ژنتیک نوین
دوره پانزدهم ، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۹
صفحه ۳٦۰ - ۳۵۱

ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای چاودار با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP

Evaluation of inter-species and in-species genetic variation of rye using AFLP molecular marker

الهام رضائی میرقائد*[۱]، حسین زینلی[۲]

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه پیام نور، اصفهان، ایران

۲- استادیار، پژوهش، مرکز تحقیقات و منابع طبیعی اصفهان، ایران

Rezaei Mirghayed E*[1], Zeinali H[2]

1- MSc, Payame Noor University, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center, Isfahan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: elhamrezaeimirghayed@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۰٦ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

چاودار (*Secale cereal*) یکی از گیاهان زراعی مهم ایران و متعلق به خانواده گندمیان (Poaceae) می‌باشد. در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۳۹ جمعیت چاودار از مناطق مختلف ایران، آمریکا و روسیه با نشانگر AFLP مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که ۱۳ جفت آغازگر AFLP ۱۸۸باند تولید کردند که شامل ۱۷۷ باند چندشکل بود. میانگین میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) در جفت آغازگرهای AFLP به‌ترتیب معادل ۰/۲۲ و ۳ بود. بیش‌ترین مقدار PIC مربوط به جفت آغازگر ECC 3N 4S 1 و بیش‌ترین MI مربوط به جفت آغازگر ECC 3N 4S 5 بود. پس از مشاهده محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل پلی اکریل آمید و امتیازدهی باندهای DNA، تجزیه و تحلیل با نرم‌افزار NTSYS انجام شد. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA و ضریب تشابه دایس جمعیت‌های چاودار را به پنج گروه تقسیم کرد که این گروه‌بندی با گروه‌بندی تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مطابقت داشت. هم‌چنین مشخص شد که بیشترین تشابه (۰/۹۷۱) بین دو جمعیت مونتانوم پارک جهان نما و سرال فریدون‌شهر و کم‌ترین میزان تشابه (۰/۳۸٦) بین دو جمعیت سرمونت اراک و سرمونت آمریکا است. نتایج تجزیه واریانس مولکولی نشان می‌دهد که تنوع درون گونه‌ای بیشتر از تنوع بین گونه‌ای است، میانگین شاخص شانون (I) در گونه‌های چاودار ۰/٤۸ بود که بیانگر تنوع نسبتاً خوب درون گونه‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه واریانس مولکولی
تنوع ژنتیکی
چاودار
چندشکلی
نشانگر AFLP

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

مقدمه

چاودار با نام علمی *Secale cereal* گیاهی از خانواده گندمیان (Poaceae)، بسیار خودعقیم و دگرگشن می‌باشد که در تغذیه دام‌ها به‌صورت علوفه سبز، خشک و یا سیلو مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه بومی کشورهای آسیای مرکزی، سوریه و ایران است (Sidhu et al. 2019). بیشتر چاودارهای زراعی دیپلوئید (2n=١٤) بوده و انواع تتراپلوئیدشان نیز موجود می‌باشد. زراعت چاودارهای تتراپلوئید نیز در سطح محدودی در اروپا متداول است. نوع دیپلوئید چاودار زراعی دارای چرخه رشدی یک‌ساله و روز بلند و دارای سنبله دراز مرکب از سنبلک‌ها می‌باشد که روی هر سنبله فرعی سه گل وجود دارد. سیستم ریشه‌ای چاودار بسیار انبوه و گسترده‌تر از گندم می‌باشد و ریشک‌های آن دراز نازک برسی گرد و زبر است. چاودار از نظر شکل مابین گندم و یولاف است. رنگ کدر خاک آلود دارد و فاقد پوسته (هال) می‌باشد. دانه‌هایش برای تهیه آرد و نان به‌کار می‌رود. چاودار مقاوم‌ترین غله به سرماست و با شرایط آب و هوایی نامساعد و خاک‌های فقیر غیرحاصل‌خیز و شنی سازگاری نشان می‌دهد. حداقل دما برای جوانه‌زنی چاودار ۳ تا ۵ درجه سانتی‌گراد است (Mazaheri et al. 2012).

چاودار معمولی (*Secale cereale L.*) یکی از مهم‌ترین محصولات غلات است که از شرق اروپا تا اروپای شمالی کشت می‌شود. یکی از شاخص‌ترین ویژگی‌های این گیاه توانایی تولید محصول با عملکرد بالا در شرایط تنش محیطی است، دمای پایین، خشکی و فقر خاک از جمله تنش‌های محیطی هستند که این گیاه نسبت به آن‌ها مقاوم است. حضور ژن‌های مقاومت به بیماری، نیاز به محافظت شیمیایی شدید این محصول را کاهش می دهند (Schlegel 1999). علاوه بر این، چاودار حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات غذایی مفید مانند مواد معدنی (Zn، Fe، P)، بتا گلوکان‌ها، نشاسته و ترکیبات فعال کننده زیستی است. محصولات چاودار سطح بالایی از فیبر را دارند (Andersson et al. 2009) و بنابراین یک گزینه خوب و سالم رژیم‌های غذایی به‌شمار می‌روند (Rosen et al. 2011).

