

## بررسی تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های کینوا با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهوره

### Study on genetic diversity of quinoa morphotypes using microsatellite molecular markers

نیازعلی سپهوند<sup>۱\*</sup>، محسن سرهنگی<sup>۲</sup>، رحیم مهرابی<sup>۱</sup>، خداداد مصطفوی<sup>۲</sup>

۱- استادیاران مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران.

۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه آزاد اسلامی کرج

Sepahvand NA<sup>۱\*</sup>, Sarhangi M<sup>۲</sup>, Mehrabi R<sup>۱</sup>, Mostafavi Kh<sup>۲</sup>

1. Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran.

2. MSc Student, Assistant Professor, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

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

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۱۸)

#### چکیده

کینوا (دانه مادر) با ارزش غذایی و دارویی بالا گیاهی است بومی کوه‌پایه‌های آند در آمریکای جنوبی، که در سال‌های اخیر تحقیقات آن در ایران شروع شده و سازگاری مناسبی برای تولید نشان داده است. تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی برای اصلاح و معرفی رقم متناسب با شرایط تولید ضروری است. در تحقیق حاضر تنوع ژنتیکی ۴۵ مورفوتیپ کینوا موجود در ایران توسط ۱۱ نشانگر ریزماهوره بررسی شد. بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگرهای QAAT022، QAAT074، QGAA001، QAAT084 و QAAT097 هر کدام با سه آلل بود. میانگین PIC برابر ۰/۶۲ و نشانگر ریزماهوره QAAT074 با ۰/۸۸ و نشانگر QCA26 با ۰/۱۸ به ترتیب بیشترین و کمترین میزان PIC را دارا بودند. تجزیه خوشه‌ای مورفوتیپ‌ها را براساس نتایج نشانگرهای فوق به ۳ گروه تقسیم کرد. گروه A مخلوطی از مورفوتیپ‌های دو توده Sajama و Santamaria را در بر داشت در حالی که در گروه C فقط یک نمونه از مورفوتیپ‌های توده Santamaria دیده شد و مابقی نمونه‌های قرار گرفته در این گروه مشتق شده از توده Sajama بودند. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی با نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای همخوانی داشت و تا حد زیادی توانست مورفوتیپ‌های مختلف کینوا را از هم تفکیک کند. نتایج این تحقیق تنوع زیادی را در بین این مورفوتیپ‌ها نشان داد و با توجه به اینکه این مورفوتیپ‌ها دارای خاستگاهی خارج از ایران هستند، می‌توان نتیجه گرفت که مورفوتیپ‌های قرار گرفته در هر گروه دارای منشاء ژنتیکی مشابه بوده و تنوع موجود ممکن است به دلیل عواملی مانند درصد دگرگشتی موجود و یا اختلاط فیزیکی بذور در منشاء در طی سالیان به وجود آمده باشد که با توجه به جدید بودن این گیاه و محدود بودن ژرم‌پلاسم در ایران می‌تواند در برنامه اصلاح کینوا مورد استفاده قرار گیرد.

