دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های سورگوم با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

صغری خرمی‌پور[۱]، مسعود دهداری[۲] و رضا امیری فهلیانی[۳]

۱ و ۳- دانشجوکارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه یاسوج
۲- دانشیار، دانشگاه یاسوج، (نویسنده مسول: adehdari2000@yahoo.com)
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۸

چکیده

سورگوم از نظر میزان تولید در بین غلات در درجه پنجم اهمیت بعد از گندم، برنج، ذرت و جو قرار دارد. تعیین میزان تنوع ژنتیکی در مواد گیاهی گام اولیه برای شناسایی، حفظ و نگهداری ذخایر توارثی و طراحی برنامه‌های اصلاحی می‌باشد. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در ۱۰ ژنوتیپ سورگوم، از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره با توجه به مطالعات قبلی استفاده گردید. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که متوسط محتوای اطلاعات چند شکلی برای آغازگرهای مورد ارزیابی ۰/٤۸ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای تمامی آغازگرها ۰/۲۹ بود. بیشترین میزان شاخص شانون که نشان دهنده تنوع بین جمعیتی است، مربوط به مکان ژنی XTxp-312 بود. همچنین مکان‌های ژنی XTxp-287 و XTxp-354 دارای کمترین میزان شاخص شانون (۰/۳۷) بودند. آغازگرXTxp-312 بیشترین مقدار شانون، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده و نیز بیشترین تعداد آلل مؤثر را به خود اختصاص داد، بنابراین این آغازگر تنوع بین ارقام مورد مطالعه را خیلی بهتر از سایرآغازگرها نشان داد و به عبارت دیگر ارقام از نظر این مکان تنوع بیشتری را نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA ارقام سورگوم را در ٤ گروه اصلی قرار داد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، دو مؤلفه اول به ترتیب ۵۰/۰۸ و ۱۰/۰۸ (مجموعاً ٦۰/۱۵٪) از واریانس کل را توجیه کردند. یعنی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده دارای توزیع نسبتاً مناسبی در سطح ژنوم بوده‌اند. به طور کلی نتایج این پژوهش حاکی از تنوع بین ژنوتیپ‌های سورگوم بر اساس نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده بود که نشان می‌دهد می‌توان از این تنوع در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آلل موثر، تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مولفه اصلی، شاخص شانون، محتوای اطلاعات چند شکلی

مقدمه

سورگوم با نام علمی (*Sorghum bicolor* L.)، گیاهی ۴ کربنه، یک ساله و از خانواده‌ی غلات می‌باشد. سورگوم از نظر میزان تولید در بین غلات در درجه پنجم اهمیت بعد از گندم، برنج، ذرت و جو قرار دارد (۳۱،۱۱). منابع ژنتیکی گیاهی، علاوه بر زیربنای توسعه کشاورزی، به‌عنوان منبعی از سازگاری ژنتیکی، همچون سپری در برابر تغییرات محیطی عمل می‌کنند. این منابع تأمین‌کننده مواد خام ژنتیکی (ژن‌ها) هستند که درصورت بهره‌برداری صحیح از آن‌ها، واریته‌های جدید و مطلوب‌تر گیاهی را می‌توان تولید کرد (۱). جهت افزایش تولید و استفاده بهینه از منابع ژنتیکی و تنوع موجود در آن‌ها روش‌های معمول اصلاحی به تنهایی کافی نبوده و به نشانگرهای مولکولی به عنوان مکمل نیاز دارند. ویلستیک و همکاران (۳۵) به منظور گزینش و معرفی ژنوتیپ‌های جدید به زارعین، شناخت تنوع ژنتیکی ارقام، انتخاب والدین مناسب، تلاقی والدین با فاصله ژنتیکی زیاد به‌منظور ایجاد تفرق و تنوع بیشتر را ضروری و حائز اهمیت فراوان دانستند. از آنجا که موفقیت هر به‌نژادگر نیز به تعیین تنوع و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی بستگی دارد، لذا ضروری است که تنوع موجود در جامعه گیاهی مورد مطالعه قرار گیرد (۲۳).