تاکنون پیشرفت نسبتاً خوبی در اصلاح چاودار و به‌ویژه تولید ارقام هیبریدی حاصل شده است (Geiger and Miedaner 1999). دو جنس Carsten و Petkus به‌عنوان امیدوار کننده‌ترین الگوی تولید ارقام هیبریدی شناخته شده‌اند. در طول اصلاح از طریق تولید هیبرید، لاین‌های والدینی از طریق خودگشنی مکرر توسعه یافته‌اند، (Fischer et al. 2010). این فرایندها منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در داخل لاین‌ها و جنس‌ها شده است، عواقب چنین باریک شدن تنوع ژرم پلاسم در برنامه‌های اصلاح نژاد، کاهش در انتخاب، افزایش حساسیت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی و البته همراه با خطر وقوع فرسایش ژنتیکی است (Targonska et al. 2016). برای جلوگیری از فرسایش ژنتیکی، بایستی به‌طور مداوم اساس ژنتیکی لاین‌های والدینی درگیر در تولید هیبرید را گسترش داد. با این حال، یک مشکل بزرگ در گسترش تنوع ژنتیکی تولید چاودار هیبریدی وجود خود ناسازگاری در بین لاین‌های مختلف است. علاوه بر این، در صورت عدم آگاهی در مورد روابط لاین های درگیر در توسعه ارقام هیبرید، آزمایش‌های تلاقی و ارزیابی آن‌ها مشکل خواهد بود (Fischer et al. 2010). اجرای روش‌های نوین مبتنی بر آگاهی از تنوع ژنتیکی گونه *S. cereale* می‌تواند به‌طور قابل توجهی در اصلاح چاودار و توسعه ارقام جدید مفید باشد (Targońska et al. 2016). در مطالعه‌ای در خصوص مفید بودن کاربرد نشانگرهای AFLP و RAPD برای تعیین تشابه ژنتیکی در گونه‌ها و زیر گونه‌های چاودار، شباهت ژنتیکی در ۱۲ گونه وحشی چاودار و زیر گونه و یک رقم کنترل شده آن (*S. cereal cv. walet*) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از نشانگر RAPD برای بررسی چهار گروه با شباهت ژنتیکی و ضریب تشابه بین ۰/۳۲ تا ۰/۸۱ استفاده شد و از نشانگر AFLP برای ارزیابی دو گروه ژنتیکی مشابه و ضریب تشابه بین ۰/٤۹ تا ۰/۷۹ استفاده شد (Nybom and Bartish 2000). در مطالعه‌ای از نشانگرهای AFLP و SSR برای تجزیه و تحلیل برنج ایتالیایی استفاده شد که هر دو نشانگر توانستند ارقام مورد نظر را در دو گروه اصلی جای دهند (Spada et al. 2004) تنوع ژنتیکی شش توده از گیاه سرخدانه آمریکایی از اتیوپی با نشانگرهای RAPD و AFLP مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که توده‌ها بر اساس ارتفاع از سطح دریا به دو گروه مناطق پست و مناطق کوهستانی تقسیم شدند. تجزیه خوشه‌ای و تجزیه مؤلفه‌های اصلی تمایز بین توده‌های پست و کوهستانی را

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

مشخص نمود. ارزیابی تنوع ژنتیکی در ٤٩ رقم برنج هندی شامل ارقام بومی، اصلاح شده و تجاری با نشانگر AFLP نشان دادند که فرآیند اصلاح نژاد ارقام جدید نمی‌تواند باعث فرسایش ژنتیکی قابل توجهی شود. درصد چندشکلی AFLP در ارقام و توده‌ها تقریباً مشابه بود. تنوع ژنتیکی با استفاده از شاخص شانون و نی نیز نتایج مشابهی را نشان داد. تنوع ژنتیکی در ارقام مدرن نسبت به ارقام بومی کمی بالاتر بود. تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) نشان دادند که یک مرزبندی مشخصی بین ارقام محلی وجود دارد اگر چه فاصله فاصله ژنتیکی بین آن‌ها کم باشد (Prashanth et al. 2002; Aboukhalid et al. 2017). در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی در گندم و گونه‌های خویشاوند آن با بهره‌گیری از ویژگی‌های مورفولوژیکی و نشانگرهای AFLP بررسی شد. تنوع ژنتیکی در میان ۳۱ نمونه گندم کشاورزی و گندم‌های نارام از جنس‌های تریتیکوم و آجیلوپس ارزیابی شد. برای این کار از ٢٦ خصوصیت مورفولوژیکی و ١٤ آغازگر AFLP و آنزیم‌های MseI/PstI بهره گرفته شد. وی گزارش کرد که خوشه‌بندی ترکیبی، تفسیر بهتری را نسبت به خوشه‌بندی جداگانه به‌دست آمده از هر یک از ویژگی‌های مورفولوژیکی و نشانگرهای AFLP نشان داد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای چاودار با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۳۹ جمعیت چاودار از مناطق مختلف کشور به‌همراه دو جمعیت از کشورهای آمریکا و روسیه از شرکت پاکان بذر اصفهان و سازمان جنگل‌ها و مراتع، موسسه بانک بذر کشور در کرج جمع‌آوری شد (جدول ۱). بذور گیاهان مورد استفاده در محیط گلخانه و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شد. به‌منظور به‌دست آوردن DNA ژنومی با کیفیت مطلوب، چندین روش استخراج DNA از برگ گیاه مورد آزمایش قرار گرفت. در نهایت استخراج DNA به روش CTAB با اندکی تغییرات به‌عنوان مناسب‌ترین روش انتخاب شد (Rogers and Bendich 1994). کیفیت و کمیت DNA استخراجی به‌ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و دستگاه نانودراپ اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. از هر یک از نمونه‌های DNA استخراجی، محلول پایه ۵۰ نانوگرمی در هر میکرولیتر برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تهیه شد. برای هضم آنزیمی نمونه‌های DNA از دو آنزیم برشی *EcoRI* و *TaqI* استفاده شد. آنزیم *TaqI* دارای جایگاه برشی چهار نوکلئوتیدی و آنزیم *EcoRI* دارای جایگاه برشی شش نوکلئوتیدی بوده است. آنزیم *TaqI* بهترین کارایی را در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد و آنزیم *EcoRI* بهترین کارایی را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دارد. به همین دلیل برای انجام بهینه واکنش، تیوب‌های دارای محلول واکنشی گوارش به مدت یک ساعت در دستگاه Dry bath گذاشته شد. تعداد ۱۳ جفت آغازگر AFLP در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (BIORAD)، در حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر با ترکیب ١/٤ میکرولیتر DNA، ۱/۲ میکرولیتر بافر ۱۰x، یک میکرولیتر کلرید منیزیم (با غلظت ۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر dNTPs از هر کدام (با غلظت ۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز (با غلظت ۵ واحد آنزیم در ۱۰۰ میکرولیتر) و ۰/٦ میکرولیتر از هر کدام یک از آغازگرها (با غلظت ۱۰ پیکومول) انجام شد.