#### واژه‌های کلیدی

تجزیه خوشه‌ای

تنوع ژنتیکی

کینوا

گیاه جدید

نشانگرهای ریزماهوره

## مقدمه

کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa* Willd. از زیرخانواده *Chenopodiaceae* و خانواده *Amaranthaceae* گیاهی است خودگشن ولی میزان دگرگشتی آن بسته به شرایط به ۱۰ تا ۱۵ درصد می‌رسد. کینوا از نظر ژنتیکی گیاهی آلتوتراپلوئید ( $2n=4x=36$ ) است که برای اکثر صفات کیفی رفتار دیپلوئیدی را بروز می‌دهد (Risi and Galwey 1984; Ward 2000; Maughan et al. 2004). این گیاه ارزشمند و با خاصیت دارویی و غذایی مطلوب بومی کشورهای کوه‌پایه‌ای آند مانند بولیوی، پرو، اکوادور و شیلی در آمریکای جنوبی می‌باشد. کینوا به دلیل ارزش غذایی بالا و بالانس اسیدآمینه‌ای بسیار مطلوبی که دارد توسط سازمان خواروبار جهانی<sup>۱</sup> با شیر خشک مقایسه شده است. برای معرفی نقش و ارزش این گیاه در امنیت غذایی، توسعه مصرف و تولید آن مجمع عمومی سازمان ملل متحد سال ۲۰۱۳ را بنام سال بین-المللی کینوا نام‌گذاری کرد (FAO 2012). در تحقیقی دانه کینوا را از نظر کمیت و کیفیت مواد غذایی بررسی و با گیاهانی مانند گندم، جو، ذرت، برنج، چاودار، لوبیا، سویا و همچنین مواد غذایی مانند شیر مقایسه کردند (Jancurovan et al. 2009). نتایج حاکی از این بود که کینوا یک منبع کامل از مواد مورد نیاز برای جیره غذایی انسان است. کینوا از نظر میزان پروتئین، تعادل اسیدآمینه-های ضروری مانند لیزین، تریپتوفان در سطح مطلوبی می‌باشد و همچنین از نظر ویتامین‌هایی مانند تیامین، ویتامین C و املاح معدنی نیز از کمیت و کیفیت بالایی برخوردار است (Jancurovan et al. 2009). کینوا در ایران گیاهی جدید به شمار می‌رود که طی تحقیقات مؤلفین در چند سال اخیر امکان کشت این محصول و سازگاری آن با اقلیم‌های مختلف جغرافیایی ایران مورد پژوهش قرار گرفت که تولید محصول مناسب در کرج، خوزستان، بلوچستان، جیرفت و کهنوج گزارش شد (Sepahvand et al. 2010, 2011b). با توجه به جدید بودن این گیاه در ایران و امکان توسعه کشت آن، مطالعه تنوع ژرمپلاسم موجود در کشور برای معرفی رقم مناسب، تولید محصول مطلوب، یکنواخت و بازار پسند ضروری به نظر می‌رسد. تنوع موجود در یک ژرمپلاسم

می‌تواند منجر به انتخاب ارقام بهتر و همچنین استفاده از این تنوع در جهت بهبود خصوصیات رقم زراعی شود (Arzani 2003). مطالعه تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای شناسایی ژنوتیپ‌های مشابه، به منظور حفظ، ارزیابی و استفاده از ذخایر ژنتیکی، همچنین مطالعه تنوع ژرمپلاسم قبل از شروع برنامه‌های اصلاحی بسیار اهمیت دارد (Ramshini 2003).

ریزماهورها در میان انواع نشانگرهای مولکولی یکی از بزرگترین دستاوردهای دانشمندان برای شناسایی میزان تنوع ژنتیکی موجود در داخل یک گونه هستند. نحوه توارث هم‌باز، گستردگی در سطح ژنوم، سطح بالای چندشکلی، تکرارپذیری و سادگی کار باعث می‌شود که آنها برای بسیاری از کاربردها مؤثر و مفید باشند (Falahati Anbaran 2003). تحقیقات نشان داده که به علت قابلیت تغییر در تعداد واحدهای تکراری، ریزماهورها در حد بالایی چند شکل هستند و به همین دلیل به عنوان نشانگر مهمی در نقشه‌یابی ژنتیکی و مطالعات جمعیتی برای بسیاری از موجودات مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Mango et al. 2001). اولین نقشه پیوستگی ژنتیکی کینوا براساس نشانگرهای AFLP، RAPD و SSR ارائه شد. آن نقشه ژنتیکی براساس ۲۳۰ نشانگر AFLP، ۱۹ نشانگر ریزماهوره و ۶ نشانگر RAPD تهیه و نقشه حاوی ۳۵ گروه لینکاژی و به میزان ۱۰۲۰ cM بود و میانگین تراکم برای نشانگرها ۴ cM برای هر نشانگر به دست آمد. در آن پژوهش ۱۹ نشانگر SSR با هتروزیگوسیتی بالا استفاده شد که در نقشه ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی کینوا مفید بوده‌اند (Maughan et al. 2004). با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره برای بررسی صفات ژرمپلاسم کینوا پروژه‌ای اجرا که هدف از آن ایجاد و معرفی نشانگرهای ریزماهوره با تکرارپذیری و اطلاعات بالا برای گیاه بود. در مجموع ۱۲۷۶ مکان ژنی موجود در کتابخانه ژنومی با تکرارهای CA, ATT, ATG توالی‌یابی شدند و برای ۳۹۷ مکان ژنی نشانگر ریزماهوره طراحی شد. ۵۲ درصد از ریزماهورها چندشکلی بالایی نشان دادند. در مکان‌های ژنی بین ۱۳-۲ آلل مشاهده شد یعنی به طور متوسط در هر مکان ژنی ۴ آلل وجود داشت. میزان هتروزیگوسیتی نشانگرها بطور متوسط ۵۷ درصد بود. در آن تحقیق ۶۷ نشانگر هتروزیگوسیتی بالایی را نشان دادند ( $H = 0.7$ ) که این نشانگرها برای تهیه نقشه لینکاژی و

