ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵
صفحه ۸۲-۷۳

شناسایی نشانگرهای ملکولی پیوسته با عملکرد و برخی صفات گیاهی در نخود زراعی تحت تنش خشکی

Identification of molecular markers associated with yield and plant characteristics in chickpea under drought stress

زهرا آقاعلی[۱]، هادی علی پوریامچی[۲]، محمد رضا بی‌همتا[۲]، بابک عبدالهی مندولکانی[*۱]

۱ – به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشگاه ارومیه
۲ – به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

Aghaali Z[1], Alipour Yamchi H[2], Bihamta MR[2], Abdollahi Mandoulakani B[*1]

1- Graduated MSc Student, Associate Professor, Urmia University, Urmia, Iran.
2- PhD Student, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.abdollahi@urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۳۰ – تاریخ پذیرش: ۹٤/۲/۱۵)

چکیده

تنش خشکی عامل اصلی کاهش تولید در گیاهان زراعی به‌خصوص نخود زراعی می‌باشد. به‌طوری‌که تنش خشکی انتهای فصل موجب کاهش بیش از ۵۰ درصدی عملکرد در این گیاه می‌شود. در این پژوهش به‌منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مرتبط با تحمل به خشکی در ٦٤ توده نخود زراعی از مکان‌یابی ارتباطی استفاده شد. ژنوتیپ‌ها در قالب طرح لاتیس ساده (۸ × ۸) کشت و ۱۷ صفت مختلف مرتبط با خشکی اندازه‌گیری شد. ثبت ژنوتیپ و ارزیابی ژنتیکی جمعیت با استفاده از ۱۸ آغازگر IRAP (Inter retrotransposon amplified polymorphism) و REMAP (Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism) انجام گرفت. در کل ۱۲۹ مکان تکثیر شد که از این تعداد، ۸۸ مکان (٦٤/٣٤ درصد) در بین توده‌ها چند شکل بودند. مطالعه ساختار جمعیت با استفاده از روش Bayesian، توده‌های مورد مطالعه را در ۱۱ گروه قرار داد. میانگین شاخص تثبیت (Fst) همه گروه‌ها بیشتر از ۰/۵ بود که بیانگر تمایز قابل ملاحظه‌ای بین گروه‌ها بود. به‌منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته با عملکرد دانه و صفات زراعی مرتبط با تنش خشکی، از مکان‌یابی ارتباطی به روش Mixed linear model (MLM) استفاده شد. با استفاده از این روش ۲۸ مکان پیوسته با ۱۷ صفت مورد مطالعه (در سطوح پنج و یک درصد معنی‌داری) در شرایط تنش خشکی شناسایی شد. صفت عرض شاخه‌های اصلی بیشترین تعداد مکان پیوسته را به خود اختصاص داد. تعدادی از مکان‌های شناسایی شده با بیشتر از یک صفت پیوسته بودند. با توجه به نتایج حاصله، می‌توان بعد از ارزیابی و تایید نشانگرهای پیوسته با صفات مورد بررسی، از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی نخود به منظور توسعه واریته‌هایی با تحمل به خشکی بیشتر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی

تنش خشکی

روش Mixed linear model

مکان‌یابی ارتباطی

نخود زراعی

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

مقدمه

نخود زراعی (*Cicer arietinum* L.) دیپلوئید (۲n=2x=۱۶) و یکساله بوده و با حداقل ۷۵۰۰ سال قدمت، در تمام نقاط دنیا کشت می‌گردد (Van der Maesen et al. 1987). این گیاه یکی از مهم‌ترین و ارزان‌ترین محصولات غذایی در تأمین پروتئین و انرژی در کشورهای در حال توسعه بوده (Saeed et al. 2011) که علاوه بر داشتن مقدار زیادی پروتئین و کربوهیدرات (۸۰/۵ درصد وزن خشک بذر)، در مقایسه با سایر حبوبات، کلسیم، منگنز، فسفر و قندهای محلول آن بیشتر می‌باشد (Majnoun Hosseini 2008). دانه جوانه زده نخود مقدار زیادی اسید مالیک و اگزالیک دارد که برای بهبود اختلالات گوارشی مناسب است (Majnoun Hosseinei 2008). عناصر ضد تغذیه‌ای آن مانند ترپیسین و بازدارنده‌های کیموترپیسین (که دارای اثر چسبانندگی جریان خون می‌باشد) در مقایسه با دیگر حبوبات کمتر است (Van der Maesen et al. 1987). به‌رغم این که عملکرد نخود به‌طور بالقوه بالا می‌باشد ولی تنش‌های زیستی و غیر زیستی متعدد موجب کاهش عملکرد آن می‌شوند. از بین تنش‌های غیر زیستی، خشکی مهم‌ترین عامل محدود کننده عمکرد نخود بوده و هر ساله کاهش ۴۰ تا ۵۰ درصدی عملکرد این گیاه به علت خشکی انتهای فصل رخ می‌دهد (Ahmad et al. 2005). بر اساس گزارش فائو ۹۰ درصد از کشور ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر در نواحی خشک و نیمه خشک قرار دارد (FAO 2011). در نتیجه افزایش دما در این مناطق، شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل که بتوانند در شرایط سخت هم عملکرد قابل قبولی داشته باشند ضروری به نظر می‌رسد. توارث کمی خشکی و اثر متقابل آن با محیط یکی از چالش‌های موجود در امر شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی است (Takeda et al. 2008). در نتیجه خشکی، اجزای عملکرد مانند تعداد غلاف، تعداد بذر، وزن بذر، کیفیت و عملکرد گیاه کاهش می‌یابد، در نخود مرحله گلدهی و تولید بذر مهم‌ترین مراحلی هستند که تحت تاثیر خشکی قرار می‌گیرند (Toker et al. 2007).

