ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳
صفحه ۵۲۳- ۵۱۷

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی ژرم پلاسم‌های توتون شرقی و نیمه شرقی ایران با استفاده از نشانگر های ریز ماهواره

Evaluation of genetic variation in some Iranian oriental and semi oriental tobacco germplasms by using simple sequence repeat markers

الهام وقاری آذر[۱]، حمید حاتمی ملکی[۲]، اشکان بصیرنیا[۱]، داریوش احمدی[۳]، رضا درویش‌زاده*[۱]

۱- به ترتیب دانش‌آموختگان کارشناسی‌ارشد و دانشیار، دانشگاه ارومیه
۲- استادیار، دانشگاه مراغه
۳- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، دانشگاه پیام نور کرج

Vaghari Azar E[1], Hatami Maleki H[2], Basirnia A[1], Ahmadi D[3], Darvishzadeh R[*1]

1. Graduated Students, Associate Professor, Urmia University, Urmia, Iran.
2. Assistant Professor, University of Maragheh, Maraghehm, Iran
3. Graduated Student, Payame Noor University, Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: r.darvishzadeh@mail.urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲۲- تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۴)

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی توتون از اهداف اصلی در برنامه‌های اصلاحی توتون می‌باشد. در این تحقیق، تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسم‌های توتون شرقی و نیمه شرقی شامل ۹۰ ژنوتیپ، تهیه شده از مرکز تحقیقات توتون ارومیه با استفاده از نشانگر ریزماهواره بررسی شد. از مجموع ۲۷۸ جفت آغازگر ریزماهواره ۲۶ جفت آغازگر توانستند چند شکلی موجود در سطح DNA ژنوتیپ‌ها را بخوبی مشخص نمایند. با ۲۶ جفت آغازگر ریزماهواره انتخاب شده در مجموع ۶۷ آلل شناسایی شد. میانگین تعداد آلل‌ها برای هر مکان ریزماهواره‌ای ۲/۴۸۱، میانگین تعداد آلل‌های موثر ۲/۱۵۹ و هتروزیگوسیتی موردانتظار در دامنه‌ای از ۰/۳۲۶ تا ۰/۶۶۲ با میانگین ۰/۵۱۲ می‌باشد. بر اساس ضریب تشابه جاکارد، تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های توتون از ۰/۰۴ الی ۰/۷۸ نوسان داشت که دلیلی بر وجود تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم مذکور بود. گروه‌بندی ژرم پلاسم توتون با استفاده از الگوریتم تجزیه خوشه‌ای UPGMA، آنها را در چهار گروه مجزا قرار داد. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که گروه‌بندی حاصله با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت ندارد.

واژه‌های کلیدی
تجزیه خوشه‌ای
تنوع ژنتیکی
توتون
ضریب تشابه جاکارد
نشانگر SSR

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]

