگرهای مرتبط
کلروفیل a	شاهد	۱	۳۴/۵	۳۴/۵	Xgwm583
	تنش	۲	۲۳/۶	۴۵/۶	Xgwm583 و Xgwm146
کلروفیل b	شاهد	۱	۳۴/۹	۳۴/۹	Xgwm583
	تنش	۲	۲۳/۲	۴۴/۴	Xgwm583 و Xgwm146
کلروفیل کل	شاهد	۱	۳۵/۱	۳۵/۱	Xgwm583
	تنش	۲	۲۳/۶	۴۵/۶	Xgwm583 و Xgwm146
کارتنوئید	شاهد	۲	۳۶/۲	۵۶/۵	Xgwm583 و Xgwm165
	تنش	۳	۳۰	۷۳/۵	Xgwm583 و Xgwm68 و Xgwm146, Xgwm10
نشت یونی	شاهد	۱	۲۵/۲	۲۵/۲	Xgwm583
	تنش	۲	۳۵/۸	۵۹/۳	Xgwm284 و Xgwm10

T) تعداد نشانگرهای آگاهی بخش برای صفت کمی؛ R^2_{max}) بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر برای صفت کمی (درصد)؛ R^2_T) مجموع کل ضریب تبیین نشانگرهای آگاهی بخش برای صفات کمی (درصد).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

جدول ۵- نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام نشانگرهای ریزماهواره و صفات فیزیولوژیک

صفت		منبع واریانس	df	SSR max%	df	SSR complete%
کلروفیل a	شاهد	X	۱	۶/۵۶**	۱	۶/۵۶**
		Y	۱۸	۰/۶۹۱	۱۸	۰/۶۹۱
	تنش	X	۱	۴/۴۷*	۲	۴/۳۳**
		Y	۱۸	۰/۸۰۷	۱۷	۰/۶۰۸
کلروفیل b	شاهد	X	۱	۶/۶۳**	۱	۶/۶۳**
		Y	۱۸	۰/۶۸۷	۱۸	۰/۶۸۷
	تنش	X	۱	۴/۴۰*	۲	۴/۲۱**
		Y	۱۸	۰/۸۱۱	۱۷	۰/۶۲۲
کلروفیل کل	شاهد	X	۱	۶/۶۶**	۱	۶/۶۶**
		Y	۱۸	۰/۶۸۵	۱۸	۰/۶۸۵
	تنش	X	۱	۴/۴۹*	۲	۴/۳۳**
		Y	۱۸	۰/۸۰۶	۱۷	۰/۶۰۸
کارتنوئید	شاهد	X	۱	۶/۸۸**	۲	۵/۳۶**
		Y	۱۸	۰/۶۷۳	۱۷	۰/۴۸۶
	تنش	X	۱	۵/۷۱*	۳	۴/۶۵***
		Y	۱۸	۰/۷۳۸	۱۶	۰/۳۱۵
نشت یونی	شاهد	X	۱	۴/۷۹*	۱	۴/۷۹*
		Y	۱۸	۰/۷۸۹	۱۸	۰/۷۸۹
	تنش	X	۱	۶/۸۱**	۲	۵/۶۴***
		Y	۱۸	۰/۶۷۷	۱۷	۰/۴۵۴

*، ** و *** به ترتیب معنی‌دارای در سطح پنج، یک و یک دهم درصد

X) رگرسیون؛ Y) انحراف از رگرسیون؛ SSR max) درصدی از تغییرات که توسط متغیر مستقل اول توجیه می‌شود؛ SSR complete) درصدی از تغییرات که توسط کل متغیرهای مستقل منظور شده در رگرسیون توجیه می‌شود.

