

تجزیه ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای ریز ماهواره در

جوهای بومی ایران

امین ابراهیمی^{*}، محمد رضا نقوی^۲، منیزه سبکدست^۳، امیر مرادی سراب‌شلی^۴

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجو، استاد، مریض و دانشجوی گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

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

(تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۳۰)

چکیده

در این تحقیق ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در جو با استفاده از ۱۰ صفت زراعی و ۷۰ نشانگر مولکولی حاصل از ۱۰ جفت آغازگر ریز ماهواره روی ۱۱۵ ژنوتیپ بومی مورد مطالعه قرار گرفت. میزان محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها بین ۰/۳۱ تا ۰/۸۵ متغیر بود. نشانگرهای AF220725A و Bmag0013 با بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان دادند، به این معنی که این نشانگرها بهتر از همه نشانگرهای استفاده شده توانستند فاصله ژنتیکی ارقام را مشخص کنند، در حالیکه نشانگر HVM70 با کمترین مقدار شاخص چندشکلی، به خوبی توانایی جداسازی ژنوتیپ‌ها را نداشته است. با استفاده از روش رگرسیون چند گانه (گام به گام) ارتباط بین هر کدام از ۱۰ صفت زراعی و ۷۰ نشانگر چند شکل مورد بررسی قرار گرفت. آغازگرهای HVM20 و Gms003، Bmac0306 و HvHVA1 تغییرات بیشتری از صفات مورد بررسی را نشان دادند. نتایج نشان داد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط نشان می‌دهند که بیانگر این است که این صفات پیوستگی بسیار نزدیکی با هم دارند و یا احتمالاً تحت تاثیر ژن‌های چند اثره قرار دارند. برای درک این موضوع تهیه نسل‌های در حال تفرق و نقشه‌های پیوستگی ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

آغازگرها،
جو بومی،
رگرسیون گام به گام،
محتوای اطلاعات چندشکلی،
مورفولوژی،
SSR

مقدمه

جو زراعی متعلق به خانواده Poaceae و جنس *Hordeum* بوده و شامل ۳۲ گونه و ۴۵ تاکسون است. این گیاه از نظر اهمیت غذایی و سطح زیر کشت در میان غلات، پس از گندم، ذرت و برنج مقام چهارم را دارد، اما با توجه به اینکه در شرایط متنوع آب و هوایی قابل کشت است، از نظر دامنه گسترش کشت مقام اول را دارد. جو در سراسر جهان به دلیل سازگاری وسیع به شوری، خشکی و دمای پایین، به جز نواحی استوایی کشت می‌گردد (۳).

وجود دارند (۱۲). ارزش ریز ماهواره‌ها از خاصیت چند آللی طبیعی آنها، وراثت هم‌بارز آنها، فراوانی نسبی و پوشش وسیع ژنومی و همچنین سهولت آشکارسازی و تشخیص آنها به وسیله کاربرد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با دو آغازگر اختصاصی که از روی نواحی مجاور^۳ ریز ماهواره‌ها طراحی می‌گردد، ناشی می‌شود (۲۵). کاربردهای ریز ماهواره‌ها در نقشه‌یابی ژنومی، انگشت نگاری DNA، نشانمند کردن ژن‌ها^۴، سازماندهی ژرم پلاسم و مطالعات سیتوژنتیکی مشخص شده است (۸). از کاربردهای دیگر ریز ماهواره‌ها، می‌توان به عنوان نشانگرهایی جهت (نقشه‌یابی)^۵ ژن‌ها در گندم و سایر گیاهان اشاره کرد (۱۳). یکی از پیشرفت‌های بزرگ که در سال‌های اخیر در زمینه سیستم‌های تشخیص نشانگرها ایجاد شده است، شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مفید است و همچنین ارزش نشانگرها در آنالیز وراثت صفات در گیاهان زراعی ساختار و سازمان دهی ژنوم مشخص شده است (۱). در یک تحقیق با مطالعه ۱۴۶ رقم جو بهاره با استفاده از ۲۳۶ نشانگر AFLP ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و صفات عملکرد و پایداری عملکرد تعیین شد. رگرسیون چندگانه گام به گام نشان داد که ۱۸ تا ۲۰ نشانگر ۴۰ تا ۵۸ درصد تغییرات این دو صفت را تبیین می‌کنند (۱۴). رشیدی و همکاران (۱۳۸۷) ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی با استفاده از ۶ صفت زراعی و ۷۴ نشانگر مولکولی حاصل از ۱۰ جفت آغازگر چند - شکلی حاصل توالی اختصاصی تکثیر شونده^۶ (SSAP) روی ۱۰۸ ژنوتیپ بومی و ۲۱ رقم زراعی گندم دوروم مطالعه کردند. میزان محتوای اطلاعات چندشکلی^۷ (PIC) آغازگرها بین ۰/۱۸ تا ۰/۴۱ متغیر بود. با استفاده از روش رگرسیون چند گانه (گام به گام) ارتباط بین هر کدام از ۶ صفت زراعی و ۷۴ نشانگر چند شکلی مورد بررسی قرار دادند که در نهایت ۳۲ نشانگر چند شکلی توالی‌های اختصاصی تکثیر یافته رابطه معنی داری با حداقل یکی