توتون گیاهی است چندساله متعلق به خانواده بادنجانیان (Solanaceae) که جنس آن در سال ۱۷۵۳ میلادی توسط لینه *Nicotiana* نامگذاری شد. جنس *Nicotiana* شامل ۶۴ گونه می باشد که *Nicotaina tabacum* یکی از رایج‌ترین گونه‌های زیرکشت در بین آن‌ها می باشد (Raju et al. 2008). انواع مختلفی از توتون بر اساس معیارهایی از قبیل ناحیه تولیدی، نوع مصرف، روش عمل‌آوری (گرمخانه‌ای، آفتاب خشک و هواخشک)، ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تعریف شده است (Ren and Timko 2001). یکی از متداول‌ترین و مرسوم‌ترین طبقه-بندی‌ها، بر اساس تیپ رشدی می‌باشد که به سه تیپ غربی، شرقی و نیمه‌شرقی تقسیم‌بندی می‌شوند. تخمین میزان تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از گام‌های پایه‌ای و اساسی در نگه‌داری و حفاظت مواد ژنتیکی در بانک‌های ژنی و اجرای برنامه‌های به‌نژادی است. به منظور تخمین تنوع ژنتیکی انواع مختلفی از سیستم‌های نشانگری توسط اصلاح‌گران گیاهی استفاده می‌شوند که از جمله آن‌ها می‌توان به نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی اشاره کرد. نشانگرهای مولکولی نسبت به روش‌های فنوتیپی بهتر هستند. این نشانگرها اغلب پایدار بوده و در همه بافت‌ها صرف نظر از مرحله رشد، تمایز، توسعه یا حالت دفاعی سلول قابل تشخیص هستند. به علاوه آن‌ها تحت تاثیر پلیوتروپی، محیط و تاثیرات اپیستازی قرار نمی‌گیرند (Mondini et al. 2009). از بین نشانگرهای مبتنی بر DNA، نشانگرهای ریزماهواره[1] به دلیل توارث همبارز و ماهیت چند آللی کارایی بالایی در ارزیابی تنوع ژنتیکی، روابط شجره‌ای و تهیه نقشه‌های ژنتیکی دارند (Thomas and Scott 1993). در مورد استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک در ارزیابی تنوع ژنتیکی در جنس *Nicotiana* گزارشات کمی وجود دارد حال آنکه مطالعات فراوانی جهت بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره وجود دارد. در مطالعه‌ای، Hatami Maleki et al. (2012) تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسم توتون شرقی موجود در ایران را با استفاده از صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی قرار دادند. آنها بر اساس اندازه‌گیری ۸ صفت مورفولوژیک، ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه را در چهار گروه مجزا قرار دادند. در مطالعه Siva Raju (2011) تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف توتون جویدنی با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR مشخص شد که نشانگر SSR در مقایسه با نشانگر RAPD، با کارایی بیشتری می‌تواند ارقام مختلف را از همدیگر متمایز کند. همچنین، Gholizadeh et al. (2012) با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره، خصوصیات مولکولی و تشابهات بین ۷۲ ژنوتیپ توتون گرمخانه‌ای را بررسی کرده و آنها را در سه گروه مجزا گروه‌بندی کردند. در مطالعه‌ای که توسط Darvishzadeh et al. (2013a) انجام گرفت، تنوع ژنتیکی موجود در بخشی از ژرم پلاسم توتون موجود در مرکز تحقیقات توتون بطور همزمان با استفاده از صفات مورفولوژیک و نیز ۱۳ نشانگر ریزماهواره بررسی شد و نتایج نشان داد که گروه-بندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و نشانگرهای ریزماهواره از همدیگر متفاوت می‌باشند. در این مطالعه تعداد الل موثر بین ۲/۹۶–۱/۵ و هتروزیگوتی مشاهده شده بین ۱–۰/۸ و هتروزیگوتی مورد انتظار بین ۰/۶۶–۰/۳۳ متغیر بود. در مطالعه دیگری Darvishzadeh et al. (2013b) در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در ۱۳ ژنوتیپ تنباکوی بومی ایران با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره، گزارش کردند که در اکثر مکان‌های ژنی ریزماهواره هتروزیگوتی وجود ندارد و میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده ۰/۲۲ می‌باشد. در این بررسی، هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۷۸–۰/۲۱ متغیر بود و میانگین آن ۰/۵۳ بدست آمد. میانگین تعداد الل و تعداد الل موثر به ترتیب ۳/۳ و ۲/۴ بود (Darvsihzadeh et al. 2013b). تحقیقات کمی در مورد بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم توتون شرقی و نیمه شرقی موجود در کشور ایران انجام گرفته است حال آنکه ارزیابی تنوع ژنتیکی این گیاه بسیار مهم بوده و راه‌گشای بسیاری از مسائل به زراعی و به نژادی در مورد این گیاه زراعی و صنعتی خواهد بود. این مطالعه در تکمیل مطالعات قبلی با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم توتون شرقی و نیمه شرقی موجود در مرکز تحقیقات توتون ارومیه با استفاده از ۲۶ نشانگر SSR انجام شد. در این تحقیق، بذور ۹۰ ژنوتیپ مختلف توتون شرقی و نیمه‌شرقی (*Nicotiana tabacum* L.) از بانک بذر مرکز تحقیقات توتون ارومیه دریافت شد. اطلاعات تکمیلی در مورد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه توسط Hatami Maleki et al. (2012) گزارش شده است. بذور

[1] Simple sequence repeat: SSR

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]

