دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

بررسی تنوع آللی در لاین‌های اصلاحی سویا (*Glycin max*, L) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR)

حمیدرضا بابائی

استادیار پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران، (نویسنده مسوول: 30241hrbabaei@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱
صفحه: ۱۲۲ تا ۱۳۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: به‌دلیل محدودیت صفات مورفولوژیکی متمایزکننده غیر وابسته به محیط و اشکال تظاهر آنها، تشخیص و گزینش در بین لاین‌های مشابه برای به‌نژادگران همراه با مشکلاتی خواهد بود. بدین سبب استفاده از نشانگرهای مولکولی به‌عنوان روش مکمل در کنار خصوصیات زراعی جهت تشخیص و گزینش لاین‌های برتر اصلاحی سودمند خواهد بود. این تحقیق با هدف بررسی تفاوت‌های ژنتیکی لاین‌های پیشرفته اصلاحی سویا جهت گزینش لاین‌های مطلوب و حذف لاین‌های تکراری انجام گردید.

مواد و روش‌ها: در سال ۱۳۹۲ در کرج ۶۴ لاین نسل F7 سویا در گلخانه کشت و در زمان مناسب نمونه‌های برگی از گیاهچه لاین‌ها برداشت و DNA نمونه‌ها استخراج شد. محلول DNA حاصل پس از تعیین کمیت و کیفیت و تهیه غلظت مناسب برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) توسط ۲۰ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده گرفت. پس از تعیین ژنوتیپ لاین‌ها بوسیله نشانگرهای چند شکل، امتیازدهی باندهای ژنتیکی، تجزیه آماری با استفاده از داده‌های ژنتیکی برای برآورد شاخص‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد آلل مشاهده شده و موثر، درصد هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی، محتوی اطلاعات چندشکل و شاخص شانون انجام گرفت. همچنین برای گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی از تجزیه خوشه‌ای به روش اتصال همسایگی و ضریب تشابه تطابق ساده و از تجزیه به مختصات اصلی برای بررسی صحت نتایج تجزیه خوشه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل از ۲۰ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده جهت تعیین تنوع ژنتیکی، ۱۴ نشانگر چند شکلی نشان دادند. در مجموع ۴۱ آلل برای مکان‌های ژنی شناسائی شد که میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده برای هر جایگاه ژنی ۲/۹۳ و میانگین تعداد الل‌های موثر ۲/۳۶ بود. دامنه شاخص شانون (I) از ۰/۲۹ تا ۱/۵۶ و دامنه محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) از ۰/۷۸ تا ۰/۱۶ متغیر بودند. بر اساس شاخص‌های تنوع ژنتیکی اندازه‌گیری شده، نشانگرهای Sat_218 و Sat_117 قدرت تمایز بالاتری داشتند. تجزیه خوشه‌ای لاین‌های اصلاحی را در چهار گروه و هشت زیر گروه قرار داد. سه مولفه نخستین تجزیه به مختصات اصلی در مجموع ۳۶/۶ درصد از واریانس کل تغییرات را توجیه نمودند. نمودار سه بعدی لاین‌های اصلاحی را در چهار گروه قرار داد که تطابق نسبتاً خوبی با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای داشت.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نشانگرهای مورد استفاده دارای چندشکلی قابل قبولی بودند و نشانگرهای Sat_218 و Sat_117 از قدرت تمایز بالاتری بین ژنوتیپ‌ها و تبیین تنوع آللی برخوردار بودند. بنابرین نشانگرهای مولکولی از کارائی لازم برای ارزیابی و گزینش لاین‌های اصلاحی برتر در نسل‌های پیشرفته برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی، تعداد آلل موثر، شاخص شانون (I)، شاخص محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)