در نخود بیشترین تلاش‌های انجام شده برای نقشه‌یابی صفات روی تنش‌های زیستی صورت گرفته (Varshney et al. 2012) و مطالعات کمی در رابطه با تحمل به خشکی وجود دارد (Varshney et al. 2014). علی‌رغم تاثیر مهم اصلاح سنتی در افزایش دامنه رشدی نخود، به نظر می‌رسد استفاده از روش‌های نوین اصلاحی حاصل از افزایش دانش بشر در مورد ژنوم گیاهان در کنار روش‌های کلاسیک اصلاحی ضروری خواهد بود (Yadav and Sandhu 2007). در دو دهه اخیر، نشانگرهای مولکولی ابزار مناسبی برای مطالعه صفات پیچیده در گونه‌های گیاهی فراهم کرده‌اند و اصلاح گیاهان با تاکید بر روی شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTL)[1] و انتخاب به کمک نشانگر (MAS)[2] گسترش یافته است (Thudi et al. 2014). نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی[3] ابتدا بر روی جمعیت‌های حاصل از تلاقی دو والد مانند: F_2، دابل هاپلوئید (DH)[4]، لاین‌های تقریباً ایزوژنیک (NIL)[5]، لاین‌های خالص نوترکیب (RIL)[6] و جمعیت حاصل از تلاقی برگشتی (BC)[7] که از نظر یک یا چند صفت از یکدیگر متمایز بودند، انجام می‌گرفت (Parrisseaux and Bernardo 2004; Russo et al. 2012) که به علت تعداد کم نوترکیبی در نتیجه پیوستگی ضعیف بین نشانگر و صفت، در دسترس نبودن جمعیت‌های نقشه‌یابی و احتیاج به زمان زیاد برای تولید جمعیت‌ها، این روش بطور وسیع قابل استفاده در ژرم پلاسم‌های گیاهی نبود. مکان‌یابی ارتباطی[8] روشی جایگزینی است که در آن نقشه‌یابی در جمعیت‌های طبیعی و بر اساس عدم تعادل لینکاژی[9] انجام می‌گیرد (Moose and Mumm 2008). به‌دلیل اینکه در جمعیت‌های طبیعی نوترکیبی در طی سال‌های متمادی تثبیت شده پیوستگی بین نشانگر و صفت قابل اطمینان خواهد بود (Parrisseaux and Bernardo 2004; Abdurakhmonov and Abdulkarimov 2008). این روش امروزه به‌طور وسیع در جمعیت‌های گیاهی (Kraakman et al. 2006; Ghavami et al. 2011; Zhang et al. 2011) و جانوری (Reich

[1] Quantitative trait loci
[2] Marker-assisted selection
[3] QTL mapping or Linkage-based mapping
[4] Doubled haploid
[5] Near isogenic lines
[6] Recombinant inbred lines
[7] Backcross
[8] Association mapping or LD-based mapping
[9] Linkage disequilibrium

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

et al. 2001; Thudi et al. 2014) به کار می‌رود. تجزیه ارتباط بین نشانگرهای SSR، SNP و DArT[1] و صفات موثر در تحمل به خشکی و گرما را در ۳۰۰ ژنوتیپ نخود زراعی مطالعه کردند که در نهایت ۳۱۲ نشانگر پیوسته با صفات شناسایی شد که از بین آن‌ها صفت وزن صد دانه بیشترین تعداد نشانگر پیوسته (۷۰) را به خود اختصاص داد.

نظر به اهمیت تنش خشکی در نخود و با توجه به اینکه تاکنون از مکان‌یابی ارتباطی برای شناسایی نشانگرهای مرتبط با عملکرد و صفات مهم مرتبط با مقاومت به خشکی در نخود استفاده نشده است بنابراین این پژوهش به منظور شناسایی نشانگرهای ملکولی مرتبط و پیوسته با عملکرد و برخی صفات مهم مرتبط با خشکی در نخود تحت شرایط تنش خشکی پایه‌ریزی شد. با توجه به گستردگی، داشتن توالی‌های محافظت شده، تولید چندشکلی‌های جدید و پایدار و پوشش ژنومی وسیع رتروترنسپوزون‌ها در کروموزوم‌های گیاهی (Bernet and Asins 2004; Gu et al. 2004; Kong et al. 2004)، در این پژوهش از نشانگرهای مبتنی بر رتروترنسپوزون‌ها (IRAP[2] و REMAP[3]) استفاده شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی

در این پژوهش ٦٤ ژنوتیپ نخود کابلی (ارقام کوروش و جم به عنوان شاهد استفاده شدند) از کلکسیون حبوبات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج) (جدول ۱) انتخاب و در قالب طرح لاتیس ساده ۸ × ۸ در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و طول جغرافیایی ۵۰ درجه با ۱۱۱۲/۵ متر ارتفاع از سطح دریا) کاشته شدند به‌طوری‌که هر کرت آزمایشی شامل دو خط به طول دو متر و ۵۰ سانتی‌متر فاصله از یکدیگر، فاصله بذور روی خطوط ۱۰ سانتی‌متر و عمق آن‌ها حدوداً ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در مراحل داشت، برای کنترل علف‌های هرز، وجین دستی انجام می‌گرفت. تنش خشکی به صورت قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا پایان دوره رشد اعمال شد. برای اطمینان از میزان رطوبت خاک در مرحله تنش و تحت تنش بودن گیاه، از تانسیومتر استفاده شد. در مرحله ۹۰ درصد رسیدگی بوته‌ها، ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر کرت به عنوان اثر حاشیه حذف و نمونه‌برداری از مابقی بوته‌ها صورت گرفت. ۱۷ صفت شامل تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی (NDF)، تعداد روز تا ۵۰ درصد غلاف‌دهی (NDP)، تعداد شاخه‌های اصلی (NMB)، عرض شاخه‌های اصلی (MBW) (میلی‌متر)، ارتفاع بوته (PH) (سانتی‌متر)، طول غلاف (PL) (میلی‌متر)، عرض غلاف (PW) (میلی‌متر)، طول دانه (SL) (میلی‌متر)، عرض دانه (SW) (میلی‌متر)، تعداد دانه در هر غلاف (NSPPo)، تعداد دانه در هر بوته (NSPPl)، تعداد غلاف‌های پر (NFP)، وزن دانه با غلاف (SPW) (گرم)، وزن صد دانه (100SW) (گرم)، عملکرد دانه (SY) (گرم)، عملکرد بیولوژیک (BY) (گرم) و شاخص برداشت (HI) (درصد) تحت تنش خشکی اندازه‌گیری شد.