ژنوتیپ‌ها در گلدان‌های مستقل کاشته شده و جهت رشد در اتاقک رشد و در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. DNA ژنومی از برگ گیاهان ۵۰ روزه با استفاده از روش CTAB (Reichardt and Rogers 1994) استخراج شد. غلظت DNA در هر نمونه با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ نانومتر مشخص شد. تعیین کیفیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد انجام گرفت. از بین ۲۷۸ جفت آغازگر SSR موجود در نقشه پیوستگی توتون (Blinder et al. 2007)، ۲۶ جفت آغازگر SSR شامل آغازگرهای PT30014، PT30172، PT30202، PT30250، PT30165، PT30241، PT30027، PT30021، PT30034، PT20343، PT30285، PT30126، PT30008، PT30159، PT30205، PT30260، PT30292، PT30319، PT30324، PT30046، PT30061، PT30067، PT30075، PT30094، PT30110 و PT30132 جهت انگشت‌نگاری ژنوم توتون و بررسی تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. نشانگرهای انتخابی علاوه بر داشتن باندهای چندشکل با وضوح بالا، دارای پوشش ژنومی مناسب از ژنوم توتون می‌باشند (Blinder et al. 2007). واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز طبق روش Darvishzadeh et al. (2013 a, b) انجام شد. الگوی باندهای حاصل به صورت صفر و یک به ترتیب برای عدم حضور و حضور باندها نمره‌دهی شد. پارامترهای تعداد آلل در هر جایگاه (n_a)، تعداد آلل مؤثر (n_e)، فراوانی آللی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_e) و شاخص شانون (I) با استفاده از نرم افزار GenAlEx (Peakall and Smouse 2006) و از طریق روابط زیر محاسبه شدند.

(۱) $N_e=1/1-H_e$ (۲) H_o=Number of heterozygotes/N

(۳) $H_e= 1-\sum P_i^2$ (۴) $I= -\sum P_i^2 \ln P_i$

در روابط بالا، P_i فراوانی iامین الل می‌باشد. شباهت ژنتیکی در بین افراد با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه و با استفاده از الگوریتم UPGMA در نرم‌افزار NTSYS (Rohlf 1998) انجام گرفت. ضریب همبستگی کوفنتیک (r) با استفاده از نرم‌افزار NTSYS محاسبه شد. انگشت نگاری ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه با استفاده از ۲۶ جفت آغازگر ریزماهواره بیانگر وجود تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم مذکور می‌باشد. به منظور ارزیابی کارآیی هر یک از این نشانگرها در بررسی تنوع ژنتیکی، معیارهای مختلفی از قبیل تعداد آلل در هر مکان، تعداد آلل‌های موثر، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و فراوانی آلل‌ها در هر مکان محاسبه شد (جدول۱). با استفاده از ۲۶ جفت آغازگر در مجموع ۶۷ آلل شناسایی شد. تعداد آلل در هر جایگاه بین دو تا ۳ و میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ۲/۴۸۱ بدست آمد (جدول ۱). این اطلاعات با یافته‌های Davalieva et al. (2010) با تعداد یک تا ۶ آلل در هر مکان و Darvishzadeh et al. (2013a) با تعداد دو تا ۳ آلل در مکان‌های مورد مطالعه با نشانگر SSR مطابقت دارد. از آنجا که میانگین تعداد آلل در هر نشانگر ریزماهواره مناسب بودن آن مکان ژنی برای تخمین تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد، بنابراین آغازگرهایی که تعداد آلل زیادی نشان داده‌اند برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب تشخیص داده می‌شوند (Darvishzadeh et al. 2013a). میانگین تعداد آلل‌های موثر ۲/۱۵۹ بود که بیشترین میزان آن مربوط به نشانگر PT30014 (۲/۹۵۶) و کمترین میزان آن متعلق به نشانگر PT30094 (۱/۴۸۴) می‌باشد (جدول۱). پارامتر تعداد الل موثر از محاسبه تعداد آلل‌ها و فراوانی آن‌ها بدست می‌آید و به‌وسیله آن می‌توان ژنوتیپ‌هایی با تعداد و توزیع آللی کاملا متفاوت را با یکدیگر مقایسه کرد. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای مجموعه نشانگرها ۰/۱۴۶ بود. نشانگر PT30205 با ۰/۶۵۸ دارای بالاترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بود و ۱۶ نشانگر هیچ هتروزیگوسیتی مشاهده شده‌ای را نشان ندادند (جدول۱). پایین بودن هتروزیگوتی مشاهده شده از مقادیر مورد انتظار در اکثر جایگاه‌های ژنی به جز جایگاه‌های ریزماهواره‌ای PT30205، PT30324 و PT30132، ناشی از وجود افراد هموزیگوت و یا آلل‌های خنثی در آن جایگاه‌ها می‌باشد (Dolati Baneh et al. 2010). نبودن تلاقی بین ارقام توتون به دلیل محدودیت برنامه‌های اصلاحی یکی دیگر از عوامل افزایش جایگاه‌های هموزیگوت می‌تواند باشد و نظیر آن در انگور توسط Dolati Baneh et al. (2010) نیز گزارش شده است. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار (۰/۶۶۲) در نشانگر PT30014 و کمترین میزان آن ۰/۳۲۶ و در نشانگر PT30094 مشاهده شد. میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار برای مجموعه

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]

جدول۱- تعداد آلل (Na)، تعداد آلل موثر (Ne)، شاخص شانون (I)، هتروزیگوتی مشاهده شده (Ho)، هتروزیگوتی مورد انتظار (He)، فراوانی آل‌های نشانگرهای چند شکل مورد مطالعه در ۹۰ ژنوتیپ توتون شرقی.