مقدمه

سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) به‌دلیل برخورداری از روغن و پروتئین خوراکی مطلوب و فرآورده‌های متنوع تغذیه‌ای و صنعتی یکی از گیاهان روغنی مهم در جهان است (۲۳). در اغلب مزارع سویای ایران از ارقام تجاری برنامه‌های به‌نژادی مراکز تحقیقات کشاورزی داخل کشور استفاده می‌شود. در این برنامه‌ها معمولاً پس از تلاقی بین ژنوتیپ‌های مختلف در طی نسل‌های در حال تفرق لاین‌های برتر گزینش و خالص‌سازی می‌شوند (۱). تنوع ژنتیکی لاین‌های اصلاحی شانس دستیابی به رقم مطلوب را افزایش می‌دهد. به‌دلیل محدودیت صفات مورفولوژیکی متمایزکننده غیر وابسته به محیط و اشکال تظاهر آنها، تشخیص و گزینش در بین لاین‌های مشابه برای به‌نژادگران همراه با مشکلاتی خواهد بود. بدین جهت استفاده از نشانگرهای مولکولی جهت تفکیک و حذف لاین‌های تکراری و کاهش مواد ژنتیکی در نسل‌های پیشرفته اصلاحی به‌عنوان یک روش تکمیلی حائز اهمیت است (۳۰). از مهم‌ترین مزایای نشانگرها می‌توان به فراوانی و چندشکلی بالا، عدم تاثیرپذیری از عوامل محیطی، غیر وابسته بودن به مرحله رشدی گیاه و قابل ارزیابی بودن در آزمایشگاه اشاره نمود. نشانگرهای ریزماهواره[1] (SSR) به‌دلیل برخورداری از تنوع آللی و چندشکلی بالا و نیز مشخص بودن محل کروموزومی آنها به لحاظ کاربردی بسیار سودمند خواهند بود (۲۲). نشانگرهای ریزماهواره (SSR) در زمینه تجزیه ژنومیک و ژنتیکی، تنوع ژنتیکی، ثبت ارقام، برآورد خلوص بذر، حفاظت ژرم‌پلاسم، بررسی ارتباطات خویشاوندی در جمعیت‌های گیاهی، نقشه‌یابی صفات کمی، اصلاح نباتات مولکولی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۲۱). یک بررسی بر روی برنج نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره وسیله مناسبی برای پیش‌بینی عملکرد هیبریدها هستند (۱۵). در ذرت از نشانگرهای SSR برای گروه‌بندی ژرم‌پلاسم و بدست آوردن والدین دور از هم در اصلاح هتروزیس و تشخیص گروه‌های هتروتیک استفاده شده است. در این خصوص همبستگی بالائی میان فاصله ژنتیکی برآورد شده توسط نشانگرهای SSR و هتروزیس عملکرد در ذرت گزارش شده است (۲۴،۱۸). لی و همکاران (۱۶) در بررسی تنوع ژنتیکی یک جمعیت گیاهی با ۱۵۹ ژنوتیپ سویا توسط ۵۵ نشانگر ریزماهواره از نواحی مختلف ژنوم و مطالعه ارتباط نشانگرها با خصوصیات مرفولوژیکی گزارش نمودند که متوسط محتوی اطلاعات چندشکلی(PIC)[2] نشانگرها ۰/۸، تعداد کل آلل ۷۸۱ با متوسط ۹/۴ آلل برای هر نشانگر بود که نشان‌دهنده

1- Micro-satellites

2- Polymorphism Information Content (PIC)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

