ژنتیک نوین
دوره پنجم، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۹
صفحه ۹۱-۸۳

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف گندم با استفاده از نشانگرهای پروتئین‌های ذخیره‌ای و ریزماهواره‌ها

بهمن فاضلی‌نسب*[۱]، علی‌اشرف مهرابی[۲]، علی ایزدی‌دربندی[۳]

۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی
۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Fazelie58@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳۰)

چکیده

در این تحقیق از دو نشانگر پروتئین‌های ذخیره‌ای و ریزماهواره‌ها برای ارزیابی میزان سطوح چندشکلی، شباهت و روابط ژنتیکی میان ۱۸ رقم گندم ایرانی استفاده شد. چندشکلی آغازگرهای ریزماهواره و جایگاه پروتئین‌های ذخیره‌ای محاسبه و میانگین ۰/٦٦ برای هر دو نشانگر بدست آمد. میانگین شباهت ژنتیکی ریزماهواره‌ها و پروتئین‌های ذخیره با استفاده از روش نی و لی محاسبه و به ترتیب ۰/۳۳۹ و ۰/۲۸۸ بدست آمد. تعداد الل تولید شده برای ۳۷ جفت آغازگر مورد استفاده ریزماهواره‌ها از ۲ تا ۱۰ متغیر و میانگین تعداد الل در هر لوکوس ۵/۳۷ و در مجموع ۱۹۹ الل شناسایی شد. اما تعداد الل برای ٦ جایگاه مورد ارزیابی پروتئین‌های ذخیره گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین از ۳ تا ۷ متغیر و میانگین ٤/٥ و در مجموع ۲۷ الل شناسایی شد. تجزیه خوشه‌ای ارقام مختلف گندم بر اساس شباهت ژنتیکی نی و لی و روش UPGMA برای ریزماهواره‌ها، پروتئین‌های ذخیره و اختلاط داده‌های بدست آمده از هر دو نشانگر با هم محاسبه گردید. خوشه‌بندی انجام شده با داده‌های پروتئین‌های ذخیره و ریزماهواره‌ها اختلاف زیادی داشتند اما خوشه حاصل از اختلاط دو نشانگر ارقام را در ٦ خوشه مختلف قرار داده و از لحاظ موقعیت جغرافیایی از همدیگر جدا کرده است. نتایج نشان داد که در ارزیابی تنوع ژنتیکی بهتر است از همکاری نشانگرها توام استفاده شود تا نتایج قابل اطمینان‌تری ارائه شود هر چند با توجه به زمان و امکانات هر کدام از نشانگرها به‌تنهایی نیز دارای قابلیت‌های مفیدی نیز می‌باشند.

واژه‌های کلیدی

گندم،
ریزماهواره‌ها،
پروتئین‌های ذخیره،
چندشکلی،
شباهت ژنتیکی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

مقدمه

گندم گیاهی، یک‌ساله، تک‌لپه، خودگشن، از تیره غلات، خانواده گندمیان و جنس تریتیکوم بوده و دارای سه گروه ۱۴، ۲۸ و ۴۲ کروموزومی با فرمول ژنومی AA، AABB و AABBDD که کروموزوم‌ها در سه گروه همیولوگ A، B و D قرار گرفته‌اند می‌باشد. ژنوم گندم بسیار بزرگ، شامل $۱۰^{۹} \times ۱۶$ جفت‌باز بوده و دارای حدود ۸۰ درصد دی‌اِن‌آ تکراری با متوسط ۸۱۰ مگا جفت باز در هر کروموزوم با طول ۱۰ میکرومتر است (۱۵ و ۲۵).

تاکنون نشانگرهای مختلفی از قبیل نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و دی‌اِن‌آ در برنامه‌های اصلاحی و خوشه‌بندی ذخایر ژنتیکی گندم مورد استفاده قرار گرفته‌اند که هر کدام دارای مزایا و معایب خاص خود می‌باشند. نشانگرهای بیوشیمیایی مربوط به نواحی رمز کننده بوده، تکرار پذیر، آسان و دارای چندشکلی مناسب می‌باشند اما نشانگرهای دی‌اِن‌آ علاوه بر نواحی رمز کننده، تفاوت‌های بین ردیف‌های غیر رمز کننده و توالی‌های کناری ژنوم را نیز آشکار می‌سازند. در بین نشانگرهای دی‌اِن‌آ، ریزماهواره[1] روشی فوق‌العاده مطمئن و تکرارپذیری است که به آسانی در جنبه‌های مختلف بیولوژی مولکولی، اصلاح‌نباتات و برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱، ۱۷ و ۳۱).