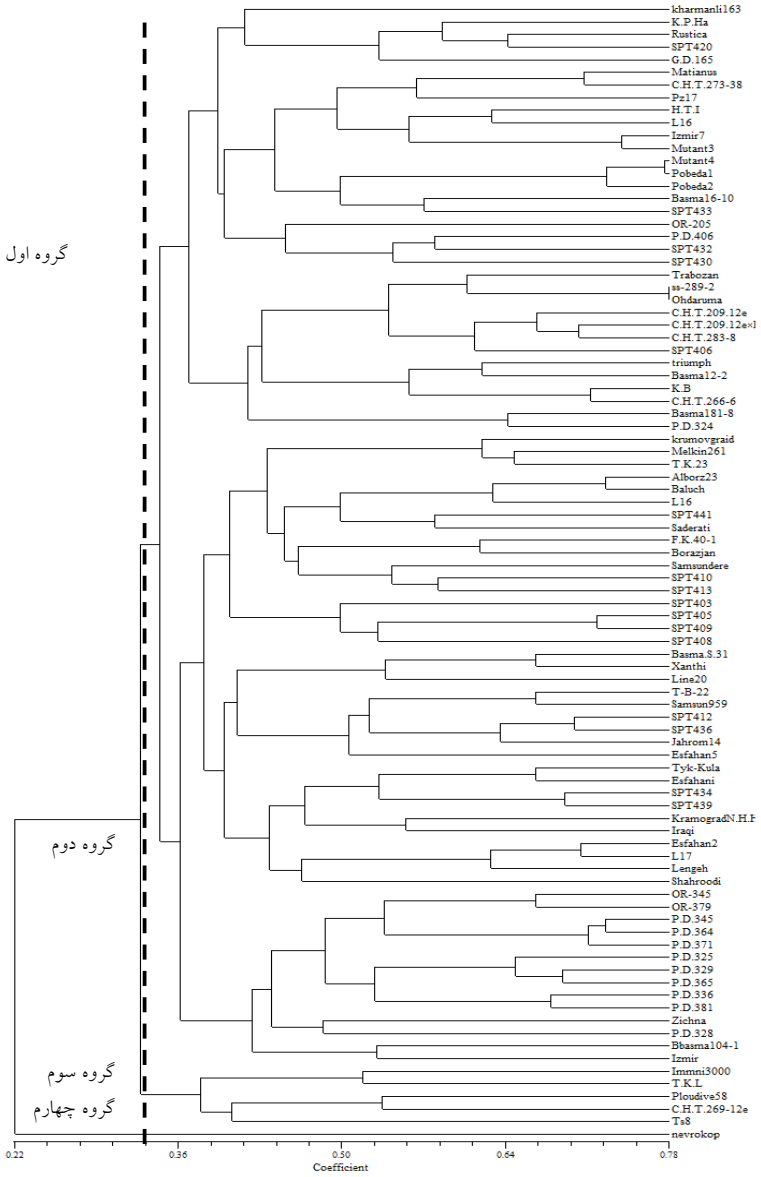
مکان ژنی	N	Na	Ne	I	Ho	He	UHE	F	فراوانی اللی		
									A	B	C
PT30014	۸۵	۳	۲/۹۵۶	۱/۰۹۱	۰/۰۸۲	۰/۶۶۲	۰/۶۶۶	۰/۸۷۶	۰/۳۳۵	۰/۳۸۲	۰/۲۸۲
PT30172	۸۴	۳	۱/۹۵۲	۰/۸۵۱	۰/۰۰۰	۰/۴۸۸	۰/۴۹۱	۱/۰۰۰	۰/۱۵۵	۰/۶۷۹	۰/۱۶۷
PT30202	۸۶	۲	۱/۷۳۰	۰/۶۱۳	۰/۰۰۰	/۴۲۲	۰/۴۲۴	۱/۰۰۰	۰/۳۰۲	۰/۶۹۸	
PT30250	۸۴	۲	۱/۹۹۵	۰/۶۹۲	۰/۰۰۰	۰/۴۹۹	۰/۵۰۲	۱/۰۰۰	۰/۵۲۴	۰/۴۷۶	
PT30165	۸۱	۲	۱/۴۹۶	۰/۵۱۴	۰/۰۰۰	۰/۳۳۲	۰/۳۳۴	۱/۰۰۰	۰/۲۱۰	۰/۷۹۰	
PT30241	۸۱	۲	۱/۸۹۶	۰/۶۶۵	۰/۰۰۰	۰/۴۷۲	۰/۴۷۵	۱/۰۰۰	۰/۶۱۷	۰/۳۸۳	
PT30027	۸۴	۳	۲/۸۴۳	۱/۰۷۰	۰/۴۲۹	۰/۶۴۸	۰/۶۵۲	۰/۳۳۹	۰/۴۱۱	۰/۳۶۳	۰/۲۲۶
PT30021	۸۰	۳	۲/۵۳۲	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۶۰۵	۰/۶۰۹	۱/۰۰۰	۰/۳۵۰	۰/۵۰۰	۰/۱۵۰
PT30034	۸۱	۳	۲/۷۸۶	۱/۰۶۱	۰/۰۰۰	۰/۶۴۱	۰/۶۴۵	۱/۰۰۰	۰/۳۰۹	۰/۴۵۷	۰/۲۳۵
PT20343	۷۳	۳	۲/۳۲۶	۰/۹۴۶	۰/۰۲۷	۰/۵۷۰	۰/۵۷۴	۰/۹۵۲	۰/۳۱۵	۰/۵۶۲	۰/۱۲۳
PT30285	۸۲	۳	۲/۶۵۴	۱/۰۳۶	۰/۴۰۲	۰/۶۲۳	۰/۶۲۷	۰/۳۵۴	۰/۲۲۰	۰/۵۰۰	۰/۲۸۰
PT30126	۷۱	۲	۱/۸۱۰	۰/۶۴۰	۰/۰۰۰	۰/۴۴۸	۰/۴۵۱	۱/۰۰۰	۰/۶۶۲	۰/۳۳۸	
PT30008	۸۵	۳	۲/۹۳۶	۱/۰۸۸	۰/۵۱۸	۰/۶۵۹	۰/۶۶۳	۰/۲۱۵	۰/۴۰۰	۰/۲۸۲	۰/۳۱۸