ارزیابی ژنتیکی

برای ثبت ژنوتیپ، از گیاهچه‌های دو هفته‌ای نمونه‌ای مخلوط از برگ‌های ۵ گیاه (قبل از اعمال تنش خشکی) از هر توده انتخاب و DNA آن‌ها به روش CTAB (Ausubel et al. 1995) در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه استخراج شد. کمیت و کیفیت DNAهای استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. ١٦ آغازگر IRAP و ۹۰ آغازگر REMAP که بر اساس رتروترنسپوزون‌های ایزوله شده از گونه‌های نزدیک به نخود زراعی طراحی شده بودند برای ارزیابی چندشکلی ادغامی و ثبت ژنوتیپ در توده‌های نخود استفاده شد (جدول ۲). تکثیر قطعات DNA در یک واکنش ۲۰ میکرولیتری حاوی بافر PCR ده برابر، ۰/۲ میکرومولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۱۰ پیکومول آغازگر، ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA پلی‌مراز و ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی در دستگاه ترموسایکلر اپندورف صورت گرفت. الگوی دمایی واکنش‌های PCR شامل واسرشت سازی اولیه در٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل ٤٠ ثانیه در ٩٤ درجه سانتی‌گراد، ٤٠ ثانیه در ٤٨ تا ۵۸/۸ درجه سانتی‌گراد، دو دقیقه در ۷۲ درجه

[1] Diversity array technology
[2] Inter retrotransposon amplified polymorphism
[3] Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

جدول ۱- اسامی ٦٤ ژنوتیپ نخود کابلی مورد استفاده در این پژوهش

کد ژنوتیپ	منشا	علامت اختصاری	شماره ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	منشا	علامت اختصاری	شماره ژنوتیپ
534	اردبیل	Ar1	12-071-06912	999	کوروش	Ko33	شاهد
490	اردبیل	Ar2	12-071-04084	606	ماهان	Ma34	12-071-06985
59	اردبیل	Ar3	12-071-02940	109	ممغان	Ma35	12-071-06678
642	بم	Ba4	12-071-07021	552	میانه	Mi36	12-071-06931
473	درگز	Dg5	12-071-04043	56	شیراز	Sh37	12-071-02740
474	درگز	Dg6	12-071-04053	345	تربت جام	TJ38	12-071-03884
29	اصفهان	Es7	12-071-02270	323	تربت جام	TJ39	12-071-03852
466	اصفهان	Es8	12-071-04043	335	تربت جام	TJ40	12-071-03871
478	اصفهان	Es9	12-071-04063	328	تربت جام	TJ41	12-071-03859
36	اصفهان	Es10	12-071-02316	325	تربت جام	TJ42	12-071-03854
629	اصفهان	Es11	12-071-07007	370	تربت جام	TJ43	12-071-03916
492	FAO	Fa12	12-071-04091	403	تربت جام	TJ44	12-071-03753
23	قزوین	Qa13	12-071-01837	356	تربت جام	TJ45	12-071-03899
38	قوچان	Qu14	12-071-02351	369	تربت جام	TJ46	12-071-03915
998	جم	Ja15	شاهد	394	تربت جام	TJ47	12-071-03946
308	جیرفت	Ji16	12-071-03833	375	تربت جام	TJ48	12-071-03922
318	جیرفت	Ji17	12-071-03846	357	تربت جام	TJ49	12-071-03900
317	جیرفت	Ji18	12-071-03845	130	تربت جام	TJ50	12-071-03885
307	جیرفت	Ji19	12-071-03832	555	ارومیه	Ur51	12-071-06934
269	جیرفت	Ji20	12-071-03788	525	ارومیه	Ur52	12-071-06903
306	جیرفت	Ji21	12-071-03831	512	ارومیه	Ur53	12-071-06889
259	جیرفت	Ji22	12-071-03776	511	ارومیه	Ur54	12-071-06888
289	جیرفت	Ji23	12-071-03811	508	ارومیه	Ur55	12-071-06885
284	جیرفت	Ji24	12-071-03805	239	ارومیه	Ur56	12-071-03753
245	جیرفت	Ji25	12-071-03760	236	ارومیه	Ur57	12-071-03750
12	کرج	Ka26	12-071-01952	198	ارومیه	Ur58	12-071-03703
2	کرج	Ka27	12-071-01834	235	ارومیه	Ur59	12-071-03749
22	کرج	Ka28	12-071-02090	187	ارومیه	Ur60	12-071-03686
16	کرج	Ka29	12-071-01972	233	ارومیه	Ur61	12-071-03746
154	کرج	Ka30	12-071-03641	216	ارومیه	Ur62	12-071-03725
120	کرج	Ka31	12-071-03585	129	ارومیه	Ur63	12-071-03746
563	خوی	Kh32	12-071-06942	128	ارومیه	Ur64	12-071-03718

کد و شماره ژنوتیپ‌ها در بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

سانتی‌گراد و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد و بافر TBE[1] نیم برابر در ولتاژ ثابت ٦٥ ولت به مدت ۳ ساعت انجام شد. برای رنگ‌آمیزی ژل‌ها از اتیدیوم بروماید استفاده شد.

تجزیه‌های آماری

باندهای حاصل از هر دو نشانگر به صورت یک (حضور) و صفر (عدم حضور) امتیازدهی و ماتریس حاصل برای بررسی ساختار جمعیت استفاده شد. ساختار جمعیت و تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی بر اساس داده‌های حاصل از تلفیق دو نشانگر با استفاده از نرم افزار STRUCTURE 2.3.4 و مدل Bayesian (Pritchard et al. 2000) در حالت Admixture با ۵۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار تکرار MCMC در مقادیر مختلف K از ۱ تا ۲۰ (۱۰ تکرار برای هر K) تعیین شد. ماتریس سهم عضویت (Q) و همچنین میانگین شاخص تثبیت (FST) برای زیرگروه‌های احتمالی نیز با استفاده از همین نرم افزار برآورد گردید.