مراحل انجام AFLP بر پایه روش Vos et al. (2003) با اندکی تغییر انجام پذیرفت. واکنش PCR با برنامه زمانی پنج دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ٩٤ درجه سانتی‌گراد، ۲۷ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی در دمای ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله سنتز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه صورت گرفت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

جدول ۱- نام گونه‌های چاودار و محل جمع‌آوری آن‌ها

شماره	گونه‌ها	کد ژنوتیپ	محل جمع‌آوری	شماره	گونه‌ها	کد ژنوتیپ	محل جمع‌آوری
۱	*S. montanum*	CS-01	کرج-تهران	۲۱	Other Population	CS-21	سمیرم-اصفهان
۲	*S. montanum*	CS-02	زنجان	۲۲	*S. cereale*	CS-22	قهدریجان-اصفهان
۳	*S. montanum*	CS-03	دماوند	۲۳	Other Population	CS-23	کرج
٤	*S. montanum*	CS-04	کردستان	۲٤	*S. montanum*	CS-24	خلخال-اردبیل
٥	*S. montanum*	CS-05	سمنان	۲٥	*S. montanum*	CS-25	تهران
٦	*S. cereale*	CS-06	سمیرم-اصفهان	۲٦	*S. sermont*	CS-26	ملایر-همدان
۷	*S. montanum*	CS-07	سمیرم-اصفهان	۲۷	Other Population	CS-27	روسیه
۸	*S. sermont*	CS-08	اراک	۲۸	*S. montanum*	CS-28	نجف آباد-اصفهان
۹	*S. cereale*	CS-09	فریدونشهر-اصفهان	۲۹	*S .montanum*	CS-29	زنجانرود-زنجان
۱۰	*S. cereale*	CS-10	چادگان-اصفهان	۳۰	*S. montanum*	CS-30	کاشان-اصفهان
۱۱	*S. montanum*	CS-11	بهیز-اصفهان	۳۱	*S. montanum*	CS-31	کرج-البرز
۱۲	*S. cereal*	CS-12	سمنان	۳۲	*S. montanum*	CS-32	کرج-تهران
۱۳	*S. cereale*	CS-13	فریدن-اصفهان	۳۳	*S. montanum*	CS-33	زنجان
۱٤	Other Population	CS-14	ارومیه-آذربایجان غربی	۳٤	*S. montanum*	CS-34	خراسان شمالی
۱٥	Other Population	CS-15	کرج	۳٥	*S. cereale*	CS-35	فریدن-اصفهان
۱٦	*S. montanum*	CS-16	پارک جهان نما تهران	۳٦	*S. montanum*	CS-36	فریدونشهر-اصفهان
۱۷	*S. montanum*	CS-17	کرج-البرز	۳۷	*S. sermont*	CS-37	آمریکا
۱۸	*S. cereale*	CS-18	فریدونشهر-اصفهان	۳۸	Other Population	CS-38	آمریکا
۱۹	*S. cereale*	CS-19	چهارمحال بختیاری	۳۹	Other Population	CS-39	آمریکا
۲۰	*S. cereale*	CS-20	داران-اصفهان	-	-	-	-

جدول ۲- اطلاعات چندشکلی حاصل از آغازگرهای AFLP در ژرم‌پلاسم چاودار

ردیف	نام آغازگر	کل باندها	باندهای چندشکل	درصد چندشکلی	میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)	شاخص نشانگر (MI)
۱	EAC 3N S4 5	۱۸	۱۸	۱۰۰	۰/۱۸	۳/۲٤
۲	ECC 3N S4 1	۱۷	۱۷	۱۰۰	۰/۳٥	٥/۹٥
۳	ECC 3N S4 5	۱۱	۹	۸۱/۸۱	۰/۲٥	۲/۲٥
٤	ECT 3N S4 8	۲۲	۲۲	۱۰۰	۰/۳	٦/٦
٥	ECT 3N S4 4	۱۹	۱۷	۸۹/٤۷	۰/۲٥	٤/۷٦
٦	EAT 3N S4 63	۱٥	۱٤	۹۳/۳۳	۰/۱۷	۲/۳۸
۷	ECT 3N S4 31	۱۳	۱۳	۱۰۰	۰/۲	۲/٦
۸	EAT 3N S4 10	۱٦	۱٥	۹۳/۷٥	۰/۲۲	۳/۳
۹	EAC 3N S4 38	۱۱	۱۱	۱۰۰	۰/۱٥	۱/٦٥
۱۰	EAC 3N S4 40	۱۲	۱۱	۹۱/٦۷	۰/۲	۲/۲
۱۱	ECC 3N S4 4	۱۱	۱۰	۹۰/۹	۰/۱٤	۱/٤
۱۲	ECC 3N S4 61	۱۱	۹	۸۱/۸۱	۰/۱۳	۱/۱۷
۱۳	EAT 3N S4 2	۱۲	۱۱	۹۱/٦۷	۰/۱۸	۱/۹۸
	کل	۱۸۸	۱۷۷	۹٤/۱٥	۰/۲۲	۳