PT30159	۶۵	۲	۱/۶۶۸	۰/۵۹۰	۰/۰۰۰	۰/۴۰۰	۰/۴۰۴	۱/۰۰۰	۰/۲۷۷	۰/۷۲۳	
PT30205	۷۶	۲	۱/۷۹۰	۰/۶۳۳	۰/۶۵۸	۰/۴۴۱	۰/۴۴۴	-۰/۴۹۰	۰/۳۲۹	۰/۶۷۱	
PT30260	۴۸	۲	۱/۶۵۳	۰/۵۸۴	۰/۱۶۷	۰/۳۹۵	۰/۳۹۹	۰/۵۷۸	۰/۷۲۹	۰/۲۷۱	
PT30292	۷۴	۲	۱/۷۸۰	۰/۶۳۰	۰/۰۰۰	۰/۴۳۸	۰/۴۴۱	۱/۰۰۰	۰/۳۲۴	۰/۶۷۶	
PT30319	۷۷	۳	۱/۳۶۳	۰/۹۷۳	۰/۰۱۳	۰/۵۷۷	۰/۵۸۱	۰/۹۷۷	۰/۲۲۱	۰/۵۷۸	۰/۲۰۱
PT30324	۷۴	۲	۱/۶۳۴	۰/۵۷۷	۰/۵۲۷	۰/۳۸۸	۰/۳۹۱	-۰/۳۵۸	۰/۲۶۴	۰/۷۳۶	
PT30046	۵۸	۳	۲/۶۸۳	۱/۰۳۳	۰/۰۰۰	۰/۶۲۷	۰/۶۳۳	۱/۰۰۰	۰/۴۳۱	۰/۱۷۲	۰/۳۹۷
PT30061	۸۲	۳	۲/۷۷۶	۱/۰۵۸	۰/۰۰۰	۰/۶۴۰	۰/۶۴۴	۱/۰۰۰	۰/۲۲۰	۰/۴۵۱	۰/۳۲۹
PT30067	۵۵	۳	۲/۳۴۰	۰/۹۲۸	۰/۰۰۰	۰/۵۷۳	۰/۵۷۸	۱/۰۰۰	۰/۵۰۹	۰/۴۰۰	۰/۰۹۱
PT30075	۶۸	۳	۲/۹۲۳	۱/۰۸۵	۰/۰۰۰	۰/۶۵۸	۰/۶۶۳	۱/۰۰۰	۰/۳۹۷	۰/۲۶۵	۰/۳۳۸
PT30094	۷۸	۲	۱/۴۸۴	۰/۵۰۷	۰/۰۰۰	۰/۳۲۶	۰/۳۲۸	۱/۰۰۰	۰/۷۹۵	۰/۲۰۵	
PT30110	۷۸	۲	۱/۹۱۹	۰/۶۷۲	۰/۰۰۰	۰/۴۷۹	۰/۴۸۲	۱/۰۰۰	۰/۳۹۷	۰/۶۰۳	
PT30132	۵۹	۲	۱/۷۵۶	۰/۶۲۲	۰/۶۲۷	۰/۴۳۰	۰/۴۳۴	-۰/۴۵۷	۰/۳۱۴	۰/۶۸۶	
میانگین	۷۴/۳۳۳	۲/۴۸۱	۲/۱۵۹	۰/۸۰۵	۰/۱۴۶	۰/۵۱۲	۰/۵۱۶	۰/۶۹۴			
خطای معیار	۲/۰۴۶	۰/۰۹۸	۰/۰۹۸	۰/۰۴۲	۰/۰۴۵	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۹۹			