[1] Tris base - boric Acid - EDTA

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

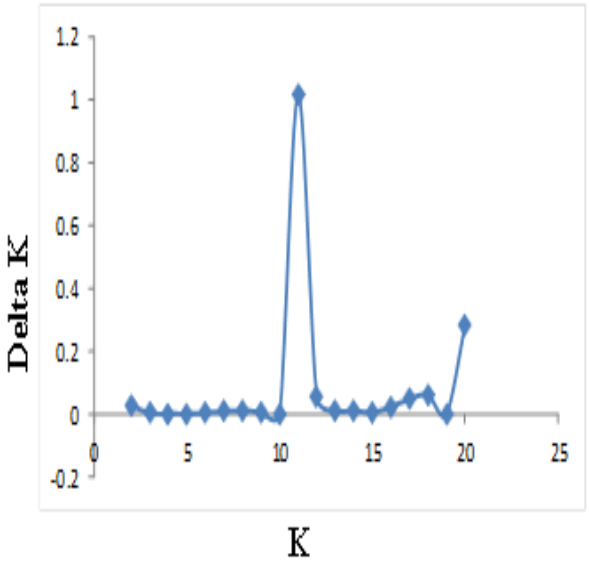
جدول ۲- نام و توالی آغازگرهای رتروترنسپوزونی و ISSR مورد استفاده

آغازگر	منبع	توالی ('۳-'۵)
CARE1-LTR2 (رتروترنسپوزون)	*Cicer arietinum* (Rajput et al. 2009)	agtggactttacgaatgcttgag
TPS12a (رتروترنسپوزون)	*Pisum sativum* (Pearce et al. 2000)	gggctttgactaatggacctc
TPS19 (رتروترنسپوزون)	*Pisum sativum* (Pearce et al. 2000)	ggagtagaagtagagagcc
Tms1Ret1 (رتروترنسپوزون)	*Medicago sativa* (Porceddu et al. 2002)	cggttttgtggggttgtgttaggccca
LORE1 (رتروترنسپوزون)	*Lotus japonicus* (Fukai et al. 2008)	gagtcctgagtaaccaactaac
LORE2 (رتروترنسپوزون)	*Lotus japonicus* (Fukai et al. 2008)	cagcttgaggacaagctgagtc
(ISSR) A7		agagagagagagagagagagt
(ISSR) A12		gagagagagagacc
(ISSR) 430		gtggtggtggtggtggtggtga
(ISSR) 443		acacacacacacacacact
(ISSR) UBC815		ctctctctctctctctt
(ISSR) UBC825		acacacacacacacact
(ISSR) UBC840		gagagagagagagagaYt
(ISSR) UBC857		acacacacacacacYg
(ISSR) UBC862		agcagcagcagcagcagc
(ISSR) UBC867		ggcggcggcggcggcggcggcggc

عدد K بهینه (تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی) براساس روش Delta K (Evanno et al. 2005) با استفاده از نرم افزار STRUCTURE HARVESTER (Earl et al. 2010) تعیین شد. ماتریس روابط خویشاوندی افراد (ماتریس Kinship) و تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM)[1] با نرم‌افزار TASSEL 3 انجام گرفت (Bradbury et al. 2007) و نشانگرهای پیوسته با صفات مورد بررسی در سطح معنی دار یک درصد و ۵ درصد مشخص شد. در مدل MLM علاوه بر ساختار جمعیت (ماتریس Q)، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت (ماتریس K) نیز در تجزیه ارتباط به‌عنوان متغیر کمکی[2] در نظر گرفته می‌شود و بنابراین ارتباطات و پیوستگی‌های دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد (Yu et al. 2006; Zhang et al. 2012).

نتایج و بحث

از بین آغازگرهای مورد استفاده، ۱۸ آغازگر (۳ آغازگر منفرد IRAP و ۱۵ ترکیب آغازگری REMAP) (جدول ۲) الگوی باندی چندشکل و قابل امتیازدهی تولید کردند. در کل ۱۲۹ مکان تکثیر شد که از این تعداد، ۸۸ مکان (٦٤/٣٤ درصد) چندشکل بودند. Fazeli and Chaghamirza (2011) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰۵ توده نخود کابلی با استفاده از نشانگرهای RAPD و صفات زراعی چندشکلی نسبتا بالایی (٥٦/٥٥ درصد) را گزارش کردند. در بررسی ساختار جمعیت بر اساس مقادیر LnP (D) و Delta K (ΔK)، ۱۱ زیر جمعیت (شکل ۱) در بین ٦٤ توده مورد استفاده مشخص شد (شکل ۲).



شکل ۱- نمودار دو بعدی K و Delta K برای تعیین تعداد زیرگروه‌های احتمالی در ٦٤ توده نخود زراعی. با توجه به شکل، تعداد زیر جمعیت‌های احتمالی ۱۱ (K=11) می‌باشد.

[1] Mixed linear model
[2] Covariate

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

جدول ۳- میانگین Fst مربوط به زیر گروه‌های احتمالی (K=11) بر اساس ۱۲۹ مکان تکثیری IRAP و REMAP در ٦٤ توده نخود زراعی

گروه‌ها	شاخص تثبیت (F_{ST})	گروه‌ها	شاخص تثبیت (F_{ST})
۱	۰/٦۷	۷	۰/٦۱
۲	۰/۷٦	۸	۰/۸۱
۳	۰/٥۸	۹	۰/٦۰
٤	۰/٦۸	۱۰	۰/٥٦
٥	۰/٦۹	۱۱	۰/٦۲
٦	۰/۸۸		

گروه دهم با داشتن ۹ توده بیشترین درصد (۱٤/۰٦) و گروه اول با دو توده کمترین درصد (۳/۱۲) را به خود اختصاص دادند. با بررسی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس ماتریس Q می‌توان دریافت که توده‌هایی با منشا جغرافیایی مشابه در کنار یکدیگر قرار نگرفتند. این نتایج ممکن است به‌دلیل جابه‌جایی ژنوتیپ‌ها از منطقه اصلی به سایر بخش‌های کشور و عمدتاً بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی بوده که این امر لزوم دقت در زمان نام‌گذاری نمونه‌ها و همچنین لزوم استفاده همزمان از اطلاعات مولکولی و مورفولوژیکی را در ایجاد کلکسیون آشکار می‌سازد. تعداد زیادی از توده‌های مورد مطالعه (۱۳ توده) در گروه مشخصی قرار نگرفتند. شاخص تمایز زیر جمعیت‌ها (Fst) از ۰/٥٦ (گروه ۱۰) تا ۰/۸۸ (گروه ٦) متغیر و برای همه زیر گروه-های احتمالی بیشتر از ۰/٥ بود که بیانگر تمایز بالای زیر گروه‌ها از همدیگر می‌باشد (جدول ۳).