<sup>1</sup> Food and agriculture organization

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی

مواد گیاهی مطالعه شده در این آزمایش شامل ۴۵ مورفوتیپ کینوا حاصل از دو توده اولیه Sajama و Santamaria می‌باشند (جدول ۱). بذر دو توده مذکور در طی ماموریتی با هیئتی از وزارت جهاد کشاورزی به کشور بولیوی، از مرکز تحقیقات سیب زمینی و کینوا بولیوی در سال ۱۳۸۷ به کشور وارد شد (Sepahvand et al. 2010). بذر مورفوتیپ‌های مورد نظر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۳۵ سانتی‌متر با ترکیبی یکسان از خاک، پرلیت و پیتماس کشت شدند. شرایط گلخانه شامل میانگین دمایی ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ ساعت روشنایی و آبیاری هفتگی برای بوته‌های در حال رشد فراهم شد.

#### آغازگرهای ریزماهوره

در این آزمایش ۱۱ نشانگر ریزماهوره شناسایی شده توسط Jarvis et al. (2008) و همچنین Mason et al. (2005) مورد استفاده قرار گرفت. در انتخاب نشانگرها سعی بر آن بود که نشانگرهایی با سطح چند شکلی بالاتر انتخاب شوند که بتوانند کارایی مؤثری در تمایز مورفوتیپ‌ها داشته باشند (جدول ۲).

#### استخراج و تکثیر DNA

استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌های بوته‌های با رشد یک ماهه با استفاده از روش Saghai-Marouf et al. (1984) انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، دو میکرولیتر بافر 10X، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs با غلظت یک میلی‌مولار، کلرید منیزیم به غلظت نهایی ۲/۵ میلی‌مولار، یک واحد آنزیم Taq، آغازگرهای رفت و برگشت هر نشانگر با غلظت ۰/۲۵ میکرومولار انجام شد. چرخه‌های دمایی واکنش PCR به صورت Touch down برای تمام نشانگرها صورت گرفت. به این روش که دمای اتصال نشانگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه ۱۰ دور اول با کاهش یک درجه دما، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعد، دمای اتصال ثابت (بسته به دمای اتصال نشانگر) و با زمان ۳۰ ثانیه انجام شد. در هر چرخه نیز زمان و دمای واسرشته‌سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۴ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شدند.

همچنین استفاده در پروژه‌های اصلاحی کینوا ایده‌آل می‌باشند (Mason et al. 2005). در جهت توسعه نشانگرهای SSR و تهیه نقشه لینکاژی کینوا در پژوهشی تعداد ۲۱۶ نشانگر SSR جدید ارائه شد. ارزش هتروزیگوسیتی این نشانگرها به طور متوسط ۰/۵۷ محاسبه شد. در تحقیق مذکور برای اولین بار در یک جمعیت اینبرد لاین نوترکیب کینوا نقشه ژنتیکی براساس ۲۱۶ نشانگر SSR تهیه شد. این نقشه شامل ۳۸ گروه لینکاژی و به طول ۹۱۳ cM رسید (Jarvis et al. 2008). در پژوهش دیگری سطح پلی‌مورفیسم و ارتباط ژنتیکی بین ۲۰ ژنوتیپ کینوا را با استفاده از بیست صفت مورفولوژیک و نشانگرهای AFLP مورد ارزیابی قرار دادند. در آن تحقیق تفاوت و تشابه مولکولی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگر مولکولی محاسبه شد که نتایج با صفات مورفولوژیک مهمی چون رنگ دانه، رنگ پانیکل، فنولوژی و توزیع جغرافیایی ژنوتیپ‌ها همبستگی بالایی داشت. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در سه گروه دسته‌بندی کرد که هر گروه از ژنوتیپ‌ها متعلق به منطقه جغرافیایی خاصی بودند Rodriguez (and Isla 2009). تنوع ژنتیکی ۳۴ نمونه کینوای جمع‌آوری شده از مناطق جنوبی، مرکزی و شمالی شیلی بررسی شد. آنها در این پژوهش با ۱۱۸ نشانگر ریزماهوره ژنوتیپ‌ها را مورد ارزیابی قرار دادند. میانگین آلل برای هر جایگاه ژنی ۵/۹ مشخص شد. نشانگرهای ریزماهوره استفاده شده میزان هتروزیگوسیتی ۶۰ درصد را نشان دادند که نشان دهنده چندشکلی بالای این نشانگرها بود (Fuentes et al. 2011). تنوع بالای ژنتیکی در پیشبرد اهداف و برنامه‌های به‌نژادی امری الزامی است (Shafaeddin and Yazdi Samadi 1994). با توجه به اینکه کینوا در ایران گیاهی جدید به شمار می‌رود، ارزیابی تنوع نمونه‌های موجود براساس ژنوتیپ در کشور در جهت استفاده از این گیاه در زراعت برای اقلیم‌های مختلف ضروری به نظر می‌رسد. در این تحقیق تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های کینوای دو توده زراعی موجود در ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهوره مورد ارزیابی قرار گرفتند که با توجه به تنوع صفات زراعی و مورفولوژیک در برنامه‌های اصلاحی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرند.