به علت محدود بودن تعداد نشانگرها و تأثیر عوامل محیطی و مراحل رشدی گیاه بر نشانگرهای مورفولوژیکی و پروتئینی، امروزه نشانگرهای مبتنی بر DNA به عنوان ابزارهای کارآمد و مکمل برای تعیین سطح تنوع و تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها به‌کار می‌روند (۴،۲۱). در بین این روش‌ها، نشانگرهای DNA دقیق‌ترین و مطمئن‌ترین نشانگرها محسوب می‌شوند (۲۲). مانگو و همکاران (۱۹) نشان دادند که به علت قابلیت تغییر در تعداد واحدهای تکراری، ریزماهواره‌ها بسیار چند شکل بوده و به همین دلیل به عنوان نشانگر مهمی در نقشه‌یابی ژنتیکی و مطالعات جمعیتی برای بسیاری از موجودات مورد توجه هستند. در میان نشانگرها ریزماهواره به دلیل داشتن مزایایی همچون چند شکلی زیاد، هم بارزی، پراکندگی یکنواخت در سرتاسر ژنوم، دقت بالا و نشان دادن حداکثر اختلاف بین ارقام، به طور مؤثرتری در مطالعات ژنتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی در خانواده‌ی غلات استفاده شده‌اند، که می‌توان به مطالعات آلوالا و همکاران (۲)، دهقان نیری و همکاران (۹)، هدایتی مرزوعی و و سمیع‌زاده لاهیجی (۱۳)، ماتوس و هایز (۲۰)، سنیور و همکاران (۲۸)، شاروپووا و همکاران (۲۹) و تمنیخ و همکاران (۳۲) اشاره نمود. تا کنون به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در سورگوم از نشانگرهایی نظیر SSR، RFLP و RAPD استفاده شده است (۳، ۸، ۱۶). به عنوان مثال جی و همکاران (۱۵) از نشانگرهای SSR جهت تجزیه ژنتیکی منابع سورگوم و مکان‌یابی بعضی از صفات خاص در این گیاه استفاده نمودند. آن‌ها در مطالعه ۲۰ رقم سورگوم گزارش کردند که دامنه محتوای اطلاعات چند شکلی بین ۰/۰۶۴ تا ۰/۷۴۶ با متوسط ۰/۴۸۷ و همچنین هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین صفر تا ۰/۸ با میانگین ۰/۱۳۹ می‌باشد. دو شاخص هتروزیگوسیتی مورد انتظار و شاخص شانون، بیانگر ترکیب ژنتیکی متفاوت و تنوع بالا در جمعیت‌ها می‌باشند. علاوه بر

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

این دجی و همکاران (۱۰) در مطالعه‌ای از نشانگرهای ریزماهواره به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین ژنوتیپ‌های سورگوم استفاده نمودند و تنوع قابل ملاحظه‌ای در ۵ مکان ریزماهواره‌ای پیدا کردند. میانگین تعداد آلل‌ها درون ژنوتیپ‌ها ۲/۴ و در کل نمونه‌ها ۱۹/۲ گزارش شد. آن‌ها مفید بودن نشانگرهای ریزماهواره‌ای را در تعیین تنوع ژنتیکی ثابت نمودند.

همه ساله تعداد زیادی ارقام سورگوم در دنیا تولید و معرفی می‌گردند که برای بهره‌برداری بهینه، توصیف تنوع ژنتیکی آنها ضروری است. به همین منظور این پژوهش با بکارگیری ۱۰ ژنوتیپ سورگوم دانه‌ای وارداتی و ۱۰ جفت نشانگر SSR طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی میزان تنوع ژنتیکی میان ۱۰ ژنوتیپ مختلف سورگوم (جدول ۱)، از ۱۰ جفت آغازگر SSR با توجه به مطالعات قبلی (۳۰) استفاده شد (جدول ۲). بذور و ژنوتیپ‌ها از مراکز تحقیقاتی ایران و از مؤسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی (IPK)[1] در کشور آلمان تهیه شدند. برای تهیه نمونه‌های برگی، از هر رقم ۱۲ عدد بذر در گلدان کاشته شد و پس از گذشت سه هفته نمونه‌های برگ گیاهچه‌های جوان تهیه و به فریزر ۴۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند و تا زمان استخراج DNA در این دما نگهداری شدند.

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB تغییر یافته انجام گرفت (۲۵). کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با استفاده از روش اسپکتوفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ در صد تعیین شد (۳). نمونه‌های DNA پس از تعیین غلظت، به غلظت ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند و DNAهای ژنومی با کیفیت مطلوب برای انجام واکنش‌های PCR مورد استفاده قرار گرفتند. تکثیر DNA ژنومی با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و با دستگاه ترموسایکلر PCR-MJ Mini-BIO (RAD, Germany) انجام شد.

بر اساس آزمون و خطا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با اجزای ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۰/۵ میکرومول dNTP، ۰/۶ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ میکرومول، ۰/۳ میکرومول Polymerase Taq DNA (تهیه شده از شرکت سپاهان طب اصفهان) و بافر 1X PCR تهیه شده از شرکت سپاهان‌طب اصفهان، انجام شد. برنامه تکثیر به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه برای واسرشته سازی اولیه و به دنبال آن ۳۵ چرخه شامل سه مرحله: ۹۴ درجه به مدت سی ثانیه، ۶۶-۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و نهایتاً مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. محصول حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز (۱/۵ درصد) Top vision آشکارسازی شد. رنگ آمیزی ژل‌ها با اتیدیوم بروماید (1µg/ml) صورت گرفت. مرحله آخر عکس‌برداری از ژل با اشعه UV و توسط دستگاه ژل‌داک (Gel Logic QUANTUM ST4, Germany) صورت گرفت.

جدول ۱ – مشخصات ژنوتیپ‌های سورگوم مورد مطالعه

Table 1. Description of sorghum genotypes

ردیف	ژنوتیپ	نام واریته	منشأ	محل جمع آوری
۱	SOR 808		ایتالیا	IPK
۲	SOR 834		ایتالیا	IPK
۳	SOR 857		ایتالیا	IPK
۴	SOR 1003	Odesskaja25	اتحادیه‌ی شوروی سابق	IPK
۵	SOR 1006	JantarKrasnyi	اتحادیه‌ی شوروی سابق	IPK
۶	SOR 1009	Jubilejnyi	اتحادیه‌ی شوروی سابق	IPK
۷	SOR 1011	Kamysinskoje5	اتحادیه‌ی شوروی سابق	IPK
۸	MTS			ایران
۹	HTS			ایران
۱۰	LTS			ایران

1-Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

جدول ۲- توالی‌های رفت و برگشت ده جفت آغازگر ریزماهواره مورد استفاده
Table 2. Backward and forward sequences of the 10 studied SSR markers.