ریزماهواره‌ها، توالی‌های تکراری ۶-۲ نوکلئوتیدی هستند که به تعداد فراوان و به صورت یکنواخت در سطح ژنوم هسته‌داران و در نواحی رمز کننده و غیر رمز کننده دی‌اِن‌آ پراکنده‌اند (۲و ۱۷). این جایگاه‌های ژنومی از تنوع بسیار بالای اللی برخوردار هستند و بر اساس قوانین مندل و بصورت هم‌بارز به نتاج منتقل می‌شوند و سطوح بسیار بالای چندشکلی را در تعداد توالی‌های تکرار شونده از خود نشان می‌دهند (۱۴و ۱۷). فناوری ریزماهواره‌ها مبتنی بر تکثیر قطعه دی‌اِن‌آ تکرار شونده با استفاده از آغازگرهای طراحی شده از نواحی مجاور توالی‌های تکراری با محتوای GC، ۵۰ درصد و از طریق پی‌سی‌آر بوده و نتایج مربوط به آن در آزمایشگاه‌های مختلف جهان به آسانی قابل تکرار است (۷ و ۲۴). پروتئین‌های ذخیره دانه گندم از نظر وزن مولکولی به دسته‌های گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین و گلیادین (آلفا، بتا، گاما، امگا) تقسیم‌بندی می‌گردند (۴، ۱۰ و ۱۲). در این تحقیق از پروتئین‌های ذخیره گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین استفاده شده است. گلوتنین دارای وزن مولکولی ۳۰۰۰۰۰ دالتون و بار منفی بوده که توسط سیستم الکتروفورزی SDS-PAGE قابل جداسازی است (۱۳و ۳۲). در ضمن مشخص شده که در نواحی رمز کننده پروتئین‌های ذخیره‌ای توالی‌های ریزماهواره‌ای وجود دارد، بطوریکه توالی رمز کننده گلوتنین با وزن مولکولی پایین دارای توالی $(CAG)_5(CAA)_8$ می‌باشد، و عامل اصلی چندشکلی پروتئین‌های رمز شده توسط این خانواده‌های ژنی بدلیل تفاوت در تکرارهای ریزماهواره‌های موجود در آن‌ها است(۹و ۲۴).

Plaschke و همکاران (۱۹۹۵) تنوع ژنتیکی در میان ۴۰ رقم گندم نان اروپایی را با استفاده از ۲۳ آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند. Prasad و همکاران (۲۰۰۰) ۵۵ ژنوتیپ گندم را با استفاده از ۲۰ نشانگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند. Maccaferri و همکاران (۲۰۰۳) ۵۸ جمعیت گندم دوروم را با استفاده از ۷۰ آغازگر ریزماهواره مورد مقایسه قرار دادند. Gupta and shepherd (۱۹۹۰) ۲۷۰ رقم گندم نان و ۱۱ رقم گندم دورم را با استفاده از پروتئین‌های ذخیره گلوتنین با وزن مولکولی پایین مورد بررسی قرار دادند. Dotlacil و همکاران (۲۰۰۲) چندشکلی اللی جایگاه گلوتنین با وزن مولکولی بالا را در ۱۲۳ رقم و لاین گندم پاییزه ارزیابی کردند. Baranger و همکاران (۲۰۰۴) تعداد ۱۴۸ جمعیت نخود را با استفاده از نشانگرهای پروتئین‌های ذخیره، آیزوزایم‌ها، ISSR، SSR، STS، RAPD مورد مقایسه قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که SSR و پروتئین‌های ذخیره توام دارای بیشترین مقدار چندشکلی و تعداد الل در لوکوس بودند.

در اینجا هدف از این تحقیق نیز کارایی دو نشانگر ریزماهواره و پروتئین‌های ذخیره‌ای در بررسی چندشکلی و ارزیابی تنوع و تعیین میزان شباهت ژنتیکی بین ارقام مختلف گندم نان در ایران است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق تعداد ۱۸ رقم جهت انجام آزمایش از بخش تحقیقات غلات مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج (ایران)

[1] Simple Sequence Repeat or Microsatellite

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

تهیه و با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و پروتئین‌های ذخیره‌ای مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱).

استخراج و الکتروفورز پروتئین

استخراج پروتئین بر اساس دستورالعمل Marchylo و همکاران (۱۹۷۹) که توسط Singh و همکاران (۱۹۹۱) اصلاح شده بود، انجام گرفت. الکتروفورز زیر واحدهای پروتئینی با سیستم SDS-PAGE تک مرحله‌ای در ژل‌های دارای شیب غلظت (۱۲/۵-۸/۱ درصد) با یک سری تغییرات جدید انجام شد (۱۲). نام‌گذاری زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا بر اساس مدل Pyne و همکاران (۱۹۸۱) و زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی پایین بر اساس مدل Gupta و همکاران (۱۹۹۱) انجام شد.

استخراج و تکثیر دی‌ان‌آ

استخراج دی‌ان‌آ ژنومی بر مبنای روش Dellaporta و همکاران (۱۹۹۳) انجام شد. از میان تعداد زیادی آغازگرهای ریزماهواره گندم که توسط Roder و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده بود، تعداد ۳۷ جفت آغازگر با در نظر گرفتن پوشش ژنومی مناسب برای این تحقیق انتخاب شد (جدول۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر اساس دستورالعمل Roder و همکاران (۱۹۹۸) با اندکی تغییر صورت گرفت. الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید واسرشته‌ساز استاندارد و رنگ آمیزی با استفاده از روش نیترات نقره انجام شد (۵).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نمره‌دهی نوارها براساس حضور (یک) و عدم حضور (صفر) برای هر نوار، انجام شد. ماتریس تشابه با استفاده از روش نی و لی (۱۹۷۹) محاسبه گردید. محتوای چندشکلی (PIC)[2] که مقدار آن بین صفر تا یک است با استفاده از فرمول $PIC = 1 - \sum (Pj)^2$ (Pj فراوانی الل j ام در تمام ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی) محاسبه گردید (۱، ۳و ۷). تجزیه خوشه‌ای با ترسیم دندروگرام بر اساس الگوریتم UPGMA و با نرم افزار NTSYSpc ver 2.02 مبتنی بر ضرایب تشابه نی و لی (۱۹۷۹) انجام شد.