جدول ۱- نام و شماره مورفوتیپ‌های کینوا مشتق شده از دو توده اولیه Sajama شامل مورفوتیپ‌ها از 881013 تا 881103 و Santamaria شامل مورفوتیپ‌ها از 882012 تا 882102 و مورفوتیپ شماره 883001 Sajama- Iranshahr است

شماره	نام مورفوتیپ	شماره	نام مورفوتیپ	شماره	نام مورفوتیپ
1	881013	16	881071	31	882052
2	881014	17	881072	32	882054
3	881021	18	881082	33	882062
4	881022	19	881083	34	882071
5	881031	20	882013	35	882074
6	881032	21	882012	36	882081
7	881041	22	882014	37	882082
8	881043	23	882015	38	881092
9	881056	24	882021	39	881093
10	881057	25	882023	40	881102
11	881053	26	882022	41	881103
12	881058	27	882031	42	882093
13	881059	28	882032	43	882094
14	881061	29	882043	44	882102
15	881062	30	882042	45	883001

جدول ۲- نام، توالی، تعداد کل باند و ضریب PIC برای نشانگرهای ریزماهواره استفاده شده برای تمایز مورفوتیپ‌های کینوا

شماره	نام نشانگر	توالی رفت (5' - 3')	توالی برگشت (5' - 3')	تعداد کل باند	ضریب (PIC)
1	QGAA001	ttgtatctcggttcccact	aaccagagagatgaagaacatgc	3	0.75
2	QAAT022	tggtcgatatagatgaaccaa	ggagcccagattgtatctca	3	0.53
3	QAAT050	ggcacgtgctgctactcata	atggcgaatggttaatttgc	2	0.84
4	QAAT051	ccttcgacaaggtcccatta	cgtcctatagtgaggcattt	2	0.72
5	QAAT074	atggaacacccatccgataa	atgcctatcctcatcctcca	3	0.88
6	QAAT084	gtggatgtaaaggtggttt	acaactattttagctagattatt	3	0.61
7	QAAT097	aatcatttgacttttaggttt	gatgtgataaggaataatccaa	3	0.74
8	QCA26	ttccaatacagcaccacctc	tgcaagcatacataagacagtca	2	0.18
9	QCA51	tgtttcgggtagaaacaccaa	tgcaattcaatgccacata	2	0.43
10	QCA58	ctcgaccagcagggtctg	ctagctagggcttgctgac	2	0.53
11	QCA65	ccatgcaaggaacatattg	aagttcgttgcttgctgta	2	0.60
Mean				2.45	0.62

الگوهای نواری به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) امتیازدهی شدند. برای رسم دندروگرام ابتدا ماتریس تشابه با روش Dice تشکیل و سپس دندروگرام با استفاده از روش UPGMA با نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 رسم شد. از این نرم‌افزار برای ترسیم پراکنش نمونه‌ها در دو بعد اول تجزیه به مختصات اصلی<sup>۱</sup> (PCoA) نیز استفاده شد. میزان اطلاعات چندشکلی که

همچنین زمان و دمای تکثیر رشته نیز به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شدند. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریلامید واسرشته‌ساز ۶ درصد بارگزاری و تفکیک شدند. ژل پلی‌اکریلامید با استفاده از محلول اتیدیوم برمایند رنگ‌آمیزی شده و توسط اشعه UV در دستگاه ژل داک عکس برداری صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