اطلاعات و تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت بود. در این بررسی تجزیه ساختار ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد و تجزیه ارتباطی منتج به شناسایی ۲۱ نشانگر ریزماهواره مرتبط با صفات مختلف گردید. دادرس و همکاران (۴) با هدف بررسی نشانگرهای SSR مرتبط با تحمل به تنش خشکی، ۱۲۱ ژنوتیپ سویا را توسط ۲۱ نشانگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار دادند. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت نشان داد متوسط تعداد آلل به ازای هر نشانگر ۵/۵ و متوسط شاخص‌های محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC)، ضریب تنوع نی[1] (H)، تنوع ژنتیکی شانون[2] (I) به ترتیب ۰/۷۳، ۰/۷۷ و ۱/۵۷ بودند. دو نشانگر Sat_292 و Satt454 بیش از ۱۸ درصد تغییرات مربوط به عملکرد تک بوته در شرایط نرمال و تنش خشکی را توجیه نمودند. با استفاده از تجزیه ساختار و خوشه‌ای به‌روش اتصال همسایگی[3] و ضرایب جاکارد[4]، ضریب تطابق ساده و نی ژنوتیپ‌ها در سه زیر جمعیت و سه گروه قرار گرفتند. جمالی و همکاران (۱۱) به‌منظور شناسائی و تمایز بین ۱۵ رقم تجارتی سویا از ۱۱ خصوصیت مرفولوژیکی و ۱۶ نشانگر ریزماهواره برای انگشت‌نگاری ارقام استفاده نمودند. در این بررسی در مجموع ۶۱ آلل با میانگین ۳/۸ آلل برای هر جایگاه شناسائی شد. نشانگر Satt005 با هفت آلل دارای بیشترین تنوع آللی در مکان ژنی و نشانگر Satt231 دارای بیشترین شاخص قدرت تمایز و محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) به‌ترتیب به میزان ۰/۸۴ و ۰/۷۵ بود. تجزیه خوشه‌ای به‌روش UPGMA[5] و ضریب تشابه دایس[6] ارقام سویا را در سه گروه مجزا قرار داد. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای SSR به‌دلیل مستقل بودن از محیط می‌توانند به‌عنوان مکمل صفات مرفولویکی در شناسائی ارقام تجارتی سویا مورد استفاده قرار گیرند. محجوب و همکاران (۱۷) روابط ژنتیکی ۳۶ ژنوتیپ کلزا از گونه‌های مختلف جنس براسیکای کلزا را با استفاده از ۱۳ نشانگر بین توالی‌های تکراری ساده[7] مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی ۲۶۷ قطعه تکثیری امتیازدهی شدند که از این تعداد ۲۵۷ مکان چند شکلی (۹۶/۴ ٪) نشان دادند. میانگین محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگری[8] (MI) به ترتیب ۰/۳۴ و ۶/۵ بود. در این بررسی شاخص تنوع ژنتیکی نی، ضریب شانون و تعداد آلل موثر[9] به‌ترتیب ۰/۳۴، ۰/۵۱ و ۱/۵۸ بودند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA ژنوتیپ‌ها را به سه گروه و سه زیر گروه تفکیک نمود که با سطوح پلوئیدی ژنوتیپ‌ها تطابق داشت.

تعداد زیاد لاین‌های اصلاحی از تلاقی‌های مختلف در نسل‌های پیشرفته (F7) سویا چالش بزرگی برای انتخاب لاین‌های مطلوب توسط به نژادگران است. ارزیابی لاین‌های حاصل از یک تلاقی با استفاده از نشانگرهای مولکولی و حذف لاین‌های مشابه کمک زیادی به اداره نسل‌ها و کاهش هزینه‌های برنامه اصلاحی می‌کند. در این تحقیق تنوع آللی و تفاوت‌های ژنتیکی ۶۴ لاین پیشرفته اصلاحی نسل F7 (جدول ۳) با استفاده از ۲۰ نشانگر ریزماهواره (SSR) مورد بررسی قرار می‌گیرد و با استفاده روش‌های آماری چند متغیره لاین‌های اصلاحی گروه بندی می‌شوند تا امکان تصمیم‌گیری برای حذف ژنوتیپ‌های تکراری و گزینش لاین‌های برتر در برنامه اصلاحی فراهم شود.