[2] Polymorphism Information Content

جدول۱- نام و مبدا ارقام مورد استفاده در آزمایش

رقم	مبدا	رقم	مبدا
تجن	تلاقی گندم ایرانی و خارجی	نوید	مبدا ترکیه
گلستان	مبدا خارج	زرین	مبدا خارج
بولانی	مبدا ایران	شعله	محلی عراقی
الوند	تلاقی گندم ایرانی و خارجی	اینیاء	مبدا مکزیک
سرداری	محلی غرب ایرانی	روشن	محلی اصفهان
قفقاز	مبدا ایران	فلات	مبدا خارج
آذر۲	محلی آذربایجان	قدس	تلاقی گندم ایرانی و مکزیکی
طبسی	محلی طبس	مهدوی	مبدا خارج
امید	محلی ساوه	نیک نژاد	مبدا خارج

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

جدول۲- نام، جایگاه، تعداد الل و محتوای چندشکلی، ۳۷ آغازگر ریزماهواره و ۶ مکان پروتئین‌های ذخیره‌ای مورد مطالعه

محتوای چندشکلی	تعداد الل	جایگاه لوکوس	نام لوکوس	محتوای چندشکلی	تعداد الل	جایگاه لوکوس	نام لوکوس
0/71	6	BL1	Xgwm153	0.57	4	D6	Xgwm55
0/62	3	BL7	Xgwm274	0/5	3	AS7	Xgwm130
0/53	5	BL3	Xgwm340	0/75	5	DL7	Xgwm437
0/79	10	AS6	Xgwm334	0/81	8	BS6	Xgwm132
0/77	8	DS7	Xgwm111	0/61	6	BS3	Xgwm389
0/56	4	DL1	Xgwm642	0/53	3	BS6	Xgwm613
0/6	4	BS2	Xgwm148	0/76	5	DL6	Xgwm271
0/79	7	BL4	Xgwm149	0/32	2	BL5	Xgwm371
0/85	8	AS2	Xgwm372	0/76	7	BS5	Xgwm493
0/65	4	DL2	Xgwm539	0/48	3	AC2	Xgwm359
0/59	5	BS5	Xgwm540	0/67	5	BS5	Xgwm443
0/69	4	AL5	Xgwm156	0/6	4	BS6	Xgwm508
0/63	5	DS5	Xgwm190	0/82	7	BL4	Xgwm495
0/59	4	DL3	Xgwm383	0/69	5	DC7	Xgwm44
0/56	6	BS6	Xgwm133	0/78	5	DS7	Xgwm469
0/64	3	A1	Glu-A1	0/73	5	DS6	Xgwm325
0/65	5	B1	Glu-B1	0/76	6	AL1	Xgwm357
0/51	3	D1	Glu-D1	0/69	5	DC4	Xgwm608
0/7	5	A3	Glu-A3	0/76	5	AL4	Xgwm160
0/77	7	B3	Glu-B3	0/79	8	AS3	Xgwm369
0/73	4	D3	Glu-D3	0/5	5	BL2	Xgwm120
				0/82	10	BS1	Xgwm264