<sup>۱</sup> Principal coordinate analysis

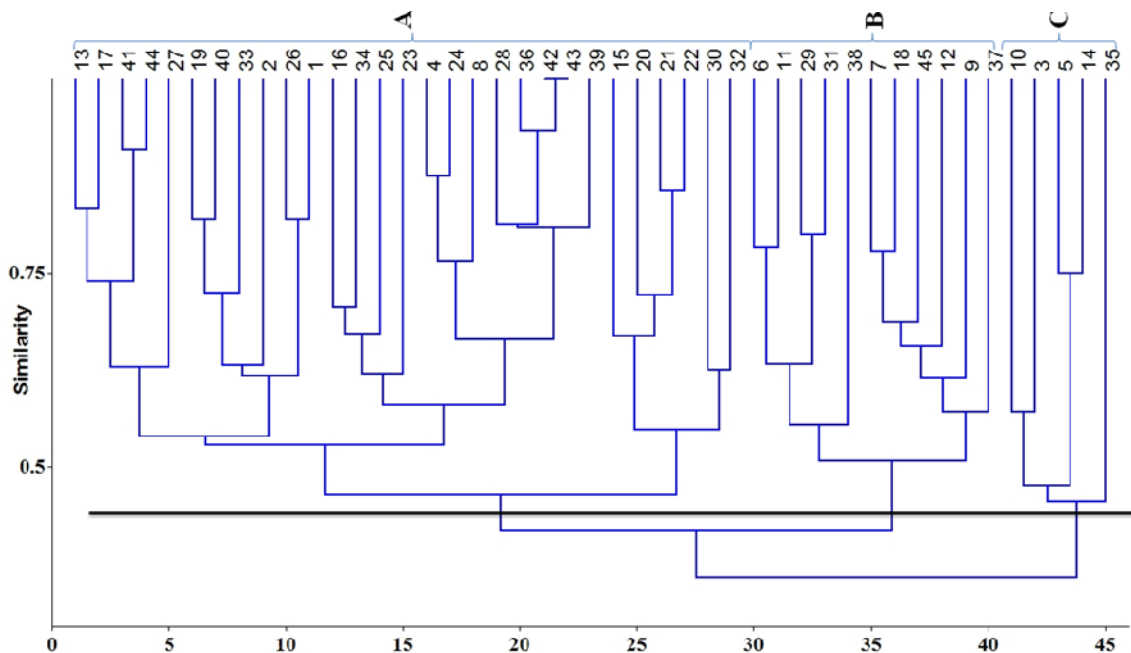
مورفوتیپ‌های مشتق شده از هر توده در گروه‌های جداگانه قرار گیرند. با توجه به اینکه مورفوتیپ‌ها دارای منشا خارجی هستند. شباهت ژنتیکی و به دنبال آن قرارگیری اکثر مورفوتیپ‌ها در یک گروه (گروه A) می‌تواند این نکته را نشان دهد که این مورفوتیپ‌ها دارای زمینه ژنتیکی مشابه هستند و احتمالاً از یک منطقه جغرافیایی منشا گرفته و یا با توجه به درصد بالای دگرگشتی در طی سال‌های متوالی کشت در مجاورت هم و انتقال گرده از آنها موجب ایجاد این تشابه ژنتیکی شده است. طی تحقیقاتی (Feng et al. (2006 و همچنین Matus and Hayes (2002) دریافتند که الگوی گروه‌بندی گونه‌ها با منشا و پراکنش جغرافیایی گونه‌ها ارتباط دارد. به نظر می‌رسد بررسی آنها بلافاصله و پس از جمع‌آوری نمونه‌ها از مناطق انجام شده است. تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نشان داد که مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب ۱۵/۱۵ و ۱۲/۷۱ درصد از تغییرات نمونه‌ها را در بر می‌گیرند (شکل ۳). به طور کلی در نمودار دو بعدی در مجموع ۲۷/۸۶ درصد تغییرات توجه می‌شود. در بررسی تنوع ژنتیکی با داده‌های مولکولی بهتر است که نشانگرها توزیع یکنواخت و مناسب در سطح ژنوم داشته باشند، تا اینکه بتوانند سطح بیشتری از ژنوم را پوشش دهند. بنابراین اگر نشانگر از بخش‌های مختلف ژنوم انتخاب شده باشد، همبستگی بین آنها کم خواهد بود و در نتیجه تعداد بیشتری مولفه برای توجه تغییرات کل آنها لازم است (Ebrahimi et al. 2011). در این پژوهش توجه به بخش نسبتاً کمتری از تغییرات توسط چند مؤلفه‌ی اولیه، حاکی از توزیع مناسب نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده بر روی ژنوم می‌باشد. نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) تا حدود زیادی تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد به طوری که ۸۷ درصد دو روش باهم در گروه‌بندی نمونه‌ها یکسان و تنها ۱۳ درصد نمونه‌ها با هم تفاوت داشتند که این نتایج بنحو مناسبی دقت دو روش تجزیه و تحلیل را نشان داد. گرچه هر دو روش کار گروه-بندی را انجام می‌دهند، اما باید توجه داشت که تجزیه خوشه‌ای براساس صددرصد اطلاعات نشانگرهای مورد استفاده و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) براساس ۲۷/۸۶ درصد (مجموع دو مؤلفه‌ی اول) گروه‌بندی را انجام می‌دهد. بنابراین انتظار نمی‌رود صددرصد همخوانی بین آنها وجود داشته باشد. در این پژوهش

نشان دهنده میزان چندشکلی یک نشانگر بوده و مقدار آن از صفر تا یک متغیر است، با استفاده از رابطه  $(PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2)$  محاسبه شد. در این فرمول  $P_i$  فراوانی آلل  $i$  ام و  $n$  تعداد آلل می‌باشد (Powell et al. 1996).