³ Flank⁴ Gene tagging⁵ Mapping⁶ Sequence Specific Amplified Polymorphism⁷ Polymorphic information content

برآورده تنوع ژنتیکی در محصولات زراعی، نقش بسیار مهمی در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی دارد، که از طریق صفات مورفوژئیکی، بررسی شجره‌ها و نشانگرهای مولکولی میسر می‌گردد. افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات زراعی و استفاده بهینه از ذخایر ژنی مستلزم جمع آوری، نگهداری، توصیف و ارزیابی مواد ژنتیکی است. ایجاد تنوع ژنتیکی و ژرم پلاسم جدید در اصلاح گندم و بهبود برخی از خصوصیات و ایجاد تیپ‌های ایدآل گیاه نیز بسیار مهم می‌باشد (۲۰). جهت تعیین و برآورده تنوع ژنتیکی گیاهان، از نشانگرهای متفاوتی مانند نشانگرهای مورفوژئیک، بیوشیمیایی و DNA استفاده می‌شود (۱۹). قبل از شناسایی و کاربرد نشانگرهای مولکولی در ارزیابی روابط بین ژنوتیپ‌ها در یک گونه خاص، اغلب صفات مورفوژئیک نقش عمده را ایفا می‌نمودند. پیشرفت علم بیوتکنولوژی در سال‌های اخیر کمک شایانی در تشخیص روابط ژنتیکی و فیلوژنی و نیز در اصلاح گیاهان نموده است. نشانگرهای مولکولی و صفات مورفوژئیک تکمیل کننده یکدیگر بوده و نمی‌توانند به تنها ابزار مفید و سودمندی در روش‌های مختلف اصلاحی محسوب شوند (۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۲۲). مطالعه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی دارای کاربردهای متعددی است که برخی از آنها عبارت است از امکان بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های خاص پیش از ارزیابی فنوتیپی، شناسایی آلل‌های صفت مطلوب در مجموعه‌های ژرم پلاسم، تسهیل مکان یابی دقیق QTL‌ها و تأیید ژن‌های کاندیدای مسئول صفات کمی (۷). در طی دو دهه اخیر نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA بطور گسترده‌ای برای اهداف مختلف در گیاهان و جانوران مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از جمله توأم‌نامدترین این نشانگرهای ریز ماهواره هستند که در DNA هسته‌ای تمام یوکاریوت‌ها و حتی بعضی از پروکاریوت‌ها از جمله باکتری‌ها یافت شده (۵) و بطور مکرر دیچار چندشکلی می‌شوند (۹). ریز ماهواره‌ها در هر دو قسمت توالی‌های کد کننده^۸ و غیر کد کننده^۹ در همه موجودات عالی مورد آزمایش قرار گرفته،

⁸ Coding⁹ Non-coding

استخراج و تکثیر DNA

استخراج DNA از نمونه‌های برگی با استفاده از روش سقایی معروف و همکاران (۱۹۸۴) با اندکی تغییر انجام گرفت (۲۴). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر DNA ژنومی، ۱/۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰/۵ میکرولیتر ۱mM dNTPs، ۰/۳ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای رو به جلو و رو به عقب، ۱/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱/۹۲ میکرولیتر از کلریدمنیزیم ۱۵ میلی مولار و در نهایت با ۷/۲۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی که به صورت Touch Down برنامه‌ریزی شده بود، به این صورت که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتیگراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه دور اول با کاهش یک درجه دما، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعد دمای اتصال ثابت (بسته به دمای اتصال آغازگر) و با زمان ۳۰ ثانیه انجام شد، در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرت سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۴ درجه در نظر گرفته شد. همچنین زمان و دمای بسط رشته نیز به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید واسرت ساز ۶ درصد تفکیک و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره بر اساس دستور کار باسام و همکاران (۲) با اندکی تغییر انجام گرفت.