مواد و روش‌ها

استخراج DNA

شصت و چهار گلدان به قطر ۳۰ سانتی‌متر از خاک مزرعه‌ای با بافت رسی سیلتی پر شد و سپس بذور شصت و چهار لاین اصلاحی امیدبخش سویا داخل گلدان در گلخانه بخش دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در سال ۱۳۹۲ کشت شد (جدول۱). پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، در مرحله پنج برگی ۴-۳ برگ به ابعاد ۳ cm × ۲ از هر گیاه (لاین) برداشت و پس از قرار دادن داخل یک ورقه آلومینیوم بلافاصله داخل نیتروژن مایع غوطه‌ور شد و پس از انتقال به آزمایشگاه در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های برداشتی توسط نیتروژن مایع در هاون چینی کوبیده شد تا بافت برگ به‌شکل پودر سفید رنگ درآید. مقدار ۵۰mg از بافت حاصل را در تیوب‌های ۲ml ریخته و برای استخراج دی ان ای در فریزر نگهداری شد. در زمان مناسب نمونه‌ها از فریزر خارج و به روش CTAB مطابق دستورالعمل سقائی معروف و همکاران (۲۰) دی ان ای نمونه‌ها استخراج گردید. به‌منظور تعیین کیفیت دی ان ای استخراجی مقدار پنج میکرو لیتر از هر نمونه به‌همراه ۳ میکرولیتر دای[10] روی ژل آگارز یک درصد بارگذاری و با ولتاژ V ۹۵ به مدت ۴۵ دقیقه بر روی ژل به جریان درآمد.

پس از گذشت زمان لازم توسط دستگاه ژل داک[11] از ژل عکس گرفته و در صورت احراز کیفیت مطلوب برای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین کمیت دی ان ای نیز بر اساس نمونه‌های معیار که قبلاً از اسپکتوفتومتری بدست آمد، کمیت نمونه‌ها تعیین و سپس غلظت نمونه‌ها به‌میزان ۳۰-۲۰ ng/µl دی ان ای رقیق شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

محلول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از نشانگرهای مورد بررسی برای حجم ۱۵میکرو لیتر با اجزا ذکر شده در جدول ۱ تهیه گردید. برنامه دستگاه ترموسایکلر مدل Biorad برای انجام واکنش نیز بر اساس مراحل مورد اشاره در جدول ۲ تنظیم گردید. برای تفکیک محصول PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۲ ٪ و رنگ‌آمیزی توسط اتیدیوم بروماید استفاده شد و عکس‌برداری از ژل توسط "سامانه اسنادی ژل[12]" انجام شد. ابتدا چند شکلی بودن ۲۰ نشانگر ریزماهواره امتحان شد و سپس نشانگرهای چند شکل برای تعیین ژنوتیپ لاین‌ها بکار رفت (جدول ۴). محصول واکنش پس از رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری، بر مبنای نمادهای " ۱ " و " صفر" به ترتیب برای وجود و عدم باند امتیازدهی و ثبت گردید.

1- Nei 2-Shanon index 3-Neighbor Joining 4- Jaccard
5- Unweigted Paired Groups Method Using Arithmetic Average 6- Dice
7- Inter-simple sequence repeat amplication (ISSR) 8- Marker index 9-Effective allel number
10- Dye 11- Gel doc 12- Gel documentation system

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]
[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

جدول ۱- حجم مواد شیمیائی مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز
Table 1. The volume of chemicals used in the polymerase chain reaction

اجزا واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز	حجم
دی ان ای ژنومی	۲ میکرو لیتر
بافر PCR (10X)	۱/۵ میکرو لیتر
dNTPs یک میلی ملار	۰/۵ میکرو لیتر
آغازگرهای پیش‌رو و پس‌رو	۱ میکرو لیتر از هر آغازگر
کلرید منیزیم ۱۵ میلی‌مولار	۱/۲ میکرو لیتر
آنزیم تگ پلی‌مراز	۰/۱ میکرو لیتر
آب مقطر استریل	۷/۷ میکرولیتر
	۱۵ میکرو لیتر (حجم نهائی)