به‌منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات در مکان‌یابی ارتباطی، از دو روش مدل خطی عمومی (GLM)[1] و مدل خطی مخلوط (MLM) استفاده می‌شود. در مدل MLM علاوه بر ساختار جمعیت، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت نیز در تجزیه ارتباط به‌عنوان متغیر کمکی در نظر گرفته می‌شود و بنابراین پیوستگی‌های دروغین بین نشانگر و صفت کاهش می‌یابد (Yu et al. 2006; Zhang et al. 2012). در این مطالعه برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه و حذف پیوستگی‌های دروغین نشانگر- صفت از روش MLM استفاده شد. از ۱۲۹ نشانگر تکثیری، ۲۸ نشانگر با ۱۷ صفت در سطح معنی دار ۰/۰۱ و ۰/۰٥ پیوستگی نشان دادند (جدول ٤). مقدار شاخص R^2 از ۰/۰٤ تا ۰/۱۷ متغیر بود. با توجه به اینکه مکان LORE1-UBC857i بیش‌ترین مقدار R^2 را دارا بود پس می‌توان گفت که ۱۷ درصد از تنوع فنوتیپی صفت عرض شاخه‌های اصلی (MBW) توسط این مکان توجیه می‌شود. با توجه به اینکه صفت تحمل به خشکی جزو صفات کمی بوده و توسط تعداد زیادی ژن با اثرات کم کنترل می‌شود، به نظر می‌رسد که هر کدام از مکان-های مورد مطالعه سهم کمی در توجیه تنوع فنوتیپی مشاهده شده در صفات مورد بررسی داشته باشند (Wang et al. 2011). کم-ترین میزان P مربوط به مکان LTR2-UBC815a بود که نشانگر پیوستگی شدید بین این مکان و صفت تعداد دانه در هر غلاف (NSPPo) می‌باشد. صفت عرض شاخه‌های اصلی (MBW) بیشترین تعداد نشانگر (۷ نشانگر) پیوسته را به خود اختصاص داد. نتایج حاصله با نتایج Thudi et al. (2014) که وزن هزار دانه بیشترین تعداد مکان پیوسته را به خود اختصاص داد مغایر بود. این تفاوت ممکن است به دلیل نوع نشانگرهای مورد استفاده و اندازه جمعیت در هر تحقیق باشد. Rashidi Monfared (2008) et al. با استفاده از نشانگرهای SSAP، ۳۲ نشانگر را در گندم شناسایی کردند که حداقل با یکی از صفات زراعی مورد بررسی رابطه معنی‌داری داشت. Abdollahi Mandoulakani et al. (2010) برای شناسایی نشانگرهای مثبت مرتبط با صفات مورفولوژیک در بادام زمینی از تجزیه ارتباط با استفاده از نشانگرهای SSR استفاده کردند و بیان کردند که این روش برای شناسایی مکان‌های آگاهی بخش مرتبط با صفات مورفولوژیک، مفید و مطمئن بوده و نشانگرهای مؤثر حاصل از این مطالعات می‌توانند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر و تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی استفاده شوند. چهار نشانگر با صفات طول غلاف (PL) و تعداد روز تا ٥۰ درصد غلاف دهی (NDP) و ٥ نشانگر با صفات عملکرد بیولوژیک (BY)، تعداد روز تا ٥۰ درصد گلدهی (NDF) و تعداد شاخه‌های اصلی (NMB) پیوسته بودند. از آنجاکه زودرسی یکی از اهداف مهم به نژادی در نخود بوده و در بسیاری از مناطق، کوتاهی روز تا گلدهی و بلوغ زودرس یک امتیاز محسوب شده (Singh and Saxena 1990; Siddique et al. 2003)

[1] General linear model

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

جدول ٤- نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه بر اساس روش Mixed linear model (MLM) در ٦٤ توده نخود زراعی.

صفت	مکان	P	R^2
	LTR2-UBC862f	۰/۰٤۹	۰/۰٦۰
	Tms1RET1-UBC825b	۰/۰٤۳	۰/۰٦٥
BY	Tms1RET1-A7a	۰/۰٤٤	۰/۰٦٦
	Tms1RET1-A12b	۰/۰۲۳	۰/۰۸٤
	LTR2-UBC862b	۰/۰۰٦ **,*	۰/۱۲۱
	LTR2-7	۰/۰۳۳	۰/۰٦۹
NFP	LTR2-UBC862b	۰/۰۰٥ **,*	۰/۱۱۷
	Tms1RET1-A7a	۰/۰٤۹	۰/۰۷۱
SY	Tms1RET1-A12d	۰/۰۳٤	۰/۰۸۳
	LTR2-UBC862f	۰/۰۱۰	۰/۱۱۸
	RET1-UBC825b	۰/۰٤٤	۰/۰٥٥
HI	LTR2-3	۰/۰۲٥	۰/۰٦۹
	LTR2-UBC862b	۰/۰۱۰	۰/۰۹۰
	Tms1RET1-A12d	۰/۰۳٦	۰/۰٦۷
100SW	RET1-UBC840d	۰/۰۲۱	۰/۰۷۸
	LTR2-UBC862f	۰/۰٤۸	۰/۰۷٤
	Tms1RET1-A7a	۰/۰٤٦	۰/۰۷٦
	LORE1-UBC857d	۰/۰٤۳	۰/۰۷۹
MBW	Tms1RET1-443a	۰/۰۳٦	۰/۰۸٥
	LTR2-3	۰/۰۱۷	۰/۱۱۱
	LTR2-UBC862b	۰/۰۱۳ **,*	۰/۱۲۱
	LORE1-UBC857i	۰/۰۰۳ **,*	۰/۱۷۲
	TPS12a-UBC825a	۰/۰٤۲	۰/۰٤۷
	TPS12a-3	۰/۰۳٥	۰/۰٤۹
NDF	Tms1RET1-A12d	۰/۰۳٦	۰/۰٥۱
	LTR2-UBC815e	۰/۰۲۲	۰/۰٥۷
	LORE1-UBC840e	۰/۰۱۹	۰/۰٦٦