ردیف لاین	آغازگرها	توالی آغازگر رفت	توالی آغاز گر برگشت
۱	Xtxp270	AGCAAGAAGAAGGCAAGAAGAAGG	GCGAAATTATTTTGAAATGGAGTTGA
۲	Xtxp335	TATTTCCTCTTGAAAGAATCAGGG	TATTCATCGAGCAAAAGGCA
۳	Xtxp274	GAAATTACAATGCTACCCCTAAAAGT	ACTCTACTCCTTCCGTCCACAT
۴	Xtxp20	TCT CAA GGT TTG ATG GTT GG	ACC CAT TAT TGA CCG TTG AG
۵	Xtxp354	TGGGCAGGGTATCTAACTGA	GCCTTTTTCTGAGCCTTGA
۶	Xtxp312	CAGGAAAATACGATCCGTGCCAAGT	GTGAACTATTCGGAAGAAGTTTGGAGGAAA
۷	Xtxp331	AACGGTTATTAGAGAGGGAGA	AGTATAATAACATTTTGACACCCA
۸	Xtxp287	GCAAGCGAGCTGACTTATGTAACGAGA	AGTATAATAACATTTTGACACCCA
۹	Xtxp258	CACCAAGTGTCGCGAACTGAA	GCTTAGTGTGAGCGCTGACCAG
۱۰	Xtxp285	ATTTGATTCTTCTTGCTTTGCCTTGT	TTGTCATTTCCCCCTTCTTTCTTTT

تجزیه و تحلیل مشاهدات با استفاده از نرم‌افزارهای NTSYS PC 2.02 و Popgen32 صورت پذیرفت (۱۲). شاخص محتوای اطلاعات چند شکلیPIC با استفاده از فرمول PIC= 1- ΣPi محاسبه شد (۶). در این فرمول Pi فراوانی آلل i م در یک مکان مشخص می‌باشد. تعداد آلل‌های مشاهده شده و تعداد آلل‌های مؤثر، براساس روش کیمورا و کراو (۱۷) و همچنین هتروزایگوسیتی مورد انتظار با استفاده از روش لون (۱۸)، با استفاده از نرم‌افزار Popgene 1.32، برای تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه محاسبه شدند.

به منظورگروه‌بندی ارقام براساس داده‌های SSR، با استفاده از نرم‌افزار NTSYS V.PC 2/02، ابتدا ضریب تشابه دایس، جاکارد و تطابق ساده برای ارقام مورد مطالعه محاسبه گردید، بعد از آن با مقایسه ضریب تشابه هر سه ماتریس با ضریب کوفنتیک مربوطه، ضریب تشابه جاکارد (ضریب ۰/۸۵) و روش UPGMA به عنوان مناسب‌ترین روش برای ترسیم دندروگرام انتخاب گردیدند.

نتایج و بحث

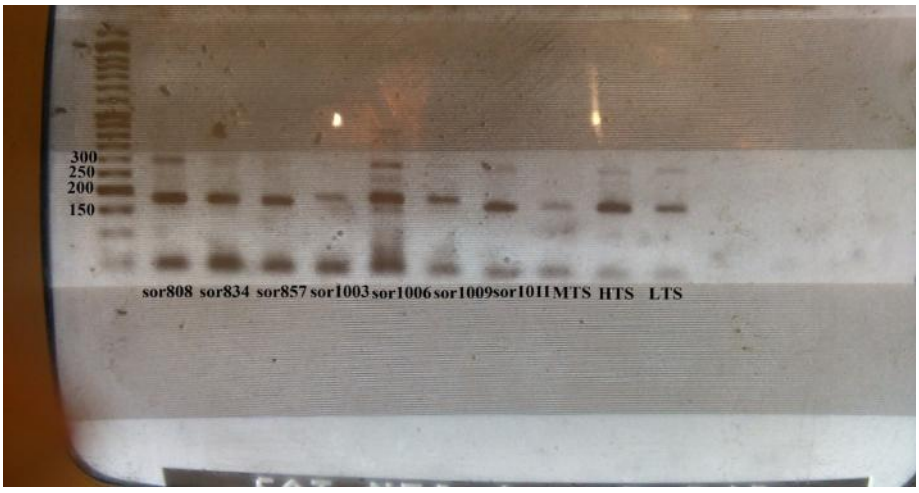
با بررسی تعداد نوارهای چندشکل، آغازگرهای مطلوب شناسایی و برای کلیه نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. از ۱۰ جفت آغازگر SSR، دو جفت از آغازگرها (Xtxp274 و Xtxp331) هیچ گونه نواری تولید نکردند و یا اینکه محصولات تکثیر شده آنها وضوح و قابلیت تکرارپذیری کافی نداشتند. همچنین آغازگر XTxp-20 به صورت تک‌شکلی بود و در همه ژنوتیپ‌ها نوار مشابه تولید نمود. در حالیکه ۸ جفت آغازگر SSR دیگر مورد استفاده، الگوی نواری چند شکلی را در ژنوتیپ‌های مورد بررسی تکثیر کردند و در مجموع ۱۶ نوار تولید کردند که در نهایت ۸۰ درصد نوارها چندشکلی نشان دادند. شکل (۱) الگوی نواری مربوط به یکی از آغازگرهای مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