از ۶ صفت زراعی داشتند آنها نتیجه گرفتند که می‌توان از آنها در اصلاح وابسته به نشانگر بهره گرفت.

در دسترس بودن نشانگرهای ریز ماهواره‌ها مطالعه تجزیه ارتباطی بین این نشانگرهای ریز ماهواره‌ها ممکن می‌سازد. هدف ما از این تحقیق شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش^۸ مرتبط با صفات زراعی مورد نظر در ۱۱۵ ژنوتیپ جو بومی با استفاده از سیستم نشانگری ریز ماهواره‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در سال زراعی ۱۳۸۷-۸۸ تعداد ۱۱۵ ژنوتیپ جو از ۵ گونه شامل ۲۶ (۴۸ ژنوتیپ)، *H. vulgare* (۱۵ ژنوتیپ)، *H. spontaneum* (۱۵ ژنوتیپ)، *H. murinum* (۱۱ ژنوتیپ) که از قسمت‌های مختلف ایران جمع آوری شده بودند، هر کدام در یک کرت‌هایی با یک ردیف به طول یک متر، فاصله ۲۵ سانتی‌متر از هم و ۳ تکرار بصورت سیستماتیک در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تهران کشت و ارزیابی گردید. صفات مورد ارزیابی بر اساس شاخص‌های موسسه بین المللی ذخایر تواریثی (۱۰) اندازه گیری شدند (جدول ۱) و برای بررسی تنوع بین ارقام در سطح مولکولی، از ۱۰ آغازگر ریز ماهواره بهره گرفته شد (جدول ۲).

^۸ Informative markers

جدول ۱- صفات اندازه گیری شده ژنوتیپ‌های جو در شرایط مزرعه

شماره	صفت	واحد اندازه گیری	زمان اندازه گیری
۱	تعداد گلچه‌های جانبی	-----	زمان رسیدگی
۲	تعداد سنبلاچه در هر سنبله	-----	زمان رسیدگی
۳	ارتفاع بوته	سانتی‌متر	زمان خوش‌دهی
۴	طول سنبله	سانتی‌متر	زمان گلدهی
۵	طول دانه	میلی‌متر	پس از رسیدگی فیزیولوژیک
۶	عرض دانه	میلی‌متر	پس از رسیدگی فیزیولوژیک
۷	تعداد برگ	-----	زمان خوش‌دهی
۸	بیرون زدگی رادیکل	سانتی‌متر	زمان خوش‌دهی
۹	طول رادیکل	سانتی‌متر	زمان خوش‌دهی
۱۰	تعداد گره	-----	زمان خوش‌دهی

جدول ۲- اسمی آغازگرها و مشخصات آنها

موتیف	توالی برگشت' ۳→۵'	توالی رفت' ۳→۵'	نام آغازگر
(GCAT)4	GTTATGTACTCGCTCGCTC	AGTATCGCAGACGCTCAC	HvWaxy4
(GA)19	CACCGCCTCCTCTTCAC	CTCCACGAATCTCTGCACAA	HVM20
(GA)7	ATTCTCCGCCGTCCACTC	CGATTCCCCCTTTCCCAC	HVM40
(CA)8	ACCCACGACCTATGGCAC	CCGCCGATGACCTTCTC	HVM70
(AC)20	TTCTCCCTTGTCCTTG	AGCCCGATCAGATTACG	Bmac0040
(AC)10	ACATGCACATGAACATAATCAA	CCTTGTGTGAGTGTGTGTG	Bmac0306
(CT)21	TCGAATAGGTCTCCGAAGAAA	AAGGGGAATCAAAATGGGAG	Bmag0013
(ACC)5	CGACCAAACACGACTAAAGGA	CATGGGAGGGGACAACAC	HvHVA1
(AC)19	ATCACTGCTGTGCCTAGC	ATGGTAGAGGTCCCAACTG	Bmac0316
(TG)8	GCTGCAAAGTATGACAATATG	AGTATGGGAATTATTGG	AF022725A
(GT)15	TTGCATGCATGCATACCC	TTTCAGCATCACACGAAAGC	GMS003
(AC)17	AAACAGCAGCAAGAGGAG	GAAACCCATCATAGCAGC	EBmac0415

بیشترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها مربوط به آغازگر AF220725A و کمترین آن مربوط به آغازگر HVM70 بود. در کل آغازگرهای AF220725A, HVM20, Bmag0013, HVM40 و Bmac0316 دارای محتوای اطلاعات چندشکلی بالایی بودند. بیشترین و کمترین تعداد آلل به ترتیب مربوط به آغازگرهای AF220725A و HVM70 بود. از آنجائیکه میانگین تعداد آلل هر نشانگر ریز ماهواره، مناسب بودن هر مکان زنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد (۲۱). بنابراین آغازگرهایی که تعداد آلل زیادی نشان داده‌اند برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب تشخیص داده می‌شوند از این جدول می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با توجه به میزان محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها و تعداد آلل، آغازگرهای AF220725A, HVM20, Bmac0316, Bmag0013 و HVM40 در بررسی تنوع ژنتیکی مناسب می‌باشند. کادری و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه ۱۴ نمونه جو بومی و زراعی با استفاده از ۱۵ جفت نشانگر SSR، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها و تعداد جایگاه آللی را به ترتیب ۰/۵۳ و ۰/۸۷ بدست آوردند.

تجزیه‌های آماری داده‌های مولکولی بر اساس وجود و عدم وجود باند به ترتیب به صورت یک و صفر برای هر جفت آغازگر اختصاصی کد گذاری گردید. میزان اطلاعات چندشکل آغازگرها با استفاده از فرمول $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$ محاسبه گردید. بطوریکه Pi فراوانی آلل آنم و n تعداد آلل‌ها می‌باشد. سپس تجزیه رگرسیونی ۱۰ صفت زراعی در ۱۱۵ ژنوتیپ جو بومی با استفاده از نرم افزار SPSS با روش رگرسیون گام به گام انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که بین گونه‌ها و همچنین درون گونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بنابراین نتیجه‌گیری شد که بین گونه‌ها از نظر این صفات تنوع زیادی وجود دارد. نشانگرهای مورد بررسی در مجموع ۷۰ آلل چند شکل نشان دادند، بطوریکه تعداد آلل برای هر آغازگر از ۱ تا ۷ و با میانگین تعداد آلل ۳/۸۵ برای هر آغازگر مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه واریانس بین و درون گونه‌ها

	df	تعداد خوشه	ارتفاع (سانسی متر)	تعداد گره	بیرون زدگی رادیکل (میلی متر)	طول رادیکل (میلی متر)	طول خوشه (سانسی متر)	طول برگ (سانسی متر)	تعداد برگ	طول دانه (سانسی متر)	عرض دانه (میلی متر)	تعداد دانه در خوشه
بین گونه‌ها	۴	۱۰۷/۵۸**	۴۹۸۲/۸۲**	۱۷/۸۳**	۱۲/۴۲ ns	۴۵۱/۹۴**	۲۲/۸۹**	۱۳/۴۷**	۵۹/۱۴**	۱۱/۹۲**	۴۲۶/۳۳**	
اشتباه	۱۱۰	۳۷۷/۴۵۳	۱۴۶۹۲/۶۱	۵۲/۶۲	۱۶۷۲/۶۱	۳۷۴۱/۳۸	۱۹۵/۷۰	۲۱۲/۱۵	۱۰۴/۴۳	۱۲/۹۱	۱۰۰/۸۱	
درون گونه‌ها												
<i>H. vulgare</i>	۲۵	۱۱/۱۱**	۶۱۵/۳۲**	۲/۶۵**	۳۰/۲۴**	۷۱/۴۹**	۳/۳۷**	۲/۰۶**	۱/۰۴**	۰/۴**	۴۴/۴۵**	
<i>H. spontaneum</i>	۴۷	۷/۰۷**	۲۸۶/۰۵**	۱/۲۲**	۲۷/۹۴**	۶۰/۲۲**	۴/۳۴**	۰/۷۸**	۳/۳۷**	۰/۴۳**	۲۸/۳۱**	
<i>H. bulbosum</i>	۱۰	۳۰/۶۹**	۲۲۳/۷۵**	۱/۱۵**	۵۴/۸۱**	۱۵۱/۰۵**	۴/۶۰**	۱/۷۳ ns	۵/۱۵**	۰/۴۱**	۱۲۲/۷۸**	
<i>H. marinum</i>	۱۵	۷/۰۵**	۵۱۹/۷۲**	۱/۰۶**	۸۷/۰۸**	۱۹۴/۸۳**	۹/۹۰**	۳۴/۸۸**	۱/۳۲**	۰/۵۶**	۲۶/۲۱**	
<i>H. murinum</i>	۱۳	۸/۹۷**	۳۹۴/۳۸**	۰/۴۴*	۸۴/۱۴**	۱۰۴/۴۱**	۷/۹۹**	۰/۰۵ ns	۳/۴۳**	۰/۲۲**	۳۵/۸۶**	