LTR2 = CARE1-LTR2. تعداد روز تا ٥۰ درصد گلدهی (NDF)، تعداد روز تا ٥۰ درصد غلاف دهی (NDP)، تعداد شاخه‌های اصلی (NMB)، عرض شاخه‌های اصلی (MBW) (میلی‌متر)، ارتفاع بوته (PH) (سانتی‌متر)، طول غلاف (PL) (میلی‌متر)، عرض غلاف (PW) (میلی‌متر)، طول دانه (SL) (میلی‌متر)، عرض دانه (SW) (میلی‌متر)، تعداد دانه در هر غلاف (NSPPo)، تعداد دانه در هر بوته (NSPPl)، تعداد غلاف‌های پر (NFP)، وزن دانه با غلاف (SPW) (گرم)، وزن صد دانه (100SW) (گرم)، عملکرد دانه (SY) (گرم)، عملکرد بیولوژیک (BY) (گرم) و شاخص برداشت (HI) (درصد)

ادامه جدول ٤-

NDP	LORE1-UBC840a	۰/۰٤۷	۰/۰٦۱
	Tms1RET1-A12f	۰/۰۱۲	۰/۰۹۹
	Tms1RET1-A12d	۰/۰۰۸ **,*	۰/۱۱۱
	TPS12a-UBC825j	۰/۰۰٦ **,*	۰/۱۳۹
NMB	TPS12a-UBC862f	۰/۰۳۸	۰/۰۷۳
	LTR2-UBC862f	۰/۰۲٦	۰/۰۸٤
	TPS19-UBC840d	۰/۰۲٤	۰/۰۸۷
	Tms1RET1-A12b	۰/۰۱۷	۰/۰۱۰
	LTR2-UBC815a	۰/۰۱٥	۰/۱۰۱
NSPPl	LORE1-UBC857a	۰/۰۱۷	۰/۰۸٦
	LTR2-UBC862b	۰/۰۰۸	۰/۰۹۹
NSPPo	Tms1RET1-UBC840c	۰/۰۳۸	۰/۰٤۰
	Tms1RET1-A7d	۰/۰٤٥	۰/۰٤۱
	LTR2-UBC815a	۰/۰۰۲ **,*	۰/۰۹٥
PH	LTR2-UBC862f	۰/۰۲۹	۰/۰۷۹
	Tms1RET1-A7a	۰/۰۲۱	۰/۰۹۳
	Tms1RET1-A12b	۰/۰۰۸ **,*	۰/۱۲٤
PL	Tms1RET1-A7a	۰/۰٤٤	۰/۰٦۹
	LTR2-UBC862i	۰/۰۳٤	۰/۰۷٤
	Tms1RET1-443a	۰/۰۳٦	۰/۰۷۹
	Tms1RET1-UBC840d	۰/۰۲۹	۰/۰۷۹
PW	Tms1RET1-A7a	۰/۰۳٥	۰/۰۷۷
	Tms1RET1-443a	۰/۰٤۱	۰/۰۷۷
SL	TPS12a-1	۰/۰٤٥	۰/۰٥۷
	Tms1RET1-UBC825c	۰/۰۲۹	۰/۰٦۸

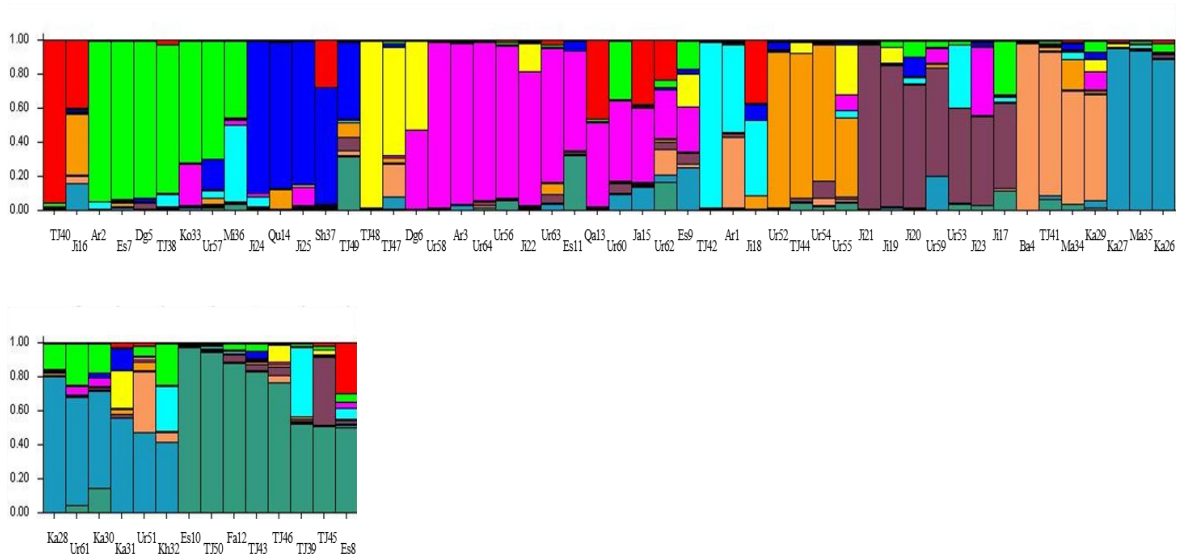
ادامه جدول ٤-

SPW	LTR2-UBC862f	۰/۰٤۷	۰/۰٦۲
	LTR2-UBC862b	۰/۰۳٥	۰/۰۷۰
	Tms1RET1-A7a	۰/۰۳٥	۰/۰۷٥
SW	TPS12a-1	۰/۰٤۹	۰/۰٦۷
	LORE1-UBC857a	۰/۰۳۸	۰/۰۷۳