نتایج و بحث

چندشکلی

وجود چندشکلی آغازگرهای ریزماهواره‌ها و جایگاه‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای در تمامی ارقام ارزیابی شد (جدول۲). از ۳۷ جفت آغازگر ریزماهواره مورد استفاده در مجموع ۱۹۹ الل شناسایی شد که آغازگر Xgwm۳۷۱ -۵B با ۲ الل کمترین تعداد و آغازگرهای Xgwm۳۳۴-۶A و Xgwm۲۶۴ -۱B با ۱۰ الل بیشترین تعداد را در میان الل‌های تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. میانگین تعداد الل در کل مکان‌ها برابر۵/۳ بود و با نتایج بدست آمده در مطالعات قبلی برای ریزماهواره‌ها در گندم، توسط Hokanson و همکاران (۱۹۹۸) با میانگین اللی ۳/۸ تا ۶/۲، Plascheke و همکاران (۱۹۹۵) و Stachel و همکاران (۲۰۰۰) با مقدار ۵/۲ تا ۶/۲، Maccaferri و همکاران (۲۰۰۳) با ۲ تا ۱۲ الل و میانگین ۵/۶ و Eujail و همکاران (۲۰۰۲) با میانگین ۵/۵ مشابهت داشت. اما برای ۶ جایگاه پروتئین‌های ذخیره‌ای مورد بررسی در مجموع ۲۷ الل شناسایی شد که جایگاه‌های Glu-A1 و Glu-D1 با ۳ الل کمترین تعداد و جایگاه Glu-B3 با ۷ الل بیشتری تعداد الل داشتند. در مجموع میانگین ۴/۵ الل برای تمام جایگاه‌ها بدست آمد (جدول۲). این نتایج با گزارش‌های پیشین Dotlacil و همکاران (۲۰۰۲) با مقدار ۳ الل برای دو جایگاه Glu-A1, D1، Pyne و همکاران (۱۹۸۱) و Gupta و همکاران (۱۹۹۱) مشابهت داشت. فراوانی‌های اللی در جایگاه ژنی Glu-A1 با مطالعات پیشین گندم‌های ایرانی مطابقت داشت در حالی‌که فراوانی نسبی الل نول (C) (۴۴ درصد) با ارزش نانوایی پایین، در ارقام ایرانی نسبت به ارقام استرالیایی افزایش یافته بود و فراوانی‌های نسبی الل‌های موجود در جایگاه ژنی Glu-B1 با نتایج Gupta و همکاران (۱۹۹۱) یکسان بود. همچنین با ارزش‌ترین الل جایگاه Glu-D1 (الل۱۰+۵)، در ارقام ایرانی نسبت به ارقام استرالیایی دارای فراوانی نسبی کمتری بود. از مقایسه این دو نشانگر می‌توان نتیجه گرفت که چندشکلی (تعداد الل) موجود برای ریزماهواره‌ها بیشتر از پروتئین‌های ذخیره‌ای است (جدول۲).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

محتوای چندشکلی

محتوای چندشکلی برای هر مکان ریزماهواره در تمام ارقام بررسی شد (جدول۲). بیشترین مقدار محتوای چندشکلی (۰/۸۵) مربوط به آغازگر Xgwm۳۷۲-۲A و کمترین مقدار (۰/۳۲) مربوط به آغازگر Xgwm۳۷۱-۵B و میانگین کل ۰/۶۶ محاسبه گردید. گزارش‌های قبلی از محتوای چندشکلی مکان‌های ریزماهواره‌ها در گندم، توسط Roder و همکاران (۱۹۹۵) با مقدار ۰/۲۳ تا ۰/۷۹ و میانگین ۰/۷۱، Plascheke و همکاران (۱۹۹۵) از ۰/۲۹ تا ۰/۷۹، Ma و همکاران (۱۹۹۶) از ۰/۲۱ تا ۰/۸۱، Prasad و همکاران (۲۰۰۰) با میانگین ۰/۷۱، Agrama و همکاران (۲۰۰۳) از ۰/۲۳ تا ۰/۸۱ و با میانگین ۰/۶۲ با این نتایج مطابقت داشت. در مجموع تاکنون مقادیر مختلفی برای محتوای چندشکلی گزارش شده است، مثلا Bryan و همکاران (۱۹۹۷) میانگین ۰/۵۱، Maccaferri و همکاران (۲۰۰۳) از ۰/۰۷ تا ۰/۸ و با میانگین ۰/۵۶، Prasad و همکاران (۲۰۰۰) میانگین ۰/۹ (فقط برای موتیف‌های دی‌نوکلئوتیدی)، Hai و همکاران (۲۰۰۳) از ۰/۴ تا ۱ و با میانگین ۰/۸۳ و Bohn و همکاران (۱۹۹۹) میانگین ۰/۳ گزارش داده‌اند.

محتوای چندشکلی برای جایگاه‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای محاسبه و کمترین مقدار محتوای چندشکلی(۰/۵۱) مربوط به جایگاه Glu-D1 و بیشترین مقدار آن (۰/۷۷) مربوط به جایگاه Glu-D3 و میانگین ۰/۶۶ بدست آمد.

محتوای چندشکلی به عوامل متعددی مثل تعداد الل در هر مکان، تعداد واحدهای $(Gt)_n$ در نواحی تکرار شونده، تکرارهای دی‌نوکلئوتیدی و طول نواحی تکرار شونده بستگی دارد (۷، ۲۱ و ۲۹). البته تعداد ژنوتیپ و تعداد نشانگر نیز همبستگی مثبتی با محتوای چندشکلی دارند (۲۷). با توجه به اینکه ادعا شده است چندشکلی پروتئین‌های ذخیره‌ای بدلیل تفاوت در تعداد تکرارهای ریزماهواره‌های موجود در بخش تکراری[3] ناحیه رمز کننده آن می‌باشد می‌توان نتیجه گرفت که تا حدودی محتوای چندشکلی و تعداد الل در هر دو نشانگر نزدیک به هم باشد که در این تحقیق نیز میانگین محتوای چندشکلی آنها برای هر دو نشانگر، ۰/۶۶ بود. وجود میانگین فراوانی اللی بالاتر در ریزماهواره‌ها نسبت به پروتئین‌های ذخیره‌ای را می‌توان از یک سو به تعداد بیشتر مکان‌های مورد مطالعه برای این نشانگر و توزیع مناسب پوشش ژنومی برای آن‌ها در این تحقیق و از سوی دیگر به توانایی این نشانگر در نمایش تنوع درون لوکوسی نسبت داد. در حالی‌که تنوع موجود در بین پروتئین‌های ذخیره‌ای در واقع انعکاسی از تفاوت در طول قطعات ناحیه تکراری یا ریزماهواره درون بخش رمز کننده ژن‌های آن‌ها است.