### نتایج و بحث

تعداد ۱۱ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده در مجموع ۲۷ آلل تکثیر کردند (جدول ۲). بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگرهای QAAT022، QAAT074، QGAA001، QAAT084 و QAAT097 هرکدام با ۳ آلل بود (شکل ۲). میانگین تعداد کل آلل‌ها برای نشانگرها ۲/۴ برای هر مکان ژنی بود. از آنجا که بالا بودن میانگین تعداد آلل هر نشانگر ریزماهواره، مناسب بودن آن را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد (Powell et al. 1996) بنابراین نشانگرهای با تعداد آلل بیشتر برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب هستند. ضریب PIC برای نشانگرهای ریزماهواره با میانگین ۰/۶۲ با بیشترین سطح در نشانگر QAAT074 با ۰/۸۸ (شکل ۲) و کمترین سطح برای نشانگر QCA26 با ۰/۱۸ بدست آمد (جدول ۲). نشانگرهایی با PIC بالا به علت دارا بودن تعداد آلل بیشتر و فراوانی پایین آلل‌ها قابلیت تفکیک بالایی دارند (Ebrahimi et al. 2011). نتایج PIC نشان می‌دهد که نشانگرهای QAAT050، QAAT001، QAAT074 و QAAT097 با بیشترین مقدار PIC قادر به شناسایی بهتر فاصله ژنتیکی مورفوتیپ‌ها بودند. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت که این نشانگرها برای مطالعات تنوع ژنتیکی در کینوا بسیار مناسب هستند و برای تحقیقات بعدی روی ارقام و ژنوتیپ‌های این گیاه جدید پیشنهاد می‌شوند. تجزیه خوشه‌ای مورفوتیپ‌های مورد بررسی را به سه گروه اصلی تقسیم کرد (شکل ۱). در تمامی گروه‌ها مورفوتیپ-هایی از هر دو توده اولیه مشاهده شد. گروه A و B مخلوطی از مورفوتیپ‌های دو توده Santamaria و Sajama را در برداشت در حالی که در گروه C فقط یک نمونه از مورفوتیپ‌های توده Santamaria دیده شد و مابقی نمونه‌های قرار گرفته در این گروه مشتق شده از توده Sajama بودند. درحالی که انتظار می‌رفت که

<sup>1</sup> Polymorphism index content



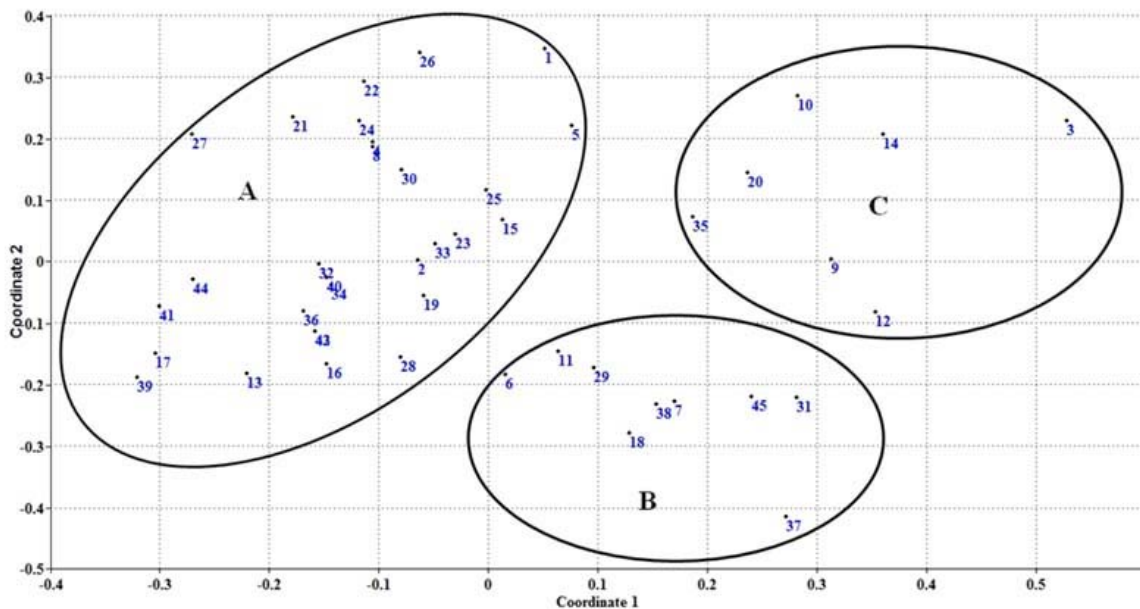
شکل ۱- گروه‌بندی مورفوتیپ‌های کینوا با روش UPGMA بر اساس ماتریس تشابه DICE با استفاده از داده‌های حاصل از بکارگیری نشانگرهای ریزماهواره انجام شد. مورفوتیپ‌ها از شماره ۱ تا ۱۹ و همچنین از ۳۸ تا ۴۱ مربوط به توده Sajama و شماره‌ها از ۲۰ تا ۳۷ و همچنین از ۴۲ تا ۴۴ مربوط به توده Santamaria و شماره ۴۵ Sajama- Iranshahr است.