بررسی تعداد آلل‌های مشاهده شده حاکی از وجود دو آلل در تمامی مکان‌های ژنی بود. همچنین پس از بررسی آلل‌ها مشاهده شد که برخی از آغازگرها در بعضی از ژنوتیپ‌ها هیچ نواری را تکثیر نمی‌کنند که با توجه به سالم بودن DNA و چند بار تکرار آزمایش، به نظر می‌رسد که در ژنوتیپ‌های مذکور، وقوع جهش در یک یا دو طرف ناحیه تکرار شونده مانع از چسبیدن آغازگرها و تکثیر ناحیه بین دوآغازگر شده است.

تعداد آلل‌های موثر در مکان‌های ژنی در محدوده ۱/۲۸ تا ۱/۹۶ با میانگین ۱/۶۴ بود (جدول ۳). تعداد آلل موثر در نشانگر XTxp-312 بیشتر از سایر نشانگرها بود که احتمالاً نشان‌دهنده وجود تنوع بیشتر در این نشانگر است. همچنین از ۷ مکان تکثیر شده بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به مکان XTxp-312 و معادل ۰/۸۸ و کمترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به مکان‌های XTxp-354، XTxp-287، XTxp-258 و XTxp285 است که میزان آن معادل صفر بود (جدول ۳). از سویی میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده در تمام مکانهای ژنی برابر ۰/۲۹ بود. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی قابل انتظار مربوط به مکان ژنیXTxp-312 و معادل ۰/۵۲ و کمترین آن مربوط به مکان‌های ژنیXTxp-287 و XTxp-354 معادل ۰/۲۳ بود (جدول ۴). میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مکان‌های ژنی XTxp-354، XTxp-287، XTxp-258 و XTxp285 بیشتر از هتروزیگوسیتی مشاهده شده بود (جدول ۳). هتروزیگوسیتی پایین مشاهده شده ممکن است در نتیجه‌ی خودناسازگاری طبیعی (۳۴) و یا رفتار دیپلوئید گیاه (۳۶) باشد که با توجه به تعداد کم ژنوتیپ و نشانگر، این نتیجه دور از انتظار نیست. رولف و همکاران (۲۶)، تعداد ۱۰۰ رقم سورگوم را توسط ۲۱ نشانگر SSR مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصله بیانگر ۱۲۳ آلل با میانگین ۰/۳۷ آلل در هر جایگاه بود. با توجه به نتایج حاصله این محققین بیان کردند که SSRها برای تهیه نقشه‌های ژنی، بررسی جایگاه‌های صفات کمی و انتخاب صفات کمی توسط نشانگر کارایی بالایی دارند. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) که بیانگر عکس العمل تنوع و فراوانی آللی بین ژنوتیپ‌ها است، از یک مکان ژنی به مکان دیگر متفاوت و برای همه نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی در این آزمایش یکسان نبود. در این آزمایش، میزان اطلاعات چند شکل برای مکان‌های ژنی مختلف بین ۰/۱۹ تا ۰/۷۵ با میانگین ۰/۴۸ بود (جدول ۳). بیشترین میزان محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) مربوط به مکان ژنی XTxp-270 معادل ۰/۷۵ و کمترین میزان PIC مربوط به مکان ژنی XTxp-335 معادل ۰/۱۹ بود (جدول ۳). پائین بودن شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای نشانگر XTxp-335 بیانگر نزدیکی ژنوتیپ‌ها از نظر آن توالی می‌باشد. دلیل دیگر کمتر بودن مقدار PIC در این نشانگر ممکن است به علت نرخ جهش بالاتر در توالی‌های