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]



شکل ۲- گروه‌بندی ٦٤ ژنوتیپ نخود زراعی بر اساس تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر مدل Bayesian با استفاده از ۱۲۹ مکان IRAP و REMAP. هر رنگ یک زیرگروه را نشان می‌دهد. محور عمودی نشان دهنده ضریب تعلق هر توده به زیر گروه و محور افقی نام توده‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

و علاوه بر این یکی از مکانیسم‌های فرار از تنش خشکی است (Gaur et al. 2008)، بنابراین نشانگرهای پیوسته با صفات تعداد روز تا ۵۰ درصد غلاف دهی (NDP) و تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی (NDF) بعد از تایید و ارزیابی در جمعیت‌های بزرگ با استفاده از داده‌های فنوتیپی چند ساله می‌توانند در برنامه‌های به نژادی نخود برای غربال جمعیت به‌منظور گزینش ژنوتیپ‌هایی با زمان غلاف دهی و گلدهی کوتاه‌تر و در نتیجه تحمل به خشکی بیشتر موثر باشند. نشانگرهای Tms1RET1-A7a، LTR2-UBC862b و LTR2-UBC862f در بین صفات عملکرد دانه (SY)، وزن دانه با غلاف (SPW)، عملکرد بیولوژیک (BY) و عرض شاخه‌های اصلی(MBW) مشترک بودند. با توجه به این که این صفات همبستگی مثبت و معنی داری با یکدیگر داشتند (Mohammad Alipour Yamchi et al. 2011). بنابراین می‌توان گفت که مکان‌های مشترک برای صفات مذکور احتمالا ناشی از اثر پلیوتروپی و یا پیوستگی بین مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مورد نظر باشد و فرضیه هم مکانی یا چند اثره بودن QTLها را تقویت می‌کند (Thudi et al. 2014)، هم‌مکانی QTLها راه مناسبی را برای درک اساس مولکولی تحمل به تنش خشکی و یا صفات مربوط به پاسخ به خشکی در اختیار می‌گذارد. وجود چندین QTL هم‌مکان یا چند اثر نشان می‌دهد که صفت تحمل به خشکی جزو صفات کمی می‌باشد و این امکان شناسایی مناطق ژنومی صفات مرتبط با تحمل به خشکی را فراهم می‌آورد (Thudi et al. 2014)، مکان‌هایی که با بیش از یک صفت پیوسته می‌باشند می‌توانند در به‌نژادی هم‌زمان چند صفت از طریق گزینش به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرند. البته لازم است به‌منظور تایید و اطمینان آماری بیشتر به نتایج حاصل، تکرارپذیری نشانگرهای پیوسته در جمعیت‌های بزرگ‌تر با استفاده از یادداشت‌برداری از صفات مورد مطالعه در چندین مکان صورت گیرد و سپس از نشانگرهای تاییدشده در برنامه‌های به‌نژادی نخود به منظور توسعه واریته‌هایی با تحمل به خشکی بیشتر و انتخاب به کمک نشانگر استفاده شود که این مهم در ادامه این تحقیق در حال انجام است.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

منابع

Rashidi Monfared S, Mardi M, Hosseinzadeh AH, Naghavi M (2008) Association analysis between important agronomic traits and SSAP markers in durum wheat. Modern Genetics Journal 3: 29-35. (In Farsi)

Abdollahi Mandoulakani B, Alami A, Esfahani M (2010) Association analysis for morphological traits in peanut (Arachis hypogea L.) using microsatellite markers. Iranian Journal of Crop Sciences 12: 510-519. (In Farsi)

Abdurakhmonov IY, Abdulkarimov A (2008) Application of association mapping to understanding the genetic diversity of plant germplasm resources. International Journal of Plant Genomes 2008:1-18.

Abdurakhmonov IY, Kohel RJ, Yu JZ, Pepper AE, Abdullaev AA, Kushanov FN, Salakhutdinov IB, Buriev ZT, Saha S, Scheffler BE, Jenkins JN, Abdukarimov A (2008) Molecular diversity and association mapping of fiber quality traits in exotic *G. hirsutum* L. germplasms. Genomics 92: 478-487.

Ahmad F, Gaur PM, Croser J (2005) Chickpea (*Cicer arietinum* L.) In: Singh RJ, Jauhar PP eds. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement - grain legumes. CRC Press, pp 187-217.

Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K, Albright LM, Coen DM, Varki AA (1995) Current protocols in molecular biology. John Wiley and Sons, New York.

Bernet GP, Asins MJ (2004) Identification and genomic distribution of gypsy like retrotransposons in Citrus and Poncirus. Theoretical and Applied Genetics 108: 121-130.

Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES (2007) TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. Bioinformatics 23: 2633-2635.

Earl DA, Louie KD, Bardeleben C, Swift CC, Jacobs DK (2010) Rangewide microsatellite phylogeography of the endangered tidewater goby, Eucyclogobius newberryi (Teleostei: Gobiidae), a genetically subdivided coastal fish with limited marine dispersal. Conservation Genetics 11: 103-114.

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Molecular Ecology 14: 2611-2620.

FAO (2010) FAOSTAT. Available in http://faostat.fao.org/[28 May 2010].

Fazeli F, Chaghamirza K (2011) Genetic variation in Iranian chickpea (Cicer arietinum L. Kabuli type) based on agronomic traits and RAPD marker. Plantlet and Seed Improvement Journal 1: 555–579. (In Farsi)

Ghavami F, Elias EM, Mamidi S, Ansari O, Sargolzaei M, Adhikari T, Mergoum M, Kianian SF (2011) Mixed model association mapping for Fusarium head blight resistance in Tunisian derived durum wheat populations. G3: Genes/Genomes/Genetics 1: 209-218.