شکل ۲- نمونه ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد با استفاده از نشانگر QAAT074 نمونه‌ها به ترتیب از ۱ تا ۱۴ مربوط به مورفوتیپ‌های 881014، 881013، 881021، 881022، 881031، 881032، 881041، 881043، 881056، 881057، شماره ۱۵ کنترل منفی و M نشانگر وزنی در ابتدا و انتهای ژل بودند.

نشانگرهای ریزماهواره مورد تایید قرار گرفت. البته در گروه‌بندی خوشه‌ای بعضی از مورفوتیپ‌ها تفاوت چندانی نداشتند که نمونه‌های ۴۲ و ۴۳ از این نوع ژنوتیپ‌ها هستند و آن دو با نمونه ۳۶ نیز تفاوت کمی داشتند. در گروه‌بندی به مختصات اصلی شباهت زیاد بین دو مورفوتیپ ۴، ۸ و همچنین مورفوتیپ‌های ۳۲، ۳۴ و ۴۰ در گروه A وجود داشت (شکل ۳). در چنین حالتی بررسی آنها و تعیین مورفوتیپ‌های مشابه در هر دو روش گروه‌بندی برای حذف نمونه‌های مشابه با توجه به صفات مورفولوژیک و

مورفوتیپ‌های کینوا موجود در ایران از نظر تنوع ژنتیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند که منشاء آنها از دو توده اولیه Sajama و Santamaria بود. تحقیقات Sepahvand et al. (2011 a, b) نشان داد که این دو توده وارد شده از نظر مورفولوژی و خصوصیات زراعی مانند فرم بوته، شکل سنبله، رنگ دانه، رنگ برگ، خطوط روی ساقه و محل انشعاب شاخه‌های فرعی دارای تنوع زیادی بودند. بر این اساس مورفوتیپ‌های مورد بررسی تفکیک و بنابر نتایج این پژوهش تنوع موجود بین این مورفوتیپ‌ها توسط



شکل ۳- نمودار دوبعدی تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) براساس دو مؤلفه اول با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره برای مورفوتیپ‌های کینوا. مورفوتیپ‌های از شماره ۱ تا ۱۹ و همچنین از ۳۸ تا ۴۱ مربوط به توده Sajama و شماره‌ها از ۲۰ تا ۳۷ و همچنین از ۴۲ تا ۴۴ مربوط به توده Santamaria و شماره ۴۵ Sajama- Iranshahr بودند.

#### منابع

- Anderson JA, Church JE, Autrique, SD, Thanksley S, Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage map. *Journal of Genome* 36: 181-188.
- Arzani A (2003) Breeding of Plant crops. Publication center of Isfahan University (In Farsi).
- Ebrahimi A, Naghavi MR, Sabokdast M, Mardi M (2011) Evaluation genetic diversity of two barley species *H. vulgare* and *H. spontaneum* using microsatellite markers. *Iranian Journal of Agronomy Sciences* 12: 333-345 (In Farsi).
- Falahati anbaran M (2003) Study on genetic diversity of alfalfa using microsatellite markers. Dissertation M Sc Plant breeding, Agricultural faculty, Guilan University (In Farsi).
- FAO (2012) Available at; <http://www.irc.fao.org/en/about-fao/iyq>.
- Feng ZY, LIU XJ, Zhang YZ, Ling HQ (2006) Genetic diversity analysis of Tibetan wild barley using SSR. *Acta Genetica Sinica* 33: 917-928.
- Fuentes F, Bazile D, Bhargava A, Martínez EA (2011) Relationship between genetic diversity of *Chenopodium quinoa* and the dynamic of its seed exchanges in Chile. ASA, CSSA, and SSSA. International Annual Meetings. San Antonio, TX.
- Jancurova M, Minarovičova L, Dandar A (2009) Quinoa – a review. *Czech Journal Food Sciences* 27: 71-79.