ضرایب تشابه ارقام

ضرایب تشابه ژنتیکی میان ۱۸ رقم مورد استفاده برای هر دو نشانگر بر اساس روش نی و لی (۱۹۷۹) محاسبه گردید. بیشترین مقدار تشابه بر اساس اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره با مقدار ۰/۷۵۵ مربوط به دو رقم قدس و الوند و کمترین مقدار تشابه با مقدار ۰/۱۱۸ مربوط به ارقام بولانی و نیک نژاد بود. میانگین شباهت ژنتیکی ارقام ۰/۳۳۹ محاسبه شد. برای نشانگر پروتئین‌های ذخیره، بیشترین تشابه با مقدار ۰/۸۳۳ مربوط به ارقام طبسی و بولانی و کمترین تشابه با مقدار صفر مربوط به ارقام قدس و روشن محاسبه و در کل میانگین ۰/۲۸۸ بدست آمد. میانگین ضریب تشابه پایین برای هر دو نشانگر می‌تواند بیانگر پتانسیل مناسب آن‌ها در تفکیک و شناسایی ارقام و میزان بالای تنوع ژنتیکی در ارقام گندم نان ایران باشد.

تجزیه خوشه‌ای و خوشه‌بندی ارقام

تجزیه خوشه‌ای ارقام مختلف گندم بر اساس شباهت ژنتیکی نی و لی (۱۹۷۹) و روش UPGMA برای ریزماهواره‌ها، پروتئین‌های ذخیره و اختلاط داده‌های بدست آمده از هر دو نشانگر با هم محاسبه گردید (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های ریزماهواره‌ها (r_{coph}=۰/۷۷) ارقام را در ۵ خوشه متفاوت که خوشه ۱، ۲ و ۳ تمامی ارقام بجز رقم امید (مبدا ایران) دارای مبدا خارج بودند. خوشه ۴ و ۵ بجز ارقام قدس و الوند که از تلاقی گندم‌های ایرانی و خارجی بدست آمده‌اند دارای مبدا ایران بودند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های

[3] Repetetive Domain

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

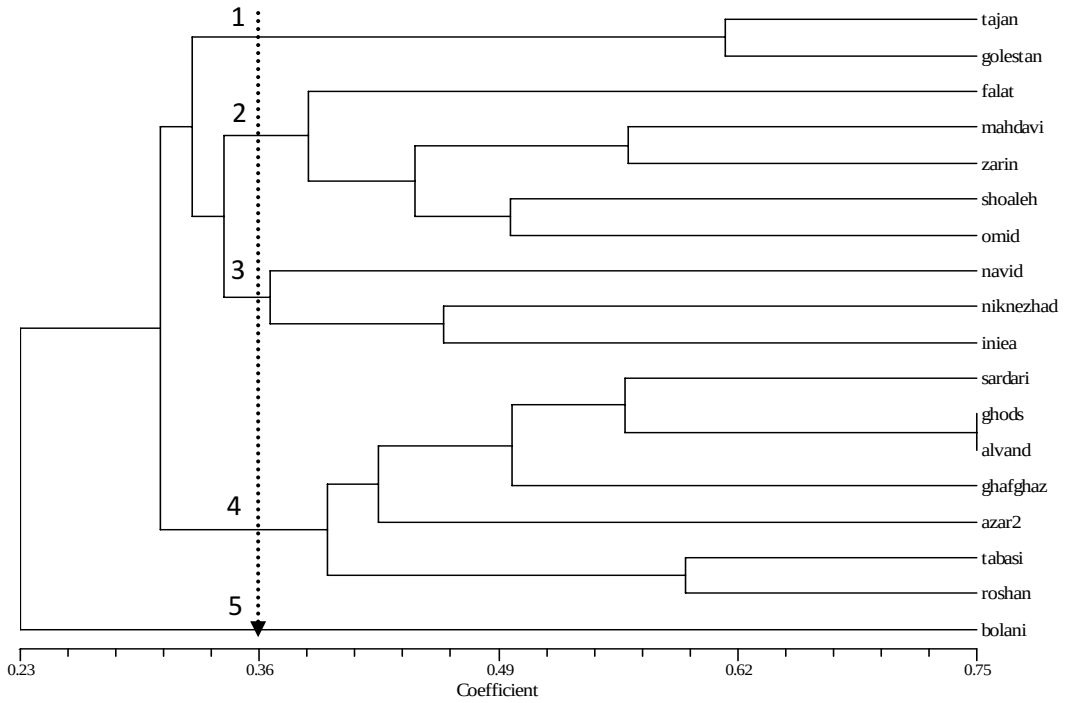
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