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

مرحله سنتز نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. سپس محصولات حاصل از تکثیر پیش انتخابی به نسبت ۹:۱ رقیق شدند و با ۱۳ جفت آغازگر AFLP دارای ۳ نوکلئوتید انتخابی تکثیر شد. قطعات تکثیر شده جهت آشکارسازی بر روی ژل پلی اکریل آمید ٦ درصد تفکیک شدند (Garcia-Mas et al. 2000; Liu et al. 2018). الکتروفورز به مدت دو ساعت با بافر TBE 1X و ولتاژ ۱۲۰۰ ولت و رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره صورت گرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، باندهای حاصل از محصولات PCR به‌صورت داده‌های صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) با نرم‌افزار NTSYS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بهترین دندروگرام را الگوریتم خوشه‌ای UPGMA و ضریب تشابه دایس ترسیم کرد. برای توصیف بهتر روابط ژنتیکی بین و درون گونه‌ها از نرم‌افزارهای GenAlex و Popgen32 استفاده شد (Yeh et al. 1999). شاخص اطلاعاتی شانون (Shannon Information Index) از طریق فرمول I= (Pi).(log2 Pi) به‌دست آمد، در این فرمول s برابر تعداد گونه‌ها و p_i نسبتی از مجموعه نمونه است که به گونه iام تعلق دارد. تنوع ژنی نی (Nei´s genic diversity) توسط Nei(1973) با استفاده از فرمول H= Σ hj/L محاسبه شد. تجزیه واریانس مولکولی (Analysis of Molecular Variance) برای تفکیک واریانس مولکولی به واریانس بین و درون گونه‌ها با نرم‌افزار GenAlex انجام شد (Peakall and Smouse 2006). برای محاسبه تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای به روش نی، ضریب تمایز ژنی (GST) به‌وسیله فرمول GST= DST / HT محاسبه شد که در آن HT تنوع ژنی کل (HS+DST)، HS تنوع ژنی درون جمعیت و DST تنوع بین جمعیتی (HT-HS) است. جریان ژنی (Nm) نیز با فرمول مربوطه محاسبه شد (Slatkin and Barton 1989).

نتایج

در این تحقیق تمامی باندهای حاصل از نشانگر AFLP در فاصله ۵۰ تا ۱۵۰۰ جفت‌باز امتیازدهی شدند. ۱۳ جفت آغازگر AFLP در مجموع ۱۷۷ باند چندشکل تولید نمودند که تقریباً ۹٤/۱۵ درصد از کل ۱۸۸ باند تولید شده را شامل شد. در این مطالعه متوسط تعداد کل باندها به ازای هر جفت آغازگر ۱٤/٤٦ عدد و به ازای هر ژنوتیپ ٤/۸۲ عدد بود. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) برای کل آغازگرهای AFLP ۰/۲۲ به‌دست آمد. از بین آن‌ها آغازگر ECC 3N 4S 61 کمترین PIC (۰/۱۳) و آغازگر ECC 3N 4S 1 بیشترین PIC (۰/۳۵) را نشان داد. بیشترین و کمترین مقدار شاخص نشانگر (MI) به‌ترتیب مربوط به آغازگر ECC 3N 4S 8 (٦/٦) و ECC 3N 4S 61 (۱/۱۷) بود. میانگین شاخص نشانگر برابر ۳ محاسبه شد (جدول ۲).

گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای با نشانگر AFLP تنوع و پراکندگی زیادی را در بین جمعیت‌های چاودار از خود نشان داد و توانست جمعیت‌های چاودار را بر اساس منشأ جغرافیایی و مشابهت اقلیمی از هم تفکیک کند. در این گروه‌بندی جمعیت‌های چاودار در ضریب تشابه ۷٦ درصد به پنج گروه تقسیم‌بندی شدند (شکل ۱). گروه اول بیشترین تعداد جمعیت‌های چاودار را در خود جای داد. این جمعیت‌ها شامل دو نمونه سرمونت آمریکا و همدان، تمام مونتانوم‌های چاودار و تمام نمونه‌های سرال بجزء یک نمونه سرال سمیرم بود. همچنین چندین نمونه با نام گونه نامشخص در این گروه قرار داشتند. بیشترین شباهت در این گروه بین مونتانوم پارک جهان‌نما تهران و نمونه سرال فریدون‌شهر با ۹۷ درصد شباهت بود. در گروه دوم فقط یک نمونه چاودار از آمریکا با نام گونه نامشخص قرار گرفت. این نمونه با مونتانوم کاشان با ۷٦ درصد تشابه، بیشترین شباهت و با نمونه سرمونت اراک با ۳۳ درصد تشابه، کمترین شباهت را نشان داد. در گروه سوم فقط یک نمونه چاودار از کشور روسیه با نام گونه نامشخص قرار گرفت. این نمونه با سرمونت آمریکا با ۷۰ درصد شباهت، بیشترین شباهت و با نمونه سرال سمیرم با ٤۳ درصد شباهت کمترین تشابه را داشت. در گروه چهارم این دندروگرام فقط نمونه چاودار سرال سمیرم قرار داشت که با نمونه سرال فریدون‌شهر با ٦٦ درصد شباهت، بیشترین تشابه و با نمونه نامشخص از آمریکا با ۳۵ درصد شباهت، کمترین تشابه را نشان داد. در گروه پنجم فقط سرمونت اراک در ضریب تشابه ٤۸ درصد دورتر از سایر نمونه‌های چاودار قرار گرفت. این نمونه با مونتانوم کردستان با

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

۵۵ درصد تشابه، بیشترین شباهت و با نمونه نامشخص از آمریکا با ۳۳ درصد تشابه، کمترین تشابه را نشان داد.

برای تعیین نحوه پراکنش نشانگرهای AFLP در چاودار، آزمون تجزیه مؤلفه‌های اصلی انجام گرفت. نتایج نشان داد که سه مؤلفه اول ۳۷/٤۰ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند که سهم مؤلفه اول ۱۷/٤۵ درصد بود. مؤلفه‌های دوم و سوم به‌ترتیب ۱۰/٦۳ درصد و ۹/۳۲ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند. نتایج حاصل از نشانگرهای AFLP بیانگر توزیع مناسب نشانگرهای به‌کار رفته بر روی ژنوم چاودار می‌باشد. نتایج گروه‌بندی تجزیه مؤلفه‌های اصلی با نتایج گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابقت کامل داشت.

نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) اختلاف معنی‌داری را در سطح یک درصد بین اجزای واریانس نشان داد. تفسیر این عبارت به معنای آن است که تنوع درون گونه‌ای چاودار بیشتر از تنوع بین گونه‌ای بوده است. به‌طوری‌که ۹۷ درصد تنوع مربوط به درون گونه‌ها و ۳ درصد مربوط به تنوع بین گونه‌ها بود (جدول ۳). شاخص اطلاعاتی شانون (I) و تنوع ژنی نی (h) از جمله شاخص‌های درون جمعیتی هستند که هر چه مقدار آن‌ها بیشتر باشد در واقع تنوع درون جمعیت‌ها بالاتر است. در این مطالعه میانگین تنوع ژنی نی (h) ۰/۳۲ و میانگین شاخص اطلاعاتی شانون برابر ۰/٤۸ بود که بیانگر تنوع نسبتاً خوب درون گونه‌ها می‌باشد. بیشترین شاخص اطلاعاتی شانون را نمونه‌هایی از چاودار با نام گونه نامشخص به خود اختصاص دادند (جدول ٤). مقدار ضریب تمایز ژنی (GST) ۰/۱۵۲ و جریان ژنی (Nm) ۲/٦۵ بود. آماره GST نشان داد که ۱۵ درصد تنوع بین گونه‌ها و ۸۵ درصد از کل تنوع مربوط به تنوع درون گونه‌ها بوده است. نتایج حاصل از دندروگرام فاصله ژنتیکی نی با نرم‌افزار PopGene نشان داد که بیشترین شباهت بین گونه‌های *S. montanum* و *S. cereale* با ۹٦ درصد شباهت بود. بین گونه‌های *S. cereal* و *S. sermont* ۹۵ درصد شباهت دیده شد. کمترین شباهت (۹۱ درصد تشابه) بین گونه‌های *S. montanum* و *S. sermont* مشاهده شد (شکل ۳). بنابراین نتایج گروه‌بندی فاصله ژنتیکی نی با گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. می‌توان گفت که نشانگر AFLP به‌خوبی توانسته است گونه‌های چاودار را از نظر شباهت ژنتیکی گروه‌بندی کند.

جدول ۳- آنالیز تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با نشانگر AFLP به‌کمک نرم‌افزار GenAlex

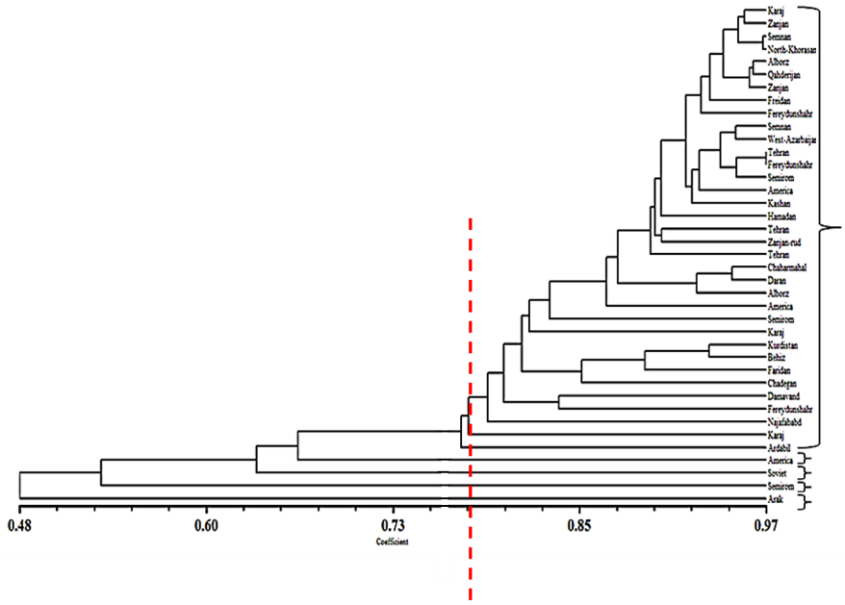
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	اجزای واریانس (Ftest)	درصد واریانس
بین گونه‌ها	۳	۲٦/۸۹۰	۰/٦۸۸**	٪۳
درون گونه‌ها	۳۵	۲۰/۹۰۵	۲۰/۹۰۵**	٪۹۷

جدول ٤- مقادیر شاخص اطلاعاتی شانون (I) و تنوع ژنی نی (h) با نشانگر AFLP

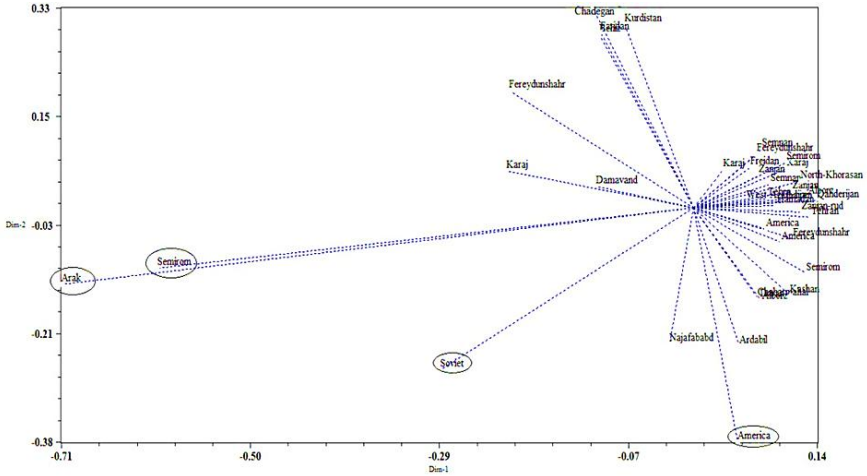
گونه‌ها	تعداد نمونه‌ها	شاخص اطلاعاتی شانون (I)	تنوع ژنی نی (h)
S. montanum	۱۸	۰/۳۹۷±۰/۲۷۹	۰/۲٦۹±۰/۲۰۱
S. cereale	۱۱	۰/٤۰۱±۰/۳۰٤	۰/۲۷۸±۰/۲۱۸
S. sermont	۳	۰/۳۷٦±۰/۳۱۳	۰/۲٦۲±۰/۲۲۲
Other Population	۷	۰/٤۷٦±۰/۲٦۱	۰/۳۲۷±۰/۱۹۲
میانگین	۹/۷۵±۰/۲۰۸	۰/٤۸۰±۰/۲۱۲	۰/۳۲۰±۰/۱٦۷