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد.

جدول ۴- میزان محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها و تعداد آلل‌های چند شکل برای هر آغازگر

Primer	محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها	polymorph allele	Primer	محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها	polymorph allele
HvWaxy4	۰/۵۵	۳/۲	Bmag0013	۰/۷۱	۴/۲
HVM20	۰/۷۸	۳/۸	HvHVA1	۰/۶۶	۳/۶
HVM40	۰/۶۹	۴/۴	Bmac0316	۰/۶۹	۴
HVM70	۰/۳۱	۱/۴	AF220725A	۰/۸۵	۶/۶
Bmac0040	۰/۵۴	۳	GMS003	۰/۵۲	۵/۶
Bmac0306	۰/۶۱	۳/۲	EBmac0415	۰/۵۳	۳/۲
Mean Total of PIC					
۰/۵۴					
Mean Total of Polymorph allele					
۳/۸۵					

از همه نشانگرهای استفاده شده، توانسته است فاصله ژنتیکی ارقام را مشخص کند، در حالیکه نشانگر HVM70 با کمترین مقدار شاخص چند شکلی، به خوبی توانایی جداسازی ژنوتیپ‌ها را نداشته است. نتیجه دیگری که از جدول ۴ می‌توان گرفت، این است که ارتباط خاصی بین افزایش تعداد آلل و مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها محاسبه شده وجود ندارد.

همچنین بیشترین تعداد آلل‌های چند شکل به ترتیب مربوط به نشانگرهای HVM40، AF220725A، GMS003 و Bmac00040 و HVM70 دیده شد.

به طور کلی از جدول شماره ۴ می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نشانگرهای AF220725A، Bmag0013 و HVM40 با بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان می‌دهند. به این معنی که این دو نشانگر بهتر

Bmac0306 بیشترین R^2 (۲۳ درصد) برای صفات طول رادیکل و طول خوش در اندازه ۱۱۵ جفت باز را توجیه نمود. روی و همکاران (۲۰۰۶) تجزیه ارتباطی بین ۱۱ صفت زراعی و ۵۱۹ نشانگر ریز ماهواره را در گندم نان بررسی کردند. بیشترین میزان R^2 برای صفت شاخص برداشت با ۲۸ درصد و طول bp ۲۹۱ در آغازگر Xwmc44 بدست آمد. آنان چنین نتیجه گرفتند که در کل نشانگرهای انتخاب شده توزیع یکنواختی در اطراف صفات زراعی مورد ارزیابی داشتند. رشیدی و همکاران (۱۳۸۷) ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی با استفاده از ۶ صفت زراعی و ۷۴ نشانگر مولکولی حاصل از ۱۰ جفت آغازگر SSAP روی ۱۰۸ ژنوتیپ بومی و ۲۱ رقم زراعی گندم دوروم مطالعه کردند. میزان محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها بین ۰/۱۸ تا ۰/۴۱ متغیر بود. با استفاده از روش رگرسیون چند گانه (گام به گام) ارتباط بین هر کدام از ۶ صفت زراعی و ۷۴ نشانگر چند شکل مورد بررسی قرار دادند که در نهایت ۳۲ نشانگر SSAP رابطه معنی داری با حداقل یکی از ۶ صفت زراعی داشتند آنها نتیجه گرفتند که می‌توان از آنها در اصلاح وابسته به نشانگر بهره گرفت.