نشانگرها، ۰/۵۱۲ بدست آمد (جدول۱). با توجه به جدول۱، نشانگرهای SSR با میزان هتروزیگوسیتی بالا شامل PT30014 و PT30008 می‌توانند در مطالعات تنوع ژنتیکی موثر واقع شوند. تفاوت قابل توجهی مابین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در چندین مکان SSR مورد مطالعه وجود دارد که نشان دهنده عدم وجود تعادل هاردی- واینبرگ بوده و می‌تواند نتیجه آمیزش‌های خویشاوندی باشد. در تحقیق حاضر، میزان ضریب خویش‌آمیزی (F) که میزان تثبیت در مکان‌های ژنی را نشان می‌دهد بین ۰/۴۹۰- الی یک متغیر بوده و میانگین آن ۰/۶۹۴ می‌باشد (جدول۱). در این مطالعه، با توجه به بالا بودن میزان ضریب همبستگی کوفنتیک بین ماتریس تشابه جاکارد و ماتریس کوفنتیک حاصل از دندروگرام با الگوریتم UPGMA (r =۰/۵۲)، از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA برای بدست آوردن مقدار شباهت ژنتیکی و نیز گروهبندی ژنوتیپ‌های توتون‌های مورد مطالعه استفاده شد (شکل۱). ضریب همبستگی کوفنتیک (Sokal and Rolf 1962) عبارت است از همبستگی ساده بین ماتریس