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

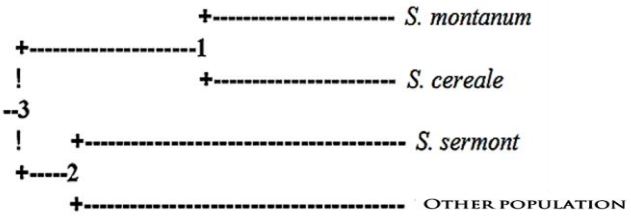
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]



شکل ۱- دندروگرام ۳۹ جمعیت چاودار حاصل از روش UPGMA با نشانگر AFLP با نرم‌افزار NTSYS



شکل ۲- نمودار دو بعدی جمعیت‌های چاودار با استفاده از تجزیه مؤلفه‌های اصلی



شکل ۳- دندروگرام نااریب گونه‌های چاودار با فاصله ژنتیکی نی به روش UPGMA با آغازگرهای AFLP

بحث

در این مطالعه تعداد باندهای تکثیر شده و میزان چندشکلی بالا (۹٤ درصد) در جمعیت‌های چاودار مورد مطالعه بیانگر کارایی بالای شاخص‌های PIC و MI در ارزیابی تنوع ژنتیکی چاودار بوده است. متوسط تعداد باند چندشکل به ازای هر آغازگر ۱۳/٦۱ عدد و به ازای هر ژنوتیپ ٤/٥٤ عدد بود. در مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گندم سرداری با نشانگر AFLP گزارش شد که میانگین درصد چندشکلی ۷۳/۹۷ درصد بود (Osmani and

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

Siosemardeh 2009). در این تحقیق آغازگر ECC 3N S4 8 بهترین آغازگر AFLP شناخته شد. این آغازگر با ۲۲ باند چندشکل، ۱۰۰ درصد چندشکلی را نشان داد. از نتایج به‌دست آمده می‌توان گزارش کرد که هر چه عدد متوسط تعداد باند چندشکل به ازای هر آغازگر بیشتر باشد کارایی آن نشانگر در گیاه مورد مطالعه بالاتر می‌باشد. بنابراین نشانگر AFLP با ۱۳/۶۱ باند چندشکل به ازای هر آغازگر بیشترین کارایی را در گیاه چاودار از خود نشان داد.

میزان اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم برای مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز به شمار می‌رود. مقادیر بالای آن‌ها دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری است که در تفکیک و تمایز افراد نقش به‌سزایی دارد. بنابراین نشانگرهایی با PIC بالا برای تمایز ژنوتیپ‌هایی با خویشاوندی نزدیک اهمیت بالایی دارند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که از میان آغازگرهای به‌کار رفته، جفت آغازگر ECC 3N S4 8 بیشترین شاخص نشانگر و توان پتانسیل بالا برای تولید حداکثر باند را داراست. میانگین میزان اطلاعات چندشکلی نیز ۰/۲۲ برآورد شد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل توجهی در میان جمعیت‌های چاودار می‌باشد.

در تحقیق حاضر، تنوع ژنتیکی ۳۹ جمعیت چاودار با نشانگرهای AFLP بررسی شد. این نشانگر به خوبی توانست جمعیت‌های چاودار را به پنج گروه تقسیم کند. نتایج تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس با ضریب کوفنتیک ۰/۹۶ نشان داد که بیشترین شباهت با ۹۷ درصد ضریب تشابه بین مونتانوم پارک جهان‌نما تهران و سرال فریدونشهر (اصفهان) دیده شد. علت این نحوه قرار گرفتن نمونه‌ها را می‌توان به مشابهت اقلیمی مناطق جمع‌آوری چاودار نسبت داد که همگی از مناطق سردسیری بودند. در حالی‌که نمونه‌های سرمونت اراک و نمونه‌ای از آمریکا در دورترین فاصله ژنتیکی نسبت به‌هم قرار داشتند. در این گروه‌بندی دو نمونه چاودار از روسیه و آمریکا که نام گونه آن‌ها نامشخص بود هر کدام در یک گروه جداگانه قرار گرفتند اما نمونه سرمونت آمریکا و یک نمونه دیگر از آمریکا با نام گونه نامشخص در گروه اول دندروگرام در کنار بقیه نمونه‌های چاودار که از ایران جمع‌آوری شده بودند، قرار گرفتند. علت این نحوه قرار گرفتن نمونه‌های جمع‌آوری شده از خارج کشور در کنار نمونه‌های چاودار ایران را می‌توان به دلیل داشتن منشأ اولیه مشترک آنها نسبت داد. به‌عبارت دیگر این نمونه‌ها طی تکامل هزار ساله از محیط و به دلایل مهاجرت‌های جغرافیایی، پدیده جریان ژنی و به‌علت انتقال دانه گرده توسط حشرات و باد (به‌علت دگرگشن بودن چاودار) به مرور زمان دچار تغییرات ژنتیکی شده‌اند و احتمالاً منشأ اولیه آن‌ها مشترک بوده است. علت قرار گرفتن نمونه‌های سرمونت در کنار نمونه‌های سرال و مونتانوم را می‌توان به این دلیل دانست که گونه سرمونت هیبرید گونه‌های سرال و مونتانوم می‌باشد و تا حدودی به هر دو گونه شبیه می‌باشد. در مجموع نشانگر AFLP توانست جمعیت‌های چاودار را بر اساس منشأ جغرافیایی و مشابهت اقلیمی مناطق از هم تفکیک کند. در تحقیقی که به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گندم سرداری با نشانگر AFLP و صفات زراعی انجام شد، گزارش گردید که تنوع ژنتیکی بالایی در میان اکوتیپ‌های گندم سرداری مشاهده شد. نتایج این پژوهش وجود تنوع در بین نمونه‌های چاودار را با نشانگر AFLP به‌خوبی توجیه کرد (Osmani and Siosemardeh 2009; Lassois et al. 2016).