جدول ۵- تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفت و درصد تغییراتی از صفات که توسط این نشانگرها توجیه می‌شود.

صفت	تعداد نشانگر (T)	R^2 Max (%)	R^2 T (%)
تعداد سنبلچه	۱۰	۳۵	۷۱
ارتفاع	۷	۴۵	۶۵
تعداد گره	۱۴	۳۲	۶۳
بیرون زدگی رادیکل	۴	۰/۴۲	۱۳
طول رادیکل	۳	۲۳	۳۴
طول خوش	۴	۲۳	۳۴
تعداد برگ	۳	۰/۸۲	۱۴
طول دانه	۱۰	۴۹	۷۷
عرض دانه	۱۰	۶۱	۸۱
تعداد دانه در خوش	۱۰	۳۵	۷۱

(T) تعداد نشانگرهای آگاهی بخش برای صفات کمی

 $(R^2 \max)$ بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر برای صفات کمی (درصد) $(R^2 T)$ مجموع کل ضریب تبیین نشانگرها آگاهی بخش برای صفات کمی (درصد)

جدول ۶- جزئیات تجزیه واریانس رگرسیون گام به گام ۷۱ باند چند شکل نشانگر ریز ماهواره و ۱۰ صفت کمی

SSR Complete	df	SSR Max	df	منبع واریانس	صفت
۵۹/۵۷**	۱۱۳	۲۹۱/۴۴**	۱	(X) رگرسیون	تعداد سنبلاج
۲	۱۰۴	۴/۵۳	۱۰	(Y) خطأ	
۳۳۲۹/۳۴**	۱۱۳	۱۵۹۶۵**	۱	(X) رگرسیون	ارتفاع
۱۰۵/۷۸	۱۰۷	۱۶۰/۱۲	۷	(Y) خطأ	
۹/۷۹**	۱۱۳	۴۰/۸۹**	۱	(X) رگرسیون	تعداد گره
۰/۴۳	۱۰۶	۰/۷۳۵	۸	(Y) خطأ	
۷۲/۶۱۷**	۱۱۳	۸۷/۳۹ ns	۱	(X) رگرسیون	بیرون زدگی رادیکل
۱۳/۰۱۷	۱۱۰	۱۴/۴۶	۴	(Y) خطأ	
۶۳۷/۹۸**	۱۱۳	۱۲۹۲/۷۳**	۱	(X) رگرسیون	طول رادیکل
۳۰/۳۱	۱۱۱	۳۵/۲۷	۳	(Y) خطأ	
۲۶/۴۷**	۱۱۳	۶۹/۳۴**	۱	(X) رگرسیون	طول خوش
۱/۶۸	۱۱۰	۱/۹۶۴	۴	(Y) خطأ	
۱۴/۴۳**	۱۱۳	۲۳/۹۱**	۱	(X) رگرسیون	تعداد برگ
۲	۱۱۱	۲/۱۴	۳	(Y) خطأ	
۳۳/۵۱**	۱۱۳	۱۷۱/۳۰**	۱	(X) رگرسیون	طول دانه
۰/۶۸۸	۱۰۶	۱/۵	۸	(Y) خطأ	
۵/۰۲۱**	۱۱۳	۳۷/۷۰**	۱	(X) رگرسیون	عرض دانه
۰/۱	۱۰۴	۰/۲۰۳	۱۰	(Y) خطأ	
۲۳۸/۲۸**	۱۱۳	۱۱۶۵/۷۹**	۱	(X) رگرسیون	تعدا دانه در خوش
۸	۱۰۴	۱۸/۱۳	۱۰	(Y) خطأ	

(SSR max) میانگین مربعات مارکری که بیشترین R^2 برای صفت مورد نظر را دارد.

(SSR complete) میانگین مربعات مجموع کل نشانگرها برای صفت مورد نظر.

ns * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و یک درصد.