Gaur PM, Kumar J, Gowda CLL, Pande S, Siddique KHM (2008) Breeding chickpea for early phenology: Perspectives progress and prospects. In: Kharkwal MC ed. Food legumes for nutritional security and sustainable agriculture. Indian Society of Genetics and Plant Breeding pp 39-48.

Gu YQ, Coleman-Derr D, Kong X, Anderson OD (2004) Rapid genome evolution revealed by comparative sequence analysis of orthologous regions from four Triticeae genomes. Plant Physiology 135: 459–470.

Kong XY, Gum YQ, You FM, Dubcovsky J, Anderson OD (2004) Dynamics of the evolution of orthologous and paralogous portions of a complex locus region in two genomes of allopolyploid wheat. Plant Molecular Biology 54: 55-69.

Kraakman ATW, Martínez F, Mussiraliev B, Van Eeuwijk FA, Niks RE (2006) Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance, and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. Molecular Breeding 17: 41-58.

Majnoun Hosseinei N (2008) Legumes agriculture and production. The university press center, Tehran, Iran 103-129. (In Farsi)

Mohammad Ali Pour Yamchi H, Bihamta MR, Peighambari SA, Naghavi MR, Shafiee Khorshidi M (2011) Evaluation of genetic diversity and classification of Kabuli chickpea genotypes in late season drought stress. Journal of Plant Breeding 3(7): 54-70. (In Farsi)

Moose SP, Mumm RH (2008) Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. Plant Physiology 147: 969-977.

Parrisseaux B, Bernardo R (2004) In silico mapping of quantitative trait loci in maize. Theoretical and Applied Genetics 109: 508-514.

Patel BD, Patel VJ, Patel JB, Patel RB (2006) Effect of fertilizers and weed management practices on weed control in chickpea (Cicer arietinum L.) under middle Gujarat conditions. Indian Journal of Crop Science 1: 180-183.

Pearce SR, Knox M, Ellis THN, Flavell AJ, Kumar A (2000) Pea Ty1-copia group retrotransposons: transpositional activity and use as markers to study genetic diversity in pisum. Molecular Genetics and Genomics 263: 898-907.

Pritchard JK, Stephanes M, Rosenberg NA, Donnelly P (2000) Association mapping in structured populations. American Journal of Human Genetics 67: 170-181.

Reich DE, Cargill M, Bolk S, Ireland J, Sabeti PC, Richter D, Lavery J, Kouyoumjian T, Farhadian R, Ward S, Lander R (2001) Linkage disequilibrium in the human genome. Nature 411: 199-204.

Russo MA, Ficco DBM, Marone D, De Vita P, Vallega V, Pasam RK, Sharma R, Malosetti M, van Eeuwijk FA, Haseneyer G (2012) Genome-wide association studies for agronomical traits in a worldwide spring barley collection. BMC Plant Biology 12: 16.

Saeed A, Hovsepyan H, Darvishzadeh R, Imtiaz M, Panguluri SK, Nazaryan R (2011) Genetic diversity of Iranian accessions, improved lines of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their wild relatives by using simple sequence repeats. Plant Molecular Biology Reporter 29: 848-858.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]

Siddique KHM, Loss SP, Thomsons BD (2003) Cool seasons grain legume in dry land Mediterranean environment of Western Australia: Significance of early flowering. pp: 151-163. In: N.P. Saxena (Ed.), Management of Agriculture Drought "Agronomic and Genetic Options". Science Publishers Inc, NH, USA.

Singh KB, Saxena MC, (1990) Studies on drought tolerance. Annual Report, ICARDA, Aleppo, Syria. pp: 108-113.

Takeda S, Matsuoka M (2008) Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population change. Nature 9: 444-457.

Thudi M, Upadhyaya HD, Rathore A, Mal Gaur P, Krishnamurthy L, Roorkiwal M, Nayak SN, Kumar Chaturvedi S, Sarathi Basu P, Gangarao NVPR, Fikre A, Kimurto P, Sharma PC, Sheshashayee MS, Tobita S, Kashiwagi J, Ito O, Killian A, Kumar Varshney R (2014) Genetic Dissection of Drought and Heat Tolerance in Chickpea through Genome-Wide and Candidate Gene-Based Association Mapping Approaches. PLoS ONE 9: e96758.

Toker C, Lluch C, Tejera NA, Serraj R, Siddique KHM (2007) Abiotic stresses In: Yadav SS, Redden R, Chen W, Sharma B eds. Chickpea breeding and management. CAB International, pp 474-496.

Van der Maesen LJG, Singh KB, Saxena MC (1987) Origin, history and taxonomy of chickpea. International Publication pp: 11-34.

Varshney RK, Kudapa H, Roorkiwal M, Thudi M, Pandey MK (2012) Advances in genetics and molecular breeding of three legume crops of semi-arid tropics using next generation sequencing and high-throughput genotyping technologies. Journal of Bioscience 37: 811–820.

Varshney RK, Thudi M, Nayak SN, Gaur PM, Kashiwagi J (2014) Genetic dissection of drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) Theoretical and Applied Genetics 127: 445-461.

Wang M, Jiang N, Jia T, Leach L, Cockram J, Waugh R, Ramsay L, Thomas B, Luo Z (2011) Genome-wide association mapping of agronomic and morphologic traits in highly structured populations of barley cultivars. Theoretical and Applied Genetics 124: 233-246.

Yadav SS, Sandhu JS (2007) Area, production and distribution In: Yadav SS, Redden RJ Chen W eds. Chickpea breeding and management CABI International, pp 167-178.

Yu J, Pressoir G, Briggs WH, Vroh BI, Yamasaki M, Doebley JF (2006) A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. National Genetics 38: 203–208.

Zhang J, Hao C, Ren Q, Chang X, Liu G, Jing R (2011) Association mapping of dynamic developmental plant height in common wheat. Planta 234: 891-902.

Zhang Q, Wu C, Ren F, Li Y, Zhang C (2012) Association analysis of important agronomical traits of maize inbred lines with SSRs. Australian Journal of Crop Science 6: 1131-1138.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.1.8.1]