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]

تشابه و ماتریس حاصل از دندروگرام (ماتریس کوفنتیک) و معیاری است که نشان می‌دهد تا چه اندازه دندروگرام حاصله می‌تواند فاصله دوتایی بین مشاهدات را حفظ کند. بیشترین میزان شباهت ژنتیکی براساس ضریب تشابه جاکارد (GSj) بین ژنوتیپ‌های ss-289-2 و Ohdaruma با ارزش عددی ۰/۷۸ و کمترین میزان آن بین ژنوتیپ های Neverlop و Langhe با ارزش عددی ۰/۰۴ مشاهده شد. فاصله ژنتیکی بدست آمده وجود تنوع ژنتیکی بالایی را در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داده و ثابت کرد که نه تنها ژرم پلاسم ارزشمندی از توتون در ایران وجود دارد بلکه تنوع ژنتیکی درون گونه ای قابل ملاحظه‌ای نیز وجود دارد که با نتایج تحقیقات Moon et al. (2009) و Davalieva et al. (2010) با استفاده از نشانگر SSR در توافق می‌باشد. همچنین Darvishzadeh et al. (2013a) با استفاده از مجموعه‌ای از ۱۳ نشانگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای قابل ملاحظه‌ای را در بخشی از ژرم پلاسم توتون موجود در مرکز تحقیقات توتون ارومیه که برخی از آنها در این مطالعه نیز استفاده شده، گزارش کرده‌اند. برخلاف نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر، در مطالعات قبلی و با استفاده از نشانگرهای RAPD (Arsalan and Okumus 2006) و AFLP (Ren and Timko 2001) سطح پایینی از تنوع ژنتیکی درون‌گونه‌ای در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گزارش شده است. تفاوت در نتایج تحقیقات محققان مختلف می‌تواند به دلیل اختلاف در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، نوع نشانگرهای مورد استفاده و روش‌های بکار رفته برای تشخیص چند شکلی باشد. با توجه به فواصل ژنتیکی و طبقه‌بندی دندروگرام، الگوی مشخصی از گروه‌های هتروتیکی در ژرم‌پلاسم توتون مورد مطالعه مشاهده شد. بر اساس دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در چهار گروه کلی تقسیم‌بندی شدند. در گروه اول که شامل ۳۴ ژنوتیپ بود (۳۷/۸ درصد ژنوتیپ ها)، ژنوتیپ‌های ترابوزون (C. H. T.) قرار گرفتند که جزو توتون‌های نیمه شرقی محسوب می‌شوند (شکل۱). توتون‌های نیمه شرقی از لحاظ خصوصیات ظاهری حدواسط توتون‌های شرقی و غربی می‌باشند. در گروه دوم که شامل ۵۰ ژنوتیپ بود (۵۵/۵ درصد ژنوتیپ‌ها)، اکثرا ژنوتیپ‌های تیپ چپق (SPT) و P.D. قرار گرفتند (شکل۱). ژنوتیپ‌های چپق مورد بررسی در این تحقیق از طریق روش گزینش لاین خالص از توده‌های بومی در مرکز تحقیقات توتون ارومیه انتخاب شده‌اند. ویژگی بارز این تیپ توتون‌ها ارتفاع کمتر آنها در مقایسه با سایر توتون‌ها بویژه توتون‌های تیپ شرقی است. ژنوتیپ‌های P. D.، لاین‌های اینبرد نوترکیبی هستند که از تلاقی Dubec 566 و Basma seres 31 بوجود آمده‌اند. از ویژگی‌های بارز گروه دوم، قرار گرفتن ژنوتیپ توتون شرقی Basma seres 31 در این گروه می‌باشد که این نوع توتون، تیپیک توتون‌های تیپ شرقی می‌باشند. نتایج گروه‌بندی نشان داد که گروه سوم شامل ۵ ژنوتیپ (۵/۵ درصد ژنوتیپ‌ها) و در نهایت گروه چهارم شامل یک ژنوتیپ (ژنوتیپ Nevrokop) می‌باشند (شکل۱). یکی از معیارهای انتخاب والدین برای تلاقی و بهره‌مندی از پدیده هتروزیس، فاصله ژنتیکی می‌باشد. معمولا هر چه والدین فاصله بیشتری داشته باشد تنوع و هتروزیس بیشتری در نتاج مشاهده خواهد شد (Falconer and Mackey 1997). بنابراین در این مطالعه هیبریداسیون بین ژنوتیپ‌های با فاصله زیاد می‌تواند یک استراتژی مناسب برای برنامه‌های اصلاحی آتی باشد. نتایج نشان داد که با استفاده از نشانگر ریزماهواره می‌توان تیپ‌های مختلف رشدی توتون از قبیل شرقی و نیمه‌شرقی را از یکدیگر تفکیک کرد. در این مطالعه، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از پراکنش جغرافیایی آنها تبعیت نمی‌کند و این امر در توافق با گزارش Darvishzadeh et al. (2013a) در مطالعه قسمتی از ژرم‌پلاسم مزبور و با استفاده از مجموعه ۱۳ تایی از مکان‌های ریزماهواره‌ای می‌باشد. مطالعه حاضر نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه در ژرم پلاسم توتون شرقی و نیمه‌شرقی مورد مطالعه وجود دارد که می‌تواند جهت بهبود ژنتیکی آنها مورداستفاده قرار گیرد. استفاده از نشانگر های SSR یک موضوع ارزشمند برای مطالعه تنوع ژنتیکی در جنس *Nicotiana* می‌باشد به طوری که می‌توان از این نشانگر در ایجاد کلکسیون هسته برای مطالعات به نژادی آتی استفاده کرد. نظیر چنین ایده‌ای در گیاهانی از قبیل جو (Fu and Horbach 2012)، کنجد (Zhang et al. 2012)، زیتون (Haouane et al. 2011) و بادام‌زمینی (Kottapallia et al. 2007) بکار گرفته شده است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]



شکل۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون شرقی مورد مطالعه بر اساس داده‌های ریز ماهواره با استفاده از الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه جاکارد

منابع

Arslan B, Okumus A (2006) Genetic and geographic polymorphism of cultivated tobacco (*Nicotiana tabacum*) in Turkey. Russian Journal of Genetics 42: 667-671.