جدول ۲- برنامه اجرای واکنش ژنجیره‌ای پلی مراز توسط دستگاه ترموسایکلر
Table 2. Execution program of polymerase chain reaction by thermocycler

مرحله	عملیات	دما (سانتی‌گراد)	زمان
یک چرخه	واسرشت‌سازی اولیه	۹۴	۳ دقیقه
۳۰ چرخه حرارتی اصلی :	۱. واسرشت‌سازی	۹۴	۳۰ ثانیه
	۲. اتصال به آغازگر	۶۰- ۴۵	۳۰ ثانیه
	۳. بسط رشته	۷۲	۴۵ ثانیه
یک چرخه	بسط نهائی	۷۲	۵ دقیقه

تجزیه آماری

برای محاسبه شاخص محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) از رابطه $PIC = 1- \sum_{i=1}^{n} P_i^2$ (۶) که در آن P_i فراوانی آللی و n تعداد آلل در جایگاه ژنی است، برای محاسبه شاخص شانون (H) از رابطه $\acute{H} = \sum_{i=1}^{s} P_i lnP_i$ (۲۶) که در آن P_i فراوانی گروه ژنوتیپی، S تعداد گروه‌های ژنوتیپی و ln لگاریتم طبیعی است و برای محاسبه تعداد آلل موثر از رابطه $A_e = \frac{1}{\sum_{i=1}^{n} P_i^2}$ (۱۴) که در آن P_i فراوانی آللی و n تعداد آلل در جایگاه ژنی می‌باشد استفاده گردید. برای محاسبه شاخص‌های مذکور نرم‌افزار پاپ ژن[1] نسخه ۱/۳۱ (۵) بکار رفت. برای گروه‌بندی لاین‌های مورد بررسی از تجزیه خوشه‌ای به روش اتصال همسایگی و ضریب تشابه تطابق ساده و برای بررسی نحوه پراکنش لاین‌های اصلاحی بر مبنای تنوع آللی نشانگرهای ریزماهواره و مقایسه نتایج حاصل با نتایج تجزیه خوشه‌ای از نرم‌افزار انت‌سیس[2] نسخه ۲/۰۲ استفاده گردید.