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

تکراری دی نوکلئوتیدی باشد (۳۳). مقدار PIC تابعی از تعداد و فراوانی آلل است. امیدبخش و همکاران (۲۴) مطالعه‌ای را به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم گندم دوروم با استفاده از توالی‌های تکراری ساده انجام دادند. در این تحقیق ۱۴۰ ژنوتیپ مربوط به۳۷ جفت از این نشانگرها چندشکلی نشان دادند که در مجموع ۲۴۵ آلل چندشکل متفاوت در دامنه‌ای بین ۱۷-۲ آلل و با متوسط ۶/۹ آلل در هر جایگاه ژنی تکثیر شدند. تجزیه خوشه‌ای نیز با استفاده از روش دورترین همسایه ژنوتیپ‌ها را در دو گروه قرار دادند. پیرسدی و همکاران (۲۵) در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ۳۵ لاین مشتق شده از گندم سرداری را با استفاده از ۶۰ نشانگر ریزماهواره بررسی کردند که ۴۵ تای آن‌ها چند شکلی نشان دادند. نتایج تجزیه‌ی خوشه‌ای، لاین‌های مورد مطالعه را به ۵ گروه با فاصله‌های ژنتیکی متفاوت تقسیم‌بندی کرد. ژانگ و همکاران (۳۶) در بررسی ۵۷ رقم جو با استفاده از ۲۱ جفت آغازگر ریزماهواره متوسط تعداد الل‌ها را ۱۷۶ و متوسط میزان اطلاعات چند شکلی را ۰/۸۴۹ گزارش کردند. شیهزاد و همکاران (۳۰) حدود ۳۲۰ رقم سورگوم را توسط ۳۸ نشانگر SSR مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصله شامل ۱۴۶ آلل با هتروزیگوسیتی ۰/۲۱۷ و میزان PIC حدود ۸۲/۲ درصد بود. جی و همکاران (۱۵) با مطالعه ۲۰ ژنوتیپ سورگوم توسط ۶۳ جفت نشانگر SSR میانگین آلل‌ها در جایگاه را ۲/۷۶ و میانگین PIC را ۰/۴۸۷ گزارش کردند. نتایج حاکی از چندشکلی بالای نشانگر SSR در میان سورگوم‌های مورد مطالعه بود. در مطالعه کیمانی و همکاران (۱۶) بر روی ۱۳۴ ژنوتیپ سورگوم توسط ۳۰ نشانگر ریزماهواره نیز، تعداد آلل به‌دست آمده از ۲ تا ۲۲ آلل متغیر بود. آن‌ها در مجموع ۲۵۹ آلل با میانگین ۸/۹۳ آلل در هر جایگاه را گزارش دادند. همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۵۹ و میانگین PIC نیز ۰/۵۵ بود.



شکل ۱- الگوی نواری ۱۰ رقم سورگوم با آغازگر Xtxp258 (آگارز ۱/۵ درصد از نوع Top Vision پس از ۴۰ دقیقه برقراری جریان).
Figure 1. The roll pattern of 10 sorghum primer Xtxp258 (agarose 1.5 percent of Top Vision after 40 second flow) the first left column is related to marker and other columns are related to genotypes.

جدول ۳- شاخص‌های تنوع ژنتیکی به دست آمده در ژنوتیپ‌های سورگوم با استفاده از ۷ مکان ژنی SSR
Table 3. Genetic diversity indices of 7 SSR markers analysis in sorghum genotypes

آغازگر	شاخص شانون	تعداد آلل مؤثر	تعداد آلل مشاهده شده	محتوای اطلاعات چندشکلی	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هموزیگوسیتی مشاهده شده
XTxp354	۰/۳۷۶۸	۱/۲۸۰	۲	۰/۴۱	۰/۲۳۳۳	۰/۷۶۶۷	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰
XTxp312	۰/۶۸۵۳	۱/۹۶۹	۲	۰/۳۶	۰/۵۲۵۰	۰/۴۷۵۰	۰/۸۷۵۰	۰/۱۲۵۰
XTx0p287	۰/۳۷۶۸	۱/۲۸۰	۲	۰/۵۰	۰/۲۳۳۳	۰/۷۶۶۷	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰
XTxp270	۰/۵۰۰۴	۱/۴۷۰	۲	۰/۷۵	۰/۳۵۵۶	۰/۶۴۴۴	۰/۴۰۰۰	۰/۶۰۰۰
XTxp335	۰/۶۶۸۲	۱/۹۰۶	۲	۰/۱۹	۰/۵۰۳۳	۰/۴۹۶۷	۰/۷۷۷۸	۰/۲۲۲۲
XTxp258	۰/۶۷۳۰	۱/۹۲۳	۲	۰/۵۵	۰/۵۰۳۳	۰/۴۹۴۷	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰
XTxp285	۰/۵۹۸۳	۱/۶۸۸	۲	۰/۶۳	۰/۴۳۹۶	۰/۵۶۰۴	۰/۰۰۰۰	۱/۰۰۰۰

بیشترین میزان شاخص شانون که نشان دهنده تنوع بین جمعیتی است، مربوط به مکان ژنی XTxp-312 بود (جدول ۳). همچنین مکان‌های ژنی XTxp-287 و XTxp-354 دارای کمترین میزان شاخص شانون (۰/۳۷) بودند (جدول ۳). مکان‌های ژنی که میزان شاخص تنوع شانون در آنها بالاتر باشد تنوع بیشتر بین ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهند. آغازگر XTxp-312 بیشترین مقدار شانون، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده و نیز بیشترین تعداد آلل مؤثر را به خود اختصاص داده است (جدول ۳)، بنابراین آغازگر XTxp-312 تنوع بین ارقام مورد مطالعه را نسبت به سایر آغازگرها بهتر