عدم همبستگی در میان متغیرها برای داده‌های مولکولی ویژگی سودمندی است زیرا نشان می‌دهد این متغیرها جنبه‌های گوناگونی از داده‌ها را اندازه‌گیری می‌کنند که در این صورت به تعداد بیشتری مؤلفه اصلی برای توجیه تغییرات داده‌های اولیه نیاز می‌باشد (El-Esawi 2017; Horst and Wenzel 2007) تجزیه مؤلفه‌های اصلی یکی از روش‌های چندمتغیره است که کاربرد زیادی در تنوع ژنتیکی دارد. این روش ابزار دیگری برای نمایش پراکنش نمونه‌هاست که به‌عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای به کار می‌رود. در این مطالعه سه مؤلفه اول ۳۷/۴۰ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند که بیانگر توزیع مناسب آغازگرهای AFLP در سطح ژنوم گیاه چاودار بوده است. این نتایج با نتایج دندروگرام تجزیه خوشه‌ای هماهنگی کامل داشت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که تنوع درون گونه‌ای چاودار بیشتر از تنوع بین گونه‌ای بوده است. به‌طوری‌که ۹۷ درصد تنوع مربوط به درون گونه‌ها و ۳ درصد مربوط به تنوع بین گونه‌ها بود. بنابراین جمعیت‌های درون

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

گونه‌ای چاودار هتروزیگوسیتی بالایی داشته است. علت این امر را می‌توان به مهاجرت‌های جغرافیایی و روابط تکاملی دراز مدت گیاه، درصد دگرگشنی بالای چاودار نسبت داد.

شاخص اطلاعاتی شانون (I) و تنوع ژنی نی (h) از جمله شاخص‌های درون جمعیتی هستند. در این مطالعه میانگین تنوع ژنی نی و شانون به‌ترتیب ۰/۳۲ و ۰/٤۸ بود که بیانگر تنوع نسبتاً خوب درون گونه‌های چاودار می‌باشد. گونه‌هایی که جریان ژنی در آن‌ها محدودتر است، تمایز بیشتری GST بین جمعیت‌های آن‌ها اتفاق می‌افتد و در مقابل هر چه میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها بیشتر باشد باعث همگن‌تر شدن جمعیت‌ها و عدم تمایز ژنتیکی آن‌ها می‌شود. در این مطالعه مقدار ضریب تمایز ژنی (GST) ۰/۱۵۲ و جریان ژنی (Nm) ۲/٦٥ بود. نتایج آماره GST بیانگر این بود که اکثر تنوع محاسبه شده (۸۵ درصد) حاصل تنوع میان نمونه‌های چاودار درون یک گونه بوده است و بین گونه‌ها تفاوت کمی مشاهده شد که علت را می‌توان به این عامل نسبت داد که گونه *S. sermont* هیبریدی از گونه‌های *S. montanum* و *S. cereal* است. در این تحقیق اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های محاسبه شده GST و Nm در نشانگر AFLP دیده نشد. در تحقیقی با بررسی تنوع ژنتیکی ٤۹ رقم برنج هندی با نشانگر AFLP گزارش شد که ۹ ترکیب آغازگری ٦٦٤ باند تولید کردند که ٤۰۸ باند چندشکل داشتند. تنوع ژنتیکی با شاخص شانون و نی نیز نتایج مشابهی را نشان داد. تنوع ژنتیکی بالایی در ارقام مدرن نسبت به ارقام بومی مشاهده شد. تجزیه مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای نشان دادند که یک مرزبندی مشخصی بین ارقام محلی وجود دارد اگر چه فاصله ژنتیکی بین آن‌ها کم باشد (Osmani and Siosemardeh 2009; Cwiklińska et al. 2010). در دندروگرام حاصل از نرم‌افزار PopGene بیشترین شباهت بین گونه‌های *S. montanum* و *S. cereal* با ۹٦ درصد شباهت دیده شد. در دندروگرام تجزیه خوشه‌ای مشاهده شد که اکثر نمونه‌های چاودار در یک گروه قرار دارند که شامل اکثر نمونه‌های گونه *S. cereal* با به‌جز یک نمونه از سرال سمیرم و تمام نمونه‌های گونه *S. montanum* بود. این نحوه گروه‌بندی بیانگر قرابت و شباهت زیاد گونه‌های مونتانوم و سرال بوده است. این شباهت ژنتیکی می‌تواند به‌علت درصد دگرگشنی بالای چاودار باشد. در این تحقیق نتایج گروه‌بندی حاصل از فاصله ژنتیکی نی با گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. در بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گندم سرداری با نشانگر AFLP گزارش شد که اهمیت برآورد تنوع ژنتیکی به این دلیل است که کاهش تنوع ژنتیکی ممکن است موجب آسیب‌پذیری شدید محصولات زراعی در برابر تنش‌های محیطی، آفات و بیماری‌ها و در نتیجه کاهش عملکرد شود (Prashanth et al. 2002).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نشانگرهای AFLP روشی ارزشمند در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای چاودار می‌باشد. بنابراین از اطلاعات ژنتیکی حاصل از این نشانگر می‌توان برای انجام تحقیقات کاربردی به‌منظور اصلاح گیاه چاودار استفاده نمود.