نتایج و بحث

شاخص‌های تنوع ژنتیکی

از ۲۰ نشانگر ریزماهواره که برای بررسی تمایز ژنتیکی لاین‌های امیدبخش بکار رفت ۱۴ نشانگر چندشکلی نشان دادند که معادل ۷۰ درصد نشانگرهای استفاده شده بود. (جدول ۴). الگوی نواربندی نشانگر Sat_117 به عنوان نمونه‌ای از نشانگرهای چندشکل در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصل در مجموع ۴۱ آلل برای جایگاه‌های مختلف ژنی مشاهده شد که تعداد آلل‌ها از دو تا پنج آلل متغیر بود و میانگین تعداد آلل‌ها ۲/۹۳ با انحراف معیار ۱/۳ بود (شکل ۲ و جدول ۵). هوانگ و همکاران (۱۰) در بررسی ۱۷۲ ژنوتیپ سویا توسط۲۰ نشانگر ریزماهواره در مجموع ۳۴۴ آلل با میانگین ۱۷/۲ آلل برای هر مکان ژنی، لی و همکاران (۱۶) در بررسی ۱۵۹ رقم و لاین سویا توسط ۵۵ نشانگر ریزماهواره در کل ۷۸۱ آلل با متوسط ۹/۴ آلل برای هر نشانگر، دادرس و همکاران (۴) در ارزیابی ۱۲۱ ژنوتیپ سویا توسط ۲۱ نشانگر ریزماهواره در مجموع ۱۱۶ آلل با متوسط ۵/۵ آلل به ازای هر مکان ژنی و جمالی و همکاران (۱۱) در بررسی ۱۵ رقم سویا توسط ۱۶ نشانگر ریزماهواره در مجموع ۶۱ آلل با میانگین ۳/۸ آلل برای هر جایگاه ژنی گزارش کردند. مقایسه نتایج این بررسی‌ها با نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره به خوبی تنوع آللی موجود در مکان‌های ژنی لاین‌های اصلاحی را منعکس نموده و از ظرفیت کافی برای ایجاد تمایز بین ژنوتیپ‌ها برخوردار بودند. نشانگرهای Sat_218، Satt191 و Sat_117 با پنج آلل دارای بیشترین آلل، نشانگر Satt 661 دارای ۴ آلل و نشانگرهای Satt307 و AW277661 دارای۳ آلل بودند. سایر نشانگرها نیز دارای دو آلل بودند. تعداد آلل‌های موثر جایگاه‌های ژنی (نشانگرها) از حداقل ۱/۱۹ تا حداکثر ۴/۵۶ متغیر بود. میانگین تعداد الل‌های موثر در کل نشانگرهای چندشکل ۲/۳۶ با انحراف معیار ۱/۰۱ بود. نشانگرهای Sat_218 و Sat_117 به‌ترتیب با ۴/۵۶ و ۴/۲۷ دارای بیشترین و نشانگرهای Satt384 و Satt411 به‌ترتیب با ۱/۱۹ و ۱/۲۱ دارای کمترین تعداد آلل موثر بودند (جدول ۳). مقایسه تعداد آلل موثر با تعداد آلل‌های مشاهده شده نشان داد که با افزایش تعداد آلل مشاهده شده تعداد آلل موثر نیز افزایش یافته است. دامنه شاخص تنوع ژنتیکی شانون برای نشانگرها از ۰/۲۹ تا ۱/۵۶ متغیر بود و میانگین این شاخص ۰/۸۵ با انحراف معیار ۰/۴۰ بود. بر اساس این شاخص نشانگرهای Sat_218، Sat_117 و Satt661 به‌ترتیب با ۱/۵۶، ۱/۵۱ و ۱/۳۵ دارای بیشترین و نشانگرهای Satt384 و Satt411 به‌ترتیب با ۰/۲۹ و ۰/۳۱ دارای کمترین مقادیر شاخص شانون بودند (جدول۳). دامنه مقادیر اطلاعات چند شکلی (PIC) نشانگرها از ۰/۷۸ تا ۰/۱۶ متغیر بود و میانگین مقادیر PIC برابر ۰/۵۱ با انحراف معیار ۰/۱۸ بود. نشانگرهای Sat_218، Sat_117 و Satt191 به‌ترتیب با ۰/۷۸، ۰/۷۷ و ۰/۷۰ دارای بیشترین مقادیرPIC بودند که بیانگر ظرفیت بالای آنها در ایجاد تمایز بین ژنوتیپ‌ها و نشانگرهای Satt384 و Satt411 به‌ترتیب با ۰/۱۶ و ۰/۱۸ دارای کمترین مقادیر PIC بودند که نشاندهنده کارآمدی کمتر آنها از این حیث بود (جدول ۳). در بررسی‌هائی که توسط

1- Popgene
2- NTsys V. 2.02

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]
[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