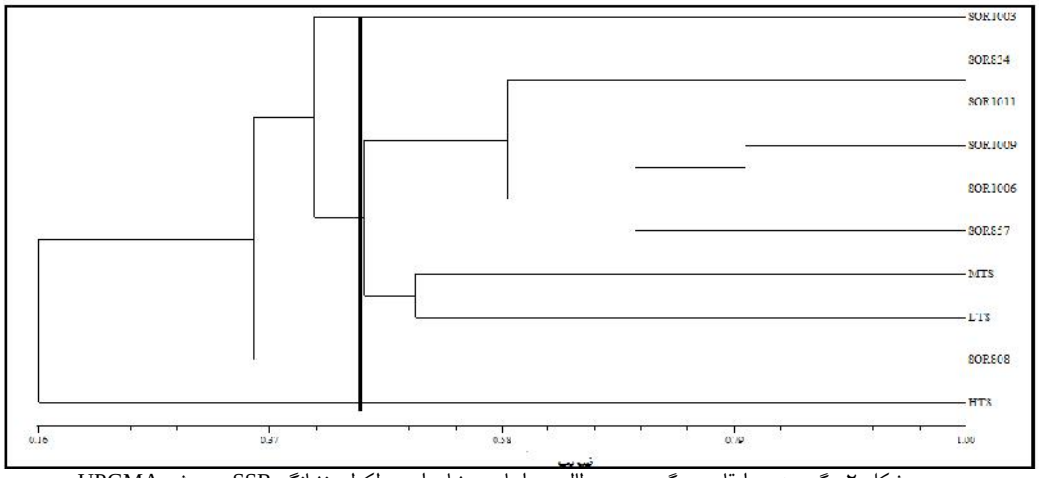
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

نشان می‌دهد. بعبارت دیگر ارقام از نظر این مکان تنوع بیشتری نشان دادند. بهمن‌کار (۴) با بررسی تنوع بین ۲۰ رقم گلرنگ توسط نشانگر SSR نشان داد که میانگین محتوای چند شکلی ۰/۳۳، هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۲۳ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۵۳ بود. سلوشیا و همکاران (۷)، نیز ۵۴ آغازگر SSR را در گیاه کلزا مورد استفاده قرار دادند و ۱۲۲ نوار قابل نمره‌دهی مشاهده نمودند که تعداد ۷۷ نوار از این ۱۲۲ نوار، چند شکلی نشان دادند. بنابراین درصد چندشکلی ۷۱/۰۸ درصد بود که بیانگر تنوع ژنتیکی بالا در میان این‌گونه‌ها بوده است. هوگو و همکاران (۱۴) با بررسی تنوع بین ۲۰ رقم از ارقام اتیوپی سورگوم توسط نشانگر SSR، ۲۸۹ آلل با میانگین محتوای چند شکلی ۰/۷۸، هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۲۳ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۷۸ را گزارش کردند. که نتایج حاصله نشان دهنده وجود تنوع بالا در سورگوم‌های اتیوپی جهت بکارگیری در برنامه‌های اصلاحی سورگوم بود. همچنین آغازگر XTxp-331 برای تعیین آلل‌های کمیاب شناسایی شده است زیرا شاخص تنوع ژنی کمتر از ۰/۵ را در تمام جمعیت مورد مطالعه سورگوم داشته است (۳۰).

بر اساس دندروگرام حاصل از داده‌های آغازگر SSR، ۱۰ رقم سورگوم در ۴ گروه متفاوت قرار گرفتند (شکل ۱). نتایج حاصل نشان داد که تنها ژنوتیپ Sor1003 در خوشه اول قرار گرفت. در گروه دوم ژنوتیپ‌های Sor834، Sor1011، Sor1009، Sor1006، Sor857، MTS، LTS قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های Sor1011، Sor1009، Sor1006، SOR834 و SOR857 ارسالی از آلمان و ۲ ژنوتیپ MTS و LTS از ایران جمع‌آوری شده بودند. به نظر می‌رسد این رقم‌ها از نظر ژنتیکی شباهت زیادی با هم دارند. در گروه سوم ژنوتیپ Sor808 به تنهایی و در گروه چهارم ژنوتیپ HTS در گروه مجزا قرار گرفتند. هدف از تجزیه خوشه‌ای، گروه‌بندی افراد مورد مطالعه بر اساس تشابه یا تفاوت‌هایشان می‌باشد. افرادی که در یک گروه قرار می‌گیرند از نظر ژنتیکی مشابه بوده و افرادی که در دو طرف دندروگرام قرار می‌گیرند دارای اختلاف و تفاوت بیشتری از نظر ژنتیکی خواهند بود و از طرف دیگر امکان دورگ گیری بین ارقام با بیشترین تفاوت ژنتیکی، امکان ایجاد هتروزیس و تفکیک متجاوز بیشتر و یا امکان انتقال صفات نادر را خواهند داشت. لذا با توجه به این گروه‌بندی می‌توان ژنوتیپ‌های Sor1003 و HTS که بیشترین فاصله ژنتیکی را با هم دارند با اهداف اصلاحی خاص با هم تلاقی داد. جی و همکاران (۱۵) در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم سورگوم از طریق نشانگر SSR به کمک روش UPGMA آن‌ها را به ۶ گروه دسته‌بندی نمودند. آن‌ها تنوع زیادی در داخل و بین گروهها مشاهده کردند. شیهزاد و همکاران (۳۰) نیز ۳۲۰ رقم سورگوم را از طریق نشانگر SSR در ۳ گروه بزرگ دسته‌بندی نمودند.