زراعی ضروری است. علاوه بر این انتظار می‌رفت که مورفوتیپ‌های مربوط به هر توده در گروه‌های مجزا قرار گیرند ولی با تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده مشخص شد که در هر گروه بعضی از مورفوتیپ‌های دو توده وجود دارد. این موضوع بیانگر وجود تنوع بالا در بین دو توده موجود است که ممکن است به دلیل عواملی مانند درصد دگرگشتی موجود، اثر متقابل ژنوتیپ و محیط و یا اختلاط فیزیکی بذور در منشا در طی سالیان به وجود آمده باشد. مورفوتیپ‌هایی که فاصله ژنتیکی بیشتری را نشان داده‌اند و همچنین نشانگرهایی که با پلی مورفوسم بالاتر توانستند سهم بیشتری در نشان دادن فاصله ژنتیکی در توده‌های مورد مطالعه داشتند، برای استفاده در تحقیقات آتی برای اصلاح این گیاه ارزشمند توصیه می‌شوند.

- Jarvis DE, Kopp OR, Jellen EN, Mallory MA, Pattee J, Bonifacio A, Coleman CE, Stevens MR, Fairbanks DJ, Maughan PJ (2008) Simple sequence repeat marker development and genetic mapping in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Genetics* 87: 39-51.
- Mango T, Carriero F, Cifarelli RA, Gallitelli M, Cellini F (2001) Development of microsatellite markers in Durum wheat (*Triticum turgidum* L. sp. durum). *Plant and Animal Genome IX Conference*.
- Mason S L, Stevens MR, Jellen EN, Bonifacio A, Fairbanks DJ, Coleman CE, McCarty R, Rasmussen AG, Maughan PJ (2005) Development and Use of Microsatellite Markers for Germplasm Characterization in Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) *Crop Sciences* 45:1618-1630.
- Matus IA, Hayes PM (2002) Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome* 45:1095-1106.
- Maughan PJ, Bonifacio A, Jellen EN, Stevens MR, Coleman CE, Ricks M (2004) A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) based on AFLP, RAPD, and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 1188-1195.
- Powell W, Morgante M, Ander C, Hanafey M, Vogel J, Tingy S, Rafalaski (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, SSR (microsatellite) marker for germplasm analysis. *Journal of Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Ramshini H (2003) study on molecular diversity of bread wheat cultivars using RAPD technique. *Dissertation M Sc Agricultural biotechnology, Agricultural faculty, Tehran University (In Farsi)*.
- Risi J, Galwey NW (1984) The *Chenopodium* grains of the Andes: Inca crops for modern agriculture. *Advanced Applied Biology* 10:145-216.
- Rodriguez LA, Isla MT (2009) Comparative analysis of genetic and morphologic diversity among quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) accessions of south Chille and high land accessions. *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 1: 210-216.
- Saghai-Marooif MA, Soliman K, Jorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 81:8014-8018.
- Sepahvand NA, Tavazoa M, Kahbazi M (2010) Quinoa a valuable plant for food security and sustainable agriculture in Iran. In proceedings of 11<sup>th</sup> Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding Sciences. *Shahid Beheshti University, Tehran, Iran (In Farsi)*.
- Sepahvand NA, Sarhangi M (2011a) Quinoa (Mother grain) a new plant with high genetic diversity a nutritious crop in Iran. In proceedings of 12<sup>th</sup> Iranian Genetics Congress, *Shahid Beheshti University, Tehran, Iran (In Farsi)*.
- Sepahvand NA, Tavazoa M, Kahbazi M (2011b) Adaptation and evaluation of quinoa, a valuable new crop in Iran. In proceedings of 2<sup>nd</sup> International symposium on underutilized plant species. *Kuala Lumpur, Malaysia*.
- Shafaeddin S, Yazdi Samadi B (1994) Genetic and Geographical Diversity of Wheat Landraces from Center Parts of Iran, *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 25:61-77 (In Farsi).
- Ward SM (2000) Allotetraploid segregation for single-gene morphological characters in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Euphytica* 116:11-16.