پروتئین‌های ذخیره گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین (r_{coph}=۰/۷۲) ارقام را نیز در ۵ خوشه متفاوت که ارقام خوشه ۱و۲ دارای مبدا خارج، خوشه ۳ بجز رقم شعله (مبدا خارج(محلی عراق)) دارای مبدا ایران می‌باشند. خوشه ۴ و ۵ هر کدام دارای یک رقم با مبدا ایران یک رقم با مبدا خارج می‌باشند. از مقایسه خوشه‌بندی انجام شده با استفاده از داده‌های تک‌تک دو نشانگر پروتئین‌های ذخیره و ریزماهواره می‌توان فهمید که ریزماهواره‌ها بهتر توانسته‌اند ارقام را از لحاظ مبدا جغرافیایی از همدیگر جدا کنند هر چند پروتئین‌های ذخیره با حجم کم تعداد مکان‌های مورد بررسی نیز نتایج قابل قبولی ارائه داده‌اند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های توام ریزماهواره‌ها و پروتئین‌های ذخیره‌ای (r_{coph}=۰/۷۳) توانست ارقام را در ۶ خوشه متفاوت که از لحاظ مبدا جغرافیایی نیز از هم جدا شده بودند قرار دهد. با مقایسه خوشه‌بندی‌های انجام شده می‌توان مشاهده کرد که بهترین حالت خوشه‌بندی زمانی حاصل شده است که داده‌های دو نشانگر پروتئین‌های ذخیره‌ای و ریزماهواره با هم در این امر دخالت داشته‌اند. اما در کل از مقایسه خوشه‌بندی‌های انجام شده و با کمک آزمون مانتل بین نشانگرهای ریزماهواره و پروتئین‌های ذخیره‌ای اختلاف معنی‌داری (r =۰/۰۶۵) وجود دارد زیرا تعداد جایگاه‌ها و تعداد نوارهای چندشکل تولید شده توسط پروتئین‌های ذخیره‌ای (۶ جایگاه و ۲۷نوار) نسبت به ریزماهواره‌ها (۳۷ مکان و ۱۹۹نوار) بسیار کم و شاید بدلیل تاثیر شرایط اقلیمی بر خصوصیات و بیان ژن‌های عامل پروتئین‌های ذخیره‌ای باشد در حالیکه نشانگرهای ریزماهواره‌ها تاثیرپذیر از محیط نمی‌باشند (۱۹). با علم به اینکه پروتئین‌ها محصول نهایی ژن‌ها هستند و ۸۰ درصد ژنوم گندم دی‌اِن‌آ تکراری می‌باشد (۱۵) به احتمال قوی تعداد بسیار زیادی از ژن‌ها (مانند ژن‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای) در این محدوده قرار دارند هر چند مشخص شده که در نواحی رمز کننده پروتئین‌های ذخیره‌ای توالی‌های ریزماهواره‌ای وجود دارد بطوریکه توالی رمز کننده گلوتنین با وزن مولکولی پایین دارای توالی $(CAG)_5(CAA)_8$ می‌باشد (۹) در نتیجه عامل اصلی چندشکلی پروتئین‌های رمز شده توسط این خانواده‌های ژنی بدلیل تفاوت در تکرارهای ریزماهواره‌های موجود در آن‌ها است.

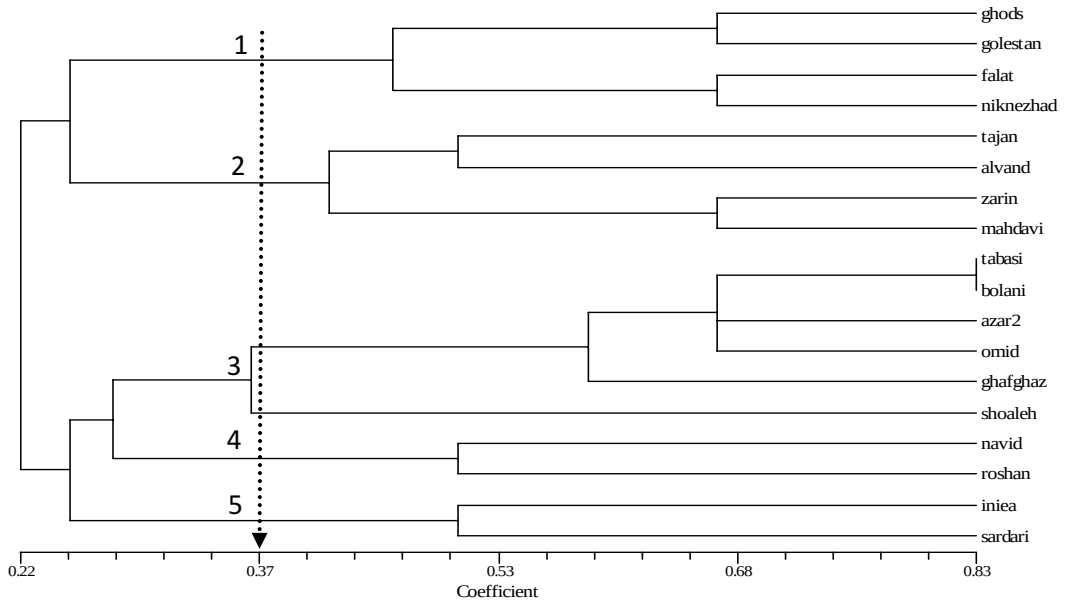
در نتایج حاصل از داده‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای ارقام طبسی و بولانی بیشترین شباهت داشته و همین امر نیز در کلاستر حاصل از اختلاط داده‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای و ریزماهواره‌ها مشاهده شده است در صورتی که در کلاستر حاصل از داده‌های ریزماهواره‌ها مشاهده نشد. بیانگر این است که داده‌های پروتئین‌های ذخیره‌ای هر چند حجم آنها کم بوده اما در برخی موارد اطلاعات نسبتا نزدیکی با داده‌های ریزماهواره‌ها از خود نشان داده‌اند هر چند کارکرد اختصاصی استفاده از پروتئین‌های ذخیره‌ای در شناسایی و خوشه‌بندی کیفیت نانوایی ارقام گندم نان بوده و ویژگی انحصاری این نشانگرها در پیشبرد برنامه‌های تلفیقی اصلاح این گیاه است (۱۳) اما بسته به اینکه کدام مکان‌های ریزماهواره‌ای بررسی شود و این مکان‌ها چه ارتباطی با پروتئین‌های تولیدی داشته باشند می‌توان در تحقیقات آینده توالی ژن‌های عامل پروتئین‌های ذخیره‌ای را بررسی و در صورت وجود ریزماهواره، از آغازگرهای مناسب ریزماهواره‌ای و پروتئین‌های ذخیره‌ای در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم بطور جامع استفاده کرد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]