در مجموع نتایج این پژوهش حاکی از وجود تنوع کافی بر اساس نشانگرهای ریزماهواره بکار رفته بود. اطلاعات ژنتیکی به دست آمده از نشانگرهای مولکولی در این مطالعه می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی نقش مهمی را ایفا کنند. با وجود اینکه در سایر مطالعات مشابه نیز تنوع وسیعی گزارش شده اما به چند دلیل از جمله تعداد کم ژنوتیپ‌ها، تعداد کم نشانگرهای ریزماهواره و متفاوت بودن نوع ژنوتیپ‌ها در این پژوهش شاخص‌های تنوع دارای اختلاف با سایر مطالعات بود. بنابراین پیشنهاد می‌گردد این نوع مطالعات با تعداد زیادی نشانگر و ژنوتیپ صورت پذیرد تا نتایج معتبرتری حاصل گردد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]



شکل ۲- گروه‌بندی ارقام سورگوم مورد مطالعه بر اساس مشاهدات مولکولی نشانگر SSR به روش UPGMA

Figure 2. Classification of sorghum genotypes based on SSR markers using UPGMA method

منابع

1. Abdmishany, C. and A.A. Shahnejat- Bushehri. 1997. Advanced Plant Breeding. Volume 1. Tehran University Press, 133 pp.
2. Alwala, S., A. Suman, J.A. Arro, J.C. Veremis and C.A. Kimbeng. 2006. Target region amplification (TRAP) for assessing genetic diversity in sugarcane germplasm collections. Crop Science, 46: 448-455.
3. Asghari, A., S. Mohammadi, A. Moghaddam, M. Thurchi, M. Dabbage and A. Mohammadinasab. 2006. Identification RAPD markers linked to cold resistanse QTLs in canola. Journal of Agricultural Science, 16: 213-223.
4. Babajanpour, A.A., G.A. Nematzadeh, E. Majidi, A. Ebrahimi, A. Hajipour, S.H.R. Hashemi and S.M. Alavi. 2009. Study of variation and genetic relationships among some rice varieties via agronomic traits and RAPD markers. Journal of Crop Breeding, 1: 38-49.
5. Bahmankar, M. 2013. Assessment of genetic diversity in different genotypes of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using morphological traits and SSR markers. M.Sc. Thesis. Shahid Chamran University.108 pp.
6. Botstein, D.R., L. White, M. Skolnick and R.W. Davis. 1980. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. American Journal of Humman Biology, 32: 314-331.
7. Celucia, S.U., C.R. Dela Peña and N.O.Villa. 2009. Genetic characterization of Brassica rapa chinensis L., B. rapa parachinensis (L.H. Bailey) Hanelt and B. oleracea alboglabra (L.H. Bailey) Hanelt using simple sequence repeat markers. Philippine Journal of Science, 138: 141-152.
8. Dean, R.E., J.A. Dahlbery, M.S. Hopkins, S.E. Mitchell and S. Kresovich. 1999. Genetic redundancy and diversity among orange accessions in the U.S. National Sorghum Collection as assessed with simple sequence repeat (SSR) markers. Crop Science, 39: 1215-1221.
9. DehghanNaieri, F., S. Abdmishani, A.M. Shakib, S.B.E. Seyede Tabatabayi and A. Bankesaze. 2005. Utilization of microsatellite markers for determining genetic relationships in maize inbred lines. Iranian Journal of Agricultural Science, 36: 43-39.
10. Dje, Y., M. Heuertz, C. Lefebyre and X. Vekemans. 2000. Assesment of genetic diversity within and among germplasm accessions in cultivated sorghum using microsatellite markers. Theoretical and Applied Genetics, 100: 918-925.
11. Dogget, H. 1970. Sorghum. Longman, Green. London. 403 pp.
12. Francis, C.Y. and R. Cai Yang. 1999. Popgene version 1.31. A joint Project Development by University of Alberta and Tim Boyle, Centre for International, available at: http://ftp microsoft.com/Softlib/Mslfiles.
13. Hedayati Marzoni, H. and H. Samiezadeh lahiji. 2016. Genetic diversity assessment of lines and varieties in winter rapeseed (*Brassica napus* L.) using RAPD and SSR molecular markers. Journal of Crop Breeding, 8: 131-139.
14. Hugo, E., C. Louis and K. Prom. 2013. Assessment of molecular diversity and population structure of the Ethiopian sorghum [Sorghum bicolor L.) Moench] germplasm collection maintained by the USDA-ARS National Plant Germplasm System using SSR markers. Genetic Resources and Crop Evoluation, 60: 1817-1830.
15. Ji, G.S., Y.F. Song, G.Q. Liu, R.H. DU and F.W. Hao. 2011. Genetic analysis of sorghum resources from China using SSRs. Journal of SAT Agricultural Research, 9: 1-7.
16. Kimani, P.M., W. Wachira, E.K. Cheruiyot, J. Owuoche and E. Kimani. 2014. Genetic diversity of African sorghum (Sorghum bicolor L.Moench) accessions based on microsatellite markers. Australian Journal of Crop Science, 8: 171-177.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