مکان‌های کروموزومی را شامل شده‌اند. برای درک این موضوع تهیه نسل‌های تفرق و نقشه‌های پیوستگی ضروری می‌باشد. البته برای اطمینان از وجود ارتباط پیوستگی بین نشانگرها و صفات مختلف زراعی نیاز به تهیه جمعیت‌های تفرق مانند F2، RIL و DH می‌باشد تا بر اساس این جمعیت‌ها نقشه‌های پیوستگی تهیه و سپس محل مکان‌های کنترل کننده این صفات بر روی کروموزوم‌ها مشخص شوند (۲). مسلم‌مادر تهیه نقشه‌های پیوستگی اطلاعات نشانگری بدست آمده در این تحقیق در جهت انتخاب آغازگرها مناسب مفید خواهد بود. چنان‌که بعضی از این نشانگرها جهت انجام کارهای اصلاحی در گونه‌های دیگر استفاده شده اما در دسترس نبودن جمعیت‌های در حال تفرق جهت

کراکمن و همکاران (۲۰۰۴) با مطالعه ۱۴۶ رقم جو بهاره با استفاده از ۲۳۶ نشانگر AFLP نشان دادند که ۲۰ تا ۴۰ نشانگر تا ۱۸ تا ۵۸ درصد تغییرات این دو صفت عملکرد و پایداری آن را تبیین می‌کنند (۱۴). با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت آغازگرها ای HvHVA1، Bmac0306، Gms003، HVM20 آغازگرها در نواحی کد کننده صفات زراعی بودند. به همین دلیل تغییرات بیشتری از صفات مورد بررسی را نشان دادند. همچنان‌که نتایج نشان می‌دهد برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط نشان می‌دهند، با توجه به وجود همبستگی معنی‌دار بین صفات مورفو‌لولژیکی می‌توان دریافت که برخی از این صفات پیوستگی بسیار نزدیکی با همدیگر دارند و یا احتمالاً به صورت پلیوتروپی

6. Gabor T., Z. Gaspar and J. Jurka. (2000). Microsatellite in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome Research*. 10: 967-981.
 7. Gebhardt, C., Ballvora, A., Walkemeier, B., Oberhagemann, P. and Schuler, K., (2004). Assessing genetic potential in germplasm collections of crop plants by marker-trait association: A case study for potatoes with quantitative variation of resistance to late blight and maturity type. *Molecular Breeding*, 13: 93-102.
 8. Gupta P. K., H. S. Balyan, P. C. Sharma and B. Ramesh. (1996). Microsatellite in plants: a new class of molecular marker. *Curr. Sci.* 70: 45-54.
 9. Gupta P. K., R. K. Varshney. (2000). the development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. *Euphytica*. 113: 163-185
 10. IBPGR, 1981, Revised Descriptors for Wheat. IBPGR, Rome, Italy.
 11. Kadri K., R. Abdellawi., H. Cheikh-Mhammed. (2009). Genetic diversity in barley genetic diversity in local Tunisian barley based on RAPD and SSR analysis. *Biological Diversity and Conservation*. 2(1): 27-35.
 12. Kantety R.V., M. La Rota, D. E. Mattews and M.E. Sorrells. (2002). Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, Maize, rice, sorghum and wheat. *Plant Molecular Biology*. 48: 501-510
 13. Khelestkina E.K., E.G. Pestsova, E. Salina, M. S. Roder, V. S. Abruzova, S. F. Koval and A. Borner. (2002). Genetic mapping and tagging of wheat Genes using RAPD, STS and SSR markers. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 7: 795-802.
 14. Kraakman, A.T.W., Niks, R.E., Van den berg, P.M.M.M., Stam, P., and Van Eeuwijk, F.A., (2004) .Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168: 435-446.
 15. Maccaferri, M., Sanguineti, M. C., Noli, E. and Tuberosa, R., (2005), Population structure and long-range linkage disequilibrium in a durum wheat elite collection. *Mol. Breed.*, 15: 271-289.
 16. Martinez, L., Caragnaro, P., Masuekki, R. And Rodriguez, J., (2003), Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Journal of Biotechnology*. 6: 241-250.
 17. Mcharo, M., Labonte, D. R., Oard, J. H., Kays, S. J. and McLaurin, W. J., (2004), Linking quantitative traits with AFLP markers in sweet potatoes using discriminant analysis, *Acta Hort*. 637:285-293.
 18. Mwamburi, M. T., (2005). Associating molecular markers which phenotypes in sweet potatoes and liriopogons using multivariate statistical modeling, PhD dissertation Louisiana State Univ.
 19. Naghavi MR., M. Mardi., H.A. Ramshini. And B. Fazelinasab. (2004). Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD

نقشه‌یابی، در اختیار نبودن زمان کافی و نبود لینکاژ مناسب بین صفات زراعی و نشانگرهای ملکولی از جمله مهمترین محدودیت‌ها در زمینه شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات زراعی می‌باشد (۱۱). همچنین با استفاده از نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات زراعی از جمله اجزای عملکرد مخصوصاً در مورد نشانگرهای که مکان کروموزومی آنها مشخص می‌باشد می‌توان با تولید لاین‌های با جایگزینی کروموزومی، صفات زراعی مورد نظر را در یک لاین فاقد آن صفت از طریق تلاقي‌های فی مابین انتقال داد. که با انجام آنالیز ارتباطی می‌توان تا حدودی بر این محدودیت‌ها فائة آمد (۱).

شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های بزرگ اثر برای صفات مورد نظر در سال‌های اخیر از طریق ایجاد جمعیت‌های در حال تفرق همچون RIL، DH و F2 انجام گرفته است. می‌توان باند نشانگر(ها) آگاهی بخش شناسایی شده را که R^2 بالای دارند را از روی ژل جدا و همسان سازی نمود. سپس توالی شناسایی شده را در پایگاه‌های اطلاعاتی با توالی‌های موجود هم رديفی نمود، همچنین می‌توان از روی توالی مورد نظر (Alignment) آغازگرهای اسکار (SCAR) را برای صفات مورد نظر طراحی کرد (۱).

منابع

- رشیدی منفرد س، مردی م، حسین زاده ا، و نقوی م ر. (۱۳۸۷) تجزیه ارتباطی بین صفات زراعی مهم و نشانگرهای رتروترانسپوزنی SSAP در نمونه های گندم دوروم، فصل نامه علمی-پژوهشی ژنتیک نوین، دوره سوم، شماره ۲: ۳۶-۲۹.

 2. Bassam B., J.G. Caetano-Anolles. and P.M. Gressho. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochemistry*. 19: 680-683.
 3. Bothmer von R., N. Jacobsen., C. Baden., R. B. Jrgensen and I. Linde Laursen. (1991). An ecogeographical study of genus *Hordeum*. International Board for Plant Genetic Resources, Rome. 127pp.
 4. Breseghezzo, F. and Sorrells, M. E., (2005), Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, DOI 10.1534/genetics.105.044586.
 5. Flavell, A.J., E. Dunbar., R. Anderson., S.R. Pearce. R. Hartley and A. Kumar. (1992). Ty1-copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. *Nucleic Acids Res.* 20: 3639-3644.

- and SSR markers. Iranian Journal of Biotechnology, 2: 195 – 202.
20. Pearce, S.R., M. Knox., T.N.H. Ellis., A.J. Flavell and A. Kumar. (2000). Pea Ty1-copia group retrotransposons: transitional activity and use as markers to study genetic diversity in *Pisum*. Mol. Gen. Genet. 263: 898–907.
21. Röder M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal (1998). A microsatellite map of wheat. Genetics 149:2007–2023.
22. Roldan-ruiz, L., Vaneeuwyk, F. A., Gilliland, T, J, Dubreil, P., Dillman, c., (2001). A comparative study of molecular and morphological method of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theoretical and Applied Genome, 103(8): 1138-1150.
23. Roy JK, Bandopadhyay R, Rustagil S, Bailyan HS and Gupta PK. (2006). Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. Current science 90:5-10.
24. Saghai-Marcoof M.A., K. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. PNAS. 81:8014-8018.
25. Thiel T., W. Michalek, R. K. Varshney and A. Graner. (2003). Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet., 106:411-422
26. Virk, P.S., Ford-Lloyd, B.V., Jackson, M.T., Pooni, H.S., Clemeno, T.P., and Newbury, H.J., (1996). Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. In: IRRI, Rice genetics III, Proceedings of The Third International Rice Genetics Symposium, Manilla, Philippines, 16(20): 307-316.