میزان ضریب تبیین برای صفت شاخص برداشت با ۲۸ درصد و در نشانگرهای SAMPL بیشترین میزان ضریب تبیین برای صفت شاخص برداشت با ۲۰ درصد و در نشانگرهای AFLP بیشترین میزان ضریب تبیین برای صفت تعداد گلچه در خوشه با ۲۹ درصد مشخص شد. بررسی‌ها نشان داد در مورد نشانگرهایی که توزیع یکنواختی در اطراف صفات زراعی مورد بررسی داشتند، با توالی‌یابی نشانگرهای دارای ضریب تبیین بالا می‌توان به شناسایی ژن‌های رمزکننده صفات زراعی و همچنین نشانگرهایی که دارای ارتباط فراوان با آن صفت هستند جهت اشباع نقشه‌های پیوستگی امیدوار بود (Roy et al. 2006). در مطالعه‌ای ارتباط بین ۱۳ صفت کمی و ۱۴۰ نشانگر مولکولی SSR در ۷۰ نمونه *Aegilops crassa* بومی ایران با استفاده از رگرسیون گام به گام مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد که تعداد ۸۷ نشانگر حداقل با یکی از ۱۳ صفت کمی، ارتباط معنی‌دار دارند و بعضی از نشانگرها در چندین صفت مشترک بود که این صفات همبستگی معنی‌داری باهم داشتند (Ranjbar et al. 2009). در مطالعه‌ی دیگری ارتباط بین ۱۰ صفت زراعی و ۷۰ نشانگر حاصل از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره روی ۱۱۵ ژنوتیپ جو بومی ایران مشخص شد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط دارند که بر این اساس صفات مورد نظر یا دارای پیوستگی بسیار نزدیکی باهم هستند و یا احتمالا تحت‌تاثیر ژن-های چند اثره قرار می‌گیرند (Ebrahimi et al. 2011).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

در تهیه نقشه‌های پیوستگی، اطلاعات نشانگری حاصل از تحقیق حاضر در جهت انتخاب آغازگرهای مناسب می‌تواند مفید باشد ولی زمان‌بر بودن تهیه جمعیت‌های در حال تفرق برای نقشه‌یابی و در مواردی فقدان لینکاژ مناسب بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی از مهمترین محدودیت‌ها در زمینه نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی می‌باشد (Gupta et al. 2005) که با آنالیز ارتباطی می‌توان بر این محدودیت‌ها فائق آمد. به عبارت دیگر با توجه به وجود این روابط، کاربرد نشانگرهای مولکولی به همراه تجزیه رگرسیون چندگانه، کمک قابل توجهی در استفاده از تنوع زیستی گیاهان فراهم می‌آورد. علاوه بر این، در صورتی که ژرم‌پلاسم موجود از یک گونه از لحاظ صفات کمی مهم در شرایط خاص (مانند تحمل تنش) با استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزیابی شود، داده‌های حاصل از نشانگرها، ابزار ارزشمندی برای ارزیابی ژرم‌پلاسم‌های دیگر و در نهایت شناسایی مواد ژنتیکی مطلوب حتی در شرایط آزمایشگاهی خواهد بود (Virk et al. 1996). بنابراین این مطالعه ارزش ژرم-پلاسم‌های گیاهی را به عنوان ذخایر توارثی مفید و یا به عنوان منابع اطلاعات در خصوص صفات فیزیولوژیک تحت‌تاثیر تنش سرمای بهاره را مشخص می‌کند.

منابع

An ZW, Xie LL, Cheng H, Zhou Y, Zhang Q, He XG, Huang HS (2009) A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry 391: 77-79.

Bassam B, Caetano-Anolles JG, Gressho PM (1991) Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Annual Biochemistry 19: 680-683.

Bertin P, Bouharmont J, Kinet JM (1996) Somaclonal variation and improvement in chilling tolerance in rice. Plant Breeding 115: 268-273.

Condon F, Charles Gustus D, Rasmusson C, Kevin PS (2008) Effect of advanced cycle breeding on genetic diversity in barley breeding germplasm. Crop Science 48: 1027-1036.

Dellaporta S, Wood L, Hicks JB (1983) A plant DNA minipreparation. plant molecular biology Reporter 1: 19-21.

Ebrahimi A, Naghavi MR, Sabokdast M, Moradi AS (2011) Association analysis of agronomic traits with microsatellite markers in Iranian barley landraces barley. Modern Genetics Journal 6: 35-43. (In Farsi).