17. Kimura, M. and J.F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics, 49: 25-38.
18. Levene, H. 1949. On a matching problem in genetics. Annals. Mathematical. Statistics, 20: 91-94.
19. Mango, T., F. Carriero, R.A. Cifarelli, M. Gallitelli and F. Cellini. 2001. Development of microsatellite markers in Durum wheat (Triticum turgidum L. ssp durum). Acta Geneteical Science, 33: 917-928.
20. Matus, I. A. and P.M. Hayes. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeat. Genome, 45: 1095-1106.
21. Mirmohammady Maibody, S.A.M. and B. Ghareyazie. 2002. Physiological aspects and salinity and breeding for salinity stress in plants, Isfahan University Technology press. 274 pp.
22. Naghavi, M.R., B. Ghareyazie and G.H. Hosseini Salekdeh. 2005. Molecular Markers. Tehran University Press. 334 pp.
23. Nematzadeh, G.H., R. Talebie, Z. Khodarahmpour and G.H. Kiani. 2003. Study of genetic and geographical variation in rice (*Oryza sativa* L.) using physiological and agronomical traits. Iranian Journal of Crop Science, 5: 225-234.
24. Omidbakhsh, M.A., M. Naghavi, M. Mardy, M.R. Byhamta, M. Khazemi and S.M. Pyrsdy. 2009. A study of genetic diversity in durum wheat (*Triticum turgidum*) using microsatellite markers. Iranian Journal of Field Crop Science, 40: 75-84.
25. Pyrsdy, S., M. Sadegh Zadeh Ahari, D. Mardy, M. Pvrayrandvst, H. Mohammadi and B. Ghareyazie. 2005. Analysis of genetic variation in 'Sardari' wheat derivative lines using microsatellite markers. Iranian Journal of Crop Science,7: 273-268.
26. Rolf, T., H. Frederick, W. Rattunde Subhash Chandra, G. Soma Raju and C. Tom Hash. 2005. The pattern of genetic diversity of Guinea-race *Sorghum bicolor* (L.) Moench landraces as revealed with SSR markers. Theoretical and Applied Genetics, 111: 399-409.
27. Saghai Maroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dymnamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 81: 8014-8018.
28. Senior, M. L., J.P. Mutphy, M.M. Goodman and C.W. Stuber. 1998. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. Crop Science, 38: 1088-1098.
29. Sharopova, N., M.D. McMullan and L. Schultz. 2002. Development and mapping of SSR markers for maize. Plant Molecular. Biology Reporter, 48: 463-481.
30. Shehzad, T., H. Okuizumi, M. M. Kawase and K. Okuno. 2009. Development of SSR-based sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench diversity research set of germplasm and its evaluation by morphological traits. Genetic Resources and Crop Evoluation, 56: 809-827.
31. Taylor, R.M., E.F. Young and R.H. Rivera. 1975. Salt tolerance in cultivars of grain sorghum. Crop Science, 15: 735-740.
32. Temnykh, S., G. Declerck and A. Lukashova. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. Genome Research, 11: 1441-1452.
33. Vigoruroux, Y., S. Mitchell, Y. Matsuoka, M. Hamblin, S. Kresovich, J.S.C. Smith, J. Jaqueth, O.S. Smith and J. Doebley. 2005. An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellite. Genetics, 169: 1617-1630.
34. Vonarx, M.M., R.J. Mailer and N. Wratten. 1999. Reliabilty of RAPDs for identification of Australian canola cultivars. Proceeding of the 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia. 5-9.
35. Vuylsteke, M., R. Mank, B. Brugmans, P. Stam and M. Kuiper. 2000. Further characterization of AFLP data as a tool in genetic diversity assessments among maize (*Zea mays* L.) inbred lines. Molecular Breeding. 6: 256-276.
36. Zhang, J.V., X.H. Yang, X. Yu Ya, Z. He Wei, Y. Lide and H.S. Zhao. 2009. Study on genetic relationship of Yunnan Naked barley by SSR markers. Journal of Triticeae Crops, 6: 102-110.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

Study of Genetic Diversity in Sorghum (*Sorghum Bicolar* L.) Genotypes using Microsatellite Markers

Sokhra Khoramipor[1], Massoud Dehdari[2] and Reza Amiri Fahliani[3]

1 and 3- M.Sc. Student and Assistant Professor, University of Yasouj
2- Associate Professor, University of Yasouj, (Corresponding author: adehdari2000@yahoo.com)
Received: March 11, 2015 Accepted: September 19, 2015

Abstract

Sorghum is the fifth degree of importance in the production of cereal after wheat, rice, maize and barley. Genetic diversity estimation of plant material is primary step for identification, protection and conservation of germplasm and breeding programs designing. In order to study of genetic diversity among 10 genotypes of grain sorghum, 10 microsatellite primers were used according to previous studies. Results of the experiment showed that the average polymorphic information content for all primers was 0.48, and the average observed heterozygosity for all Primers was calculated 0.29. The most Shannon index that reflects genetic diversity among populations, obtained in XTxp-312 primer. Also loci XTxp-287 and XTxp-354 had the lowest Shannon index (0.37). XTxp-312 primer had the highest amounts for Shannon index, expected and observed heterozygosity and the largest number of effective alleles. Thus this primer showed more genetic diversity than other primers. In other words, the genotypes showed higher diversity in the case of XTxp-312 primer. Cluster analysis based on molecular data using Jaccard's similarity coefficient and UPGMA method, classified the genotypes of sorghum into four major groups. Based on Principal component analysis results, the first two components PCA1 and PCA2 explained, 50.08 and 10.08 (total 60.15%) of the total variance respectively, indicating that SSR markers distribution across the genome have been relatively good. The overall results of this study showed genetic variation among sorghum genotypes based on microsatellite markers can be used in breeding programs.

Keywords: Cluster analysis, Effective alleles, Polymorphic information content, Principal component analysis, Shannon index

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]