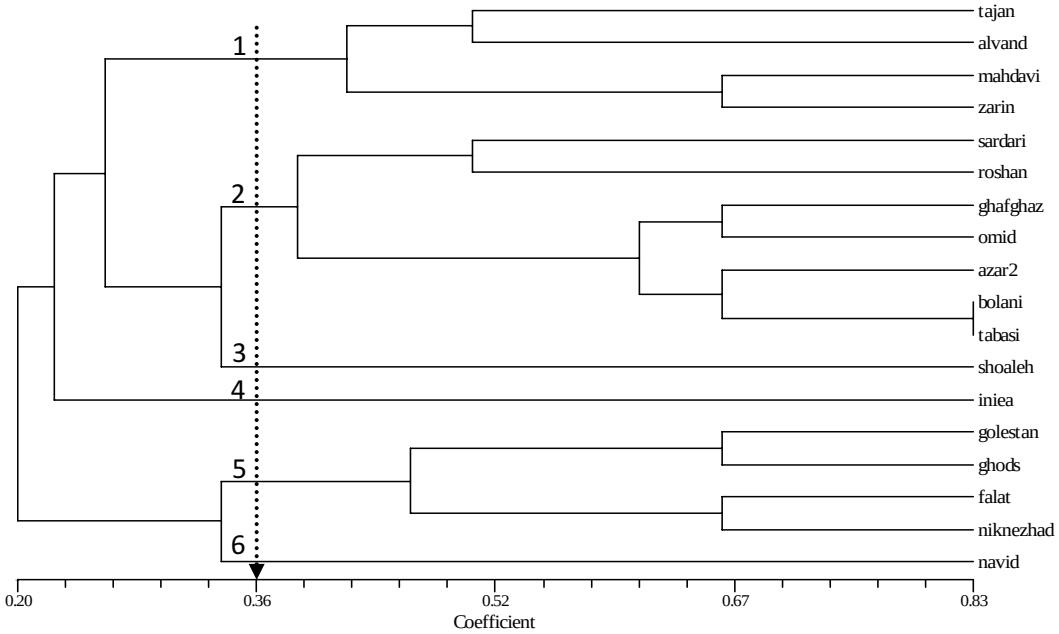
شکل ۱- خوشه‌بندی ۱۸ رقم گندم نان با استفاده از ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA محاسبه شده با اطلاعات حاصل از ۳۷ مکان ریزماهواره



شکل ۲- خوشه‌بندی ۱۸ رقم گندم نان با استفاده از ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA محاسبه شده با اطلاعات حاصل از ۶ مکان پروتئین ذخیره‌ای دانه (گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]



شکل ۳- خوشه‌بندی ۱۸ رقم گندم نان مورد مطالعه بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA حاصل از تلفیق اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره‌ها و گلوتنین با وزن مولکولی بالا و پایین