Bindler G, van der Hoeven R, Gunduz I, Plieske J, Ganal M, Rossi L, Gadani F, Donini P (2007) A microsatellite marker based linkage map of tobacco. Theoretical and Applied Genetics 114: 341-349.

Darvishzadeh R, Mirzaei L, Hatami Maleki H, Laurentin H, Alavi R (2013a) Genetic variation in oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by agromorphological traits and simple sequence repeat markers. Revista Ciência Agronômica 44: 347-355.

Darvishzadeh R, Gholizadeh S, Hatami Maleki H, Abdollahi B, Bernousi I (2013b) Study on genetic diversity among Iranian water pipe's tobacco (*Nicotiana* spp.) varieties by using simple sequence repeat markers. Bulgarian Journal of Agricultural Science 19: 557-562.

Davalieva K, Maleva I, Filiposki K, spiroski O, Efremov GD (2010) Genetic variability of Macedonian tobacco varieties determined by microsatellite marker analysis. Diversity 2: 439-449.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]

Dolati Baneh H, Mohammadi SA, Labra M (2010) Genetic relationship, synonyms and homonyms within grapevine cultivars of west Azarbaijan province. Seed and Plant Improvement Journal 26: 517-529 (In Farsi).

Falconer DS, Mackay TFC (1997) Introduction to quantitative genetics. Longman Press, Essex.

Fu YB, Horbach C (2012) Genetic diversity in a core subset of wild barley germplasm. Diversity 4: 239-257.

Gholizadeh S, Darvishzadeh R, Abdollahi Mandoulakani B, Bernousi I, Alavi SR, Kharabian Masouleh A (2012) Molecular characterization and similarity relationships among flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genotypes using simple sequence repeat markers. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici 40: 247-253.

Hatami Maleki H, Karimzadeh GH, Darvishzadeh R, Alavi R (2012) Genetic variation of oriental tobaccos using multivariate analysis. Iranian Journal of Field Crop Research 10: 100-106 (In Farsi).

Haouane H, Bakkali AE, Moukhli A, Tollon C, Santoni S, Oukabli A, Modafar CE, Khadari B (2011) Genetic structure and core collection of the world olive germplasm bank of Marrakech: towards the optimized management and use of Mediterranean olive genetic resources. Genetica 139: 1083-1094.

Kottapallia KR, Burowb MD, Burowc G, Burkec J, Puppala N (2007) Molecular characterization of the U.S. peanut mini core collection using microsatellite markers. Crop Science 47: 1718-1727.

Mondini L, Noorani A, Pagnotta MA (2009) Assessing plant genetic diversity by molecular tools. Diversity 1: 19-35.

Moon HS, Nifong JM, Nicholson JS, Heineman A, Lion K, van der Hoeven R, Hayes AJ, Lewis RS (2009) Microsatellite-based analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genetic resources. Crop Science 49: 2149-2159.

Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295.

Raju KS, Madhav MS, Sharma RK, Murthy TGK, Mohapatra T (2008) Genetic polymorphism of Indian tobacco types as revealed by amplified fragment length polymorphism. Current Science 94: 633-639.

Reichardt M, Rogers S (1994) Preparation of plant DNA using CTAB. In: Ausubel F, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K (Eds.). Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, New York, 2.3.3-2.3.7 pp.

Ren N, Timko MP (2001) AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. Genome 44: 559-571.

Rohlf FJ (1998) NTSYSpc: numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.02, Exeter Software, Setauket, New York.

Siva Raju K (2011) Genetic diversity in Indian chewing tobacco (*Nicotiana tabacum*) as revealed by RAPD and SSR markers. Indian Journal of Agricultural Science 81: 15-19.

Sokal RR, Rohlf FJ (1962) The comparison of dendrograms by objective methods. Taxon 11: 33-40.

Thomas MR, Scott NS (1993) Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analyzed as sequence-tagged sites (STSs). Theoretical and Applied Genetics 86: 985-990.

Zhang HY, Liu XZ, Sheng HC, Yang YM (2008) Genetic diversity among flue-cured tobacco cultivars based on RAPD and AFLP markers. Brazilian Archive of Biology and Technology 6:1097-1101.

Zhang Y, Zhang X, Che Z, Wang L, Wei W, Li D (2012) Genetic diversity assessment of sesame core collection in China by phenotype and molecular markers and extraction of a mini-core collection. BMC Genetics 13: 102.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.14.9]