نشانگرهای SSR روی سویا صورت گرفته است دامنه مقادیر شاخص PIC از ۰/۰۳ تا ۰/۸۷ و شاخص شانون از ۰/۰۷ تا ۳/۱۲ گزارش شده است (۳۲،۱۲،۱۹،۱۳،۲،۲۸). مقایسه نتایج شاخص شانون و محتوی اطلاعات چند شکلی با تعداد آلل‌های موثر و مشاهده شده بیانگر این نکته است که هرچه تعداد آلل موثر در یک نشانگر بیشتر باشد سهم بیشتری در تشخیص تفاوت‌های ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و آشکار نمودن تنوع ژنتیکی خواهد داشت. بررسی‌های صورت گرفته این موضوع را تائید می‌کنند (۱۲،۳۱،۱۹،۲۸،۸). میانگین درصد هموزیگوسیتی در جایگاه‌های ژنی از ۱ تا ۰/۱۰ با میانگین ۰/۷۵ و انحراف معیار ۰/۳۱ بود. بالاترین درصد هموزیگوسیتی به میزان ۱۰۰ درصد (۱) مربوط به نشانگرهای دوآللی Satt411، Sat_404، Satt718 و Satt607 و کمترین میزان هموزیگوسیتی به میزان ۱۰ درصد مربوط به نشانگر پنج آللی Sat_218 و نشانگر ۴ آللی Satt661 بود (جدول ۳). این نتایج نشان داد که در لاین‌های اصلاحی نسل هفتم (F7) جایگاه‌های ژنی (نشانگرها) با تعداد آلل کمتر زودتر به مرحله تثبیت یا خلوص می‌رسند و جایگاه‌های ژنی با آلل‌های بیشتر تعداد نسل‌های بیشتری لازم دارند تا به خلوص برسند (جدول۳). دامنه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در بسیاری از جمعیت‌های سویائی که توسط نشانگرهای ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند از ۰/۰۰ تا ۰/۹۸ گزارش شده است (۷،۲،۱۹،۲۰). بطورکلی در این تحقیق با توجه به مقادیر شاخص‌های تنوع ژنتیکی اندازه‌گیری شده، نشانگرهای Sat_218 و Sat_117 قدرت بالائی جهت تمایز بین ژنوتیپ‌ها و تبیین تنوع آللی داشتند.