منابع

1. Agrama HA and Tuinstra MR (2003) Phylogenetic diversity and relationship among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. African Journal of Biotechnology Vol 2(10), pp. 334-340
2. Ablett G, Hilland H and Henry R (2006) Sequence polymorphism discovery in wheat microsatellite flanking regions using pyrophosphate sequencing. Molecular Breeding, 17: 281-289
3. Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD and Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome, 36: 181–186.
4. Baranger A, Aubert G, Arnau G, Laine AL, Deniot G, Potier J, Weinachter C, Lejeune-Henaut I, Lallemand J and Burstin J (2004) Genetic diversity within Pisum sativum using protein- and PCR-based markers. Theoretical and Applied Genetics. 108: 1309-1321
5. Bassam BJ and Catano-Anolles G (1993) Silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Applied Biochemistry and Biotechnology. 42: 181-187.
6. Bohn M, Utz HF and Melchinger AE (1999) Genetic Similarities among Winter Wheat Cultivars Determined on the Basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and Their Use for Predicting Progeny Variance. Crop Sci. 39:228–237
7. Bryan GJ, Collins AJ, Stephanson P, Orry A, smith JB and Gale MD (1997) Isolation and characterisation of microsatellite from hexaploid bread wheat. Theor. Appl. Genet. 94: 557-563
8. Dellaporta SL, Wood J and Hicks JB (1993) A plant DNA minipreparation: version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1, 19.
9. Devos KM, Bryan GJ, Collins AJ, Stephenson P and Gale MD (1995) Application of two microsatellite sequence in wheat storage proteins as moleculare markers. Theor. Appl. Genet. 90: 247-252
10. Dotlacil L, Gregova E, Heremuth J, Stehno Z and Kraic J (2002) Diversity of HMW-Glu Alleles and Evaluation of their Effects on some Characters in Winter Wheat Landraces and Old Cultivars. Czech J. Genet. Plant Breed. 38: 109–116
11. Eujayl I, Sorrells ME, Baum M, Wolters P and Powel W (2002) Isolation of EST-derived microsatellite markers for genotyping the A and B genomes of wheat. Theor. Appl. Genet. 104:399–407
12. Gupta RB and Shepherd KW (1990) two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LWM subunits of glutenin. Theor. Appl. Genet. 80: 65-74
13. Gupta RB, Bekes F, Wringley CV and Moss HJ (1991) Prediction of wheat dough quality in breeding on the basis of LMW and HMW glutenin subunit composition. Proc 40th Cereal chem. conf., Roy Aust chem. Inst Melborn 217-225Gupta PK, Balyan HS, Edwards J, Isaac P, Korzun V, Roder MS, Gautier MF, Schlatter A R, Dubcovsky J, Delapena RC, Khairallah M, Penner G, Hayden MJ, Sharp P, Keller B, Wang RCC, Hardouin P, Jack P and Leroy P (2002) Genetic mapping of 66 new microsatellite (SSR) loci in bread wheat. Theor. Appl. Genet. 105: 413-422.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]

15. Gupta PK, Mir RR and Kumar J (2008) Wheat Genomics: Present status and Future prospects(Review Article). International journal of Genomics. Article ID 896451, 36page.
16. Hai FZ, Zhong WX and Song G (2003) microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of wild rice(oryza rufipogen griff) in china. Theor. Appl. Genet 107: 332 – 339
17. Halton TA (2001) Plant genotyping by analysis of microsatellite In R. J. Henry(Ed). Plant genotyping, The DNA fingerprinting of plant. Pp: 15-29, CABI publication, New York, USA
18. Hokanson SC, Szewc-McFadden AK, Lamboy WF and McFerson JR (1998) Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a Malus3 domesticator. Core subset collection. Theor. Appl. Genet. 97: 671–683
19. Kumar LS (1999) DNA Markers in plant improvement. Biotechnology Advances. 17: 143-183.
20. Ma ZQ, Roder MS and Sorrells ME (1996) Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra-nucleotide microsatellites in wheat. Genome 39:123-130
21. Maccaferri M, Sanguineti MC, Donini P and Tuberosa R (2003) microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. Theor. Appl. Genet. 107:783-797.
22. Marchylo BA and Kosmolak FG (1979) an Evaluation of the Rapid Amylograph Method Year. Cereal Chemistry 56:361
23. Nei N and Li W (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:5269–5273.
24. Osborne T B (1907) The protein of wheat kernal cargenieins washington. Pub. No: 84
25. Pestsov E, korzun V, Goncharov NP, Hammer K, Ganal MW and Roder MS (2000) Microsatellite analysis of Tauschii germplasm. Theor. Appl. Genet. 101: 100-106
26. Plaschke J, Ganal MW and Roder MS (1995) Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. Theor. Appl. Genet. 91:1001-1007.
27. Prasad M, Varsheny RK, Roy JK, Balyan HS and Gupta PK (2000) The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic divesity in wheat. Theor. Appl. Genet. 100: 584-592
28. Pyne PI, Corfield KG, Holt LM and Blackman JA (1981) Correlation between inheritance of ceratin high molecular weight subunit of glutenin and breed making quality in progenies of sex cross of breed wheat. H. Sci. Food. Agi. 32: 51-60
29. Roder MS, Plaschke J, Konig SU, Borner A, Sorrells ME, Tanksley SD and Ganal MW (1995) Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. Mol. Gen. Genet. 246:327-333
30. Roder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier MH, Leroy F and Ganal MW (1998) A Microsatellite Map of Wheat. Genetics, Vol. 149: 2007-2023
31. Salem KFM, El-Zanaty AM and Esmail RM (2008) Assessing Wheat (Triticum aestivum L.) Genetic Diversity Using Morphological Characters and Microsatallite Markers. World Journal of Agricultural Sciences 4(5): 538-544
32. Singh NK, Shepherd KW and Cornish GB (1991) Rapid communication: A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW submits of glutenin. J. Cereal Sci. 14: 203-208
33. Stachel M, Lelley T, Grausgruber H and Vollmann H (2000) Application of microsatellites in wheat (Triticum aestivum L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. Theor. Appl. Genet. 100: 242–248

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.2.10.3]