سپاسگزاری

از بخش ژنومیکس پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی اصفهان (غرب کشور) به‌خاطر فراهم آوردن امکانات این تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

Aboukhalid K, Machon N, Lambourdière J, Abdelkrim J, Bakha M, Douaik A, Korbecka-Glinka G, Gaboun F, Tomi F and Lamiri A (2017) "Analysis of genetic diversity and population structure of the endangered Origanum compactum from Morocco, using SSR markers: Implication for conservation." Biological conservation 212: 172-182.

Aggarwal R, Brar D, Nandi S, Huang N and Khush G (1999) "Phylogenetic relationships among Oryza species revealed by AFLP markers." Theoretical and Applied Genetics 98:1328-1320.

Andersson R, Fransson G, Tietjen M, Åman P (2009) Content and molecular-weight distribution of dietary fiber

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]

components in wholegrain rye flour and bread. J Agric Food Chem 57:2004-2008.
Ćwiklińska A, Broda Z, Bocianowski J and Dobrzycka A (2010). "The Usefulness of RAPD and AFLP Markers for Determining Genetic Similarity in Rye (Secale L.) Species and Subspecies Series botanica.
El-Esawi MA (2017) "SSR analysis of genetic diversity and structure of the germplasm of faba bean (Vicia faba L.)." Comptes rendus biologies 340: 474-480.
Fischer S, Melchinger AE, Korzun V, Wilde P, Schmiedchen B, Möhring J, Piepho HP, Dhillon BS, Würschum T, Reif JC (2010) Molecular marker assisted broadening of the Central European heterotic groups in rye with Eastern European germplasm. Theor Appl Genet 120: 291-299.
Garcia-Mas J, Oliver M,.Gomez-Paniagua H and De Vicente M (2000) "Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon." Theoretical and Applied Genetics 101: 860-864.
Geiger HH, Miedaner T (1999) Hybrid rye and heterosis. In: Coors JG, Pandey S (eds) Genetics and exploitation of heterosis in crops. Crop Sci Soc America, Madison, pp 439-450.
Horst L and Wenzel G (2007) Molecular marker systems in plant breeding and crop improvement, Springer Science And Business Media.
Lassois, L, Denancé C, Ravon E, Guyader A, Guisnel R, Hibrand-Saint-Oyant L, Poncet C, Lasserre-Zuber P, Feugey L and Durel CE (2016) "Genetic diversity, population structure, parentage analysis, and construction of core collections in the French apple germplasm based on SSR markers." Plant Molecular Biology Reporter 34: 827-844.
Liu X, B, J Li and Z L Yang (2018) "Genetic diversity and structure of core collection of winter mushroom (Flammulina velutipes) developed by genomic SSR markers." Hereditas 155: 3.
Mazaheri D, SA Shojaosadati, SM Mousavi, P Hejazi and S. Saharkhiz (2012). "Bioethanol production from carob pods by solid-state fermentation with Zymomonas mobilis." Applied Energy 99: 372-378.
Nybom, H. and I. V. Bartish (2000). "Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants." Perspectives in plant ecology, evolution and systematics 3: 93-114.
Osmani Z and Siosemardeh A (2009) "A study of genetic diversity in Sardari wheat ecotypes using AFLP markers and agronomic traits." Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 13: 301-320.
Peakall R and Smouse PE (2006) "GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research." Molecular ecology notes 6: 288-295.
Prashanth S, Parani M, Mohanty B, Talame V, Tuberosa R and Parida A (2002) "Genetic diversity in cultivars and landraces of Oryza sativa subsp. indica as revealed by AFLP markers." Genome 45: 451-459.
Rogers SO and AJ Bendich (1994) Extraction of total cellular DNA from plants, algae and fungi. Plant molecular biology manual, Springer: 183-190.
Rosen LAH, Ostman EM, Shewry PR, Ward JL, Andersson AAM, Piironen V, Lampi AM, Rakszegi M, Bedö Z, Björck IME (2011) Postprandial glycemia, insulinemia, and satiety responses in healthy subjects after whole grain rye bread made from different rye varieties 1. J Agric Food Chem 59: 12139-12148.
Schlegel R, Melz G (1999) Genetic linkage map of rye (Secale cereale L.). Vortr Pflanzenzuchtg 35: 311-321
Sidhu JS, Ramakrishnan SM, Ali S, Bernardo A, Bai G, Abdullah S, Ayana G and Sehgal SK (2019) "Assessing the genetic diversity and characterizing genomic regions conferring Tan Spot resistance in cultivated rye."PloS one 14.
Slatkin M and Barton NH (1989) "A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow." Evolution 43: 1349-1368.
Spada A, Mantegazza R, Biloni M, Caporali E and Sala F (2004) "Italian rice varieties: historical data, molecular markers and pedigrees to reveal their genetic relationships."Plant Breeding 123: 105-111.
Targonska M, Bolibok-Brągoszewska H, Rakoczy-Trojanowska M (2016) Assessment of Genetic Diversity in Secale cereale Based on SSR Markers. Plant Mol Biol Rep 34:37-51.
Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, PotJ ,Peleman J, Kuiper M, Zabeau M (1995). AFLP: a new technique for DNAfingerprinting. Nucleic Acids Research 23:4407-4414.
Yeh FC, Yang R, Boyle TB, Ye Z and Mao JX (1999) POPGENE version 1.32, the user-friendly shareware for population genetic analysis."Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1399.15.4.1.8]