Fazelinasab B, Naghavi MR, Mardi M, Yazdisamadi B, Kazemi M (2006) Genetic diversity and relationships of Iranian cultivars using microsatellite markers. Iranian Journal of Crop Science 37: 93-99. (In Farsi).

Gebhardt C, Ballvora A, Walkemeier B, oberhagemann P, Schuler K (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 blight and maturity type. Molecular Breeding 13: 93-102.

Gupta PK, Rustgi S, Kulwal PL (2005) Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: Present status and future prospects. Plant Molecular Biology 57: 461-485.

Hall AE (2001) Crop responses to environmental stresses. CRC Press, LLC, Boca Raton, FL 232 p.

Khalili A, Hajam S, Irannejad P (1991) The comprehensive water country project (climate knowing of Iran- climatic divisions). Ministry of Energy Publication, Pp. 274. (In Farsi).

Kölliker R, Jones ES, Drayton MC, Dupal MP, Forster JW (2001) Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) marker for white clover (*Trifolium repens* L.). Theoretical and Applied Genetics 102: 416-424.

Lichtenthaler H (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Liu J, Liu L, Hou N, Zhang A (2007) Chunguang Liu Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. Euphytica 155: 249-258.

Jamali Rad S, Mohammadi A, Khodarahimi M, Torchi M (2008) Genetic diversity evaluation in wheat cultivars using microsatellite marker, Modern Genetics Journal 1: 79-89.

Maccaferri M, Sanguineti MC, Donini P, Tuberosa R (2003) Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. Theoretical and Applied Genetics 107: 783-797.

Mirfakhraii R, Mardi M, Talei A, Mahfoozi S, Zali A (2010) Identification of Quantitative Trait Loci Associated with Low-Temperature Tolerance in Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). Iranian Journal of Crop Science 41: 105-112. (In Farsi).

Mohammadi R, Naghavi MR, Maali-Amiri R, Rezaei M (2010) Identification of informative markers of Microsatellile in the Part of the hay crop in Iran. Modern Genetics Journal 5: 57-66. (In Farsi).

Naghavi MR, Malaki M, Alizadeh H, Pirseiedi M, Mardi M (2009) An Assessment of Genetic Diversity in Wild Diploid Wheat Triticum boeoticum from West of Iran Using RAPD, AFLP and SSR Markers. Journal Agronomy Science Technology 11: 585-598.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]

Naghavi MR, Mardi M, Pirseyedi SM, Kazemi M, Potki P, Ghaffari MR (2007) Comparison of genetic variation among accessions of Aegilops tauschii using AFLP and SSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 54: 237-240.

Powell W, Andre M, Hanafey CM, Vogel J, Tingey S, Rafalsky A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for Germplasm analysis. Molecular Breeding 2: 225-23.

Prasad M, Varsheny RK, Roy JK, Balyan HS, Gupta PK (2000) The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic divesity in wheat. Theoretical and Applied Genetics 100: 584-592.

Ranjbar M, Naghavi MR, Zali A, Aghaei MJ, Mardi M (2009) Identification of informative markers of SSR in Aegilops crassa accessions of Iran. Journal of Agriculture 11: 47-56. (In Farsi).

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

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

Samach A, Wigge PA (2005) Ambient temperature perception in plants. Current Opinion in Plant Biology 8: 483-6.

Shalini KV, Manjunatha S, Lebrun P, Berger A, Baudouin L, Pirany N, Ranganatha RM, Theertha Prasad D (2007) Identification of molecular markers associated with mite resistance in coconut (*Cocos nucifera* L.). Genome 50: 35-42.

Virk PS, Ford-Lioyd BV, Jackson MT, Pooni HS, Clemeno TP, Newbury HJ (1996) Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. In: IRRI, Rice genetics III, Proceedings of The Third International Rice Genetics Symposium, Manilla, Philippines 307-316.

Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF (1974) A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research 14: 415-421.

Zeb B, Ahmad khan L, Ali S, Bacha S, Mumtaz S, Swati ZA (2009) Study on genetic diversity in pakistani wheat varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. African Gourna of Biotechnology 8: 4016-4019.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.3.4.7]