تجزیه خوشه‌ای

بیشترین شباهت بر اساس ضریب تشابه تطابق ساده (SM) به میزان ۰/۹۸ بین لاین‌های L.55 با L.62 و کمترین شباهت به میزان ۰/۳۰ بین لاین های L.12 و L.22 بدست آمد. برش نمودار دندروگرام خوشه‌ای در نقطه ۱۲/۲ واحد محور ضریب فاصله ژنتیکی، لاین‌های مورد بررسی را در چهار گروه و هشت زیر گروه قرار داد که از ۶۴ لاین اصلاحی ۲۸ لاین در گروه یک، ۱۱ لاین در گروه دو، ۱۶ لاین در گروه سه و ۹ لاین در گروه چهار قرار گرفتند (شکل ۳). بررسی شجره لاین‌های اصلاحی نشان داد که در گروه یک لاین‌های اصلاحیL.3، L.4، L.5، L.6، L.7 و L.8 همگی از تلاقی G.3 x Hamilton، سه لاین L.22، L.23 و L.24 از تلاقی DPX x Kotaman و پنج لاین L.56، L.58، L.59، L.61 و L.62 از تلاقی Nigeria x Sepideh بدست آمده‌اند (شکل ۳ و جدول ۳). در همین گروه دو لاین L.9 و L.10 از تلاقی Sahar x Nemaha، دو لاین L.31 و L.33 از تلاقی DPX x Darby و دو لاین L.45 و L.46 از تلاقی Hamilton x DPX بدست آمده‌اند. علاوه بر این اغلب لاین‌های این گروه حداقل دارای یک والد مشترک نظیر DPX بودند که بیانگر قرابت ژنتیکی لاین‌های این گروه بود (شکل ۳ و جدول ۳). در گروه دو لاین‌های L.17، L.18 و L.19 از تلاقی DPX x Yougetsu، لاین‌های L.13، L.15 و L.16 از تلاقی DPX x Rend و دو لاین L.49 و L.50 از تلاقی Accomac x Yougetsu منتج شدند. از ۱۶ لاین اصلاحی گروه سوم، چهار لاین L.26، L.27، L.28 و L.29 از تلاقی DPX x Nemaha، سه لاین L.30، L.32 و L.34 از تلاقی DPX x Darby و سه لاینL.35، L.36 و L.39 از تلاقی Williams x DPX بدست آمده‌اند و از نه لاین اصلاحی گروه چهار، دو لاین L.52 و L.53 از تلاقی Accomac x Yougetsu و چهار لاینL.41، L.42 و L.43 و L.44 از تلاقی Williams x DPX بدست آمده‌اند (شکل ۳ و جدول ۳). این نتایج نشان داد که اغلب لاین‌های درون یک گروه دارای شجره مشابه بوده به‌گونه‌ای که دو والد یا حداقل یک والد مشترک داشتند و لاین‌های گروه‌های متفاوت کمتر دارای والدین مشترک بودند. در دو تحقیق جداگانه که با هدف بررسی روابط خویشاوندی ارقام سویا توسط نشانگرهای ریزماهواره انجام شده بود، تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ارقام داخل گروه‌های مشابه دارای والدین مشترک بودند (۲۷،۱۹). در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۲۹ ژنوتیپ از کلکسیون ملی چین با ۶۰ نشانگر SSR، تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را به پنج گروه بزرگ تقسیم نمود که تطابق بالائی با منشاء جغرافیائی ژنوتیپ‌ها (اکوتیپ‌ها) داشت (۳۱). ارزیابی ۱۶۰ ژنوتیپ از ارقام زراعی و محلی سویای تایلند با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان داد که تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام زراعی و بومی ناچیز بود. به عبارت دیگر پایه ژنتیکی ارقام زراعی و بومی تا حد زیادی یکسان است (۳). زولیج میهالوویچ و همکاران (۳۳) ۹۷ ژنوتیپ سویا متشکل از ارقام تجاری و لاین‌های الیت موسسات به‌نژادی اروپا و امریکای شمالی را توسط ۲۷ نشانگر چند شکل ریزماهواره مورد ارزیابی قرار دادند. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را به نحوی تفکیک نمود که گروه‌های بدست آمده تطابق بالائی با برنامه اصلاحی ارقام و گروه رسیدن آنها داشت. مولاتو و همکاران (۲۰) به کمک ۲۰ نشانگر ریزماهواره و ۱۰ نشانگر EST روابط خویشاوندی ۷۹ ژنوتیپ سویای برزیل را بررسی نمود. در این تحقیق در مجموع ۲۵۹ آلل و از ۲ تا ۲۱ آلل با متوسط ۸/۶ آلل برای هر مکان ژنی مشاهده شد. نتایج حاصل بیانگر تنوع ژنتیکی بالا بین ژنوتیپ‌ها بود و ژنوتیپ‌ها توسط تجزیه خوشه‌ای به پنج زیر جمعیت با تعداد زیادی زیرگروه تقسیم شدند. همچنین ارتباط نسبی قابل قبولی بین تنوع ژنتیکی و منشاء جغرافیائی ژنوتیپ‌ها بدست آمد.

تجزیه به مولفه‌های اصلی

سه مولفه اصلی اول (PC1) و دوم (PC2) و سوم (PC3) به‌ترتیب ۱۸/۶، ۹/۹۹، ۷/۹۹ و در مجموع ۳۶/۶ درصد از واریانس کل نشانگرها را به خود اختصاص دادند. در بررسی‌های مختلف بسته به تعداد نشانگر و اندازه جمعیت دامنه تغییرات مولفه اول (PC1) از ۸/۵ تا ۳۹/۴ درصد و مولفه دوم از ۴/۵ تا ۱۷/۷ درصد گزارش شده است (۲۹، ۳ و ۹). نمودار سه بعدی سه مولفه اصلی اولیه، لاین‌های مورد بررسی را در چهار گروه قرار داد (شکل ۴). این چهار گروه توسط دوایر قرمز رنگ در شکل ۴ مشخص شده است. در گروه یک لاین‌های شماره ۱، ۴، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۲۰،

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]
[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

۳۱، ۳۳، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۴۰، ۴۷، ۵۰، ۵۴ و ۶۲ ، در گروه دو لاین‌های شماره ۲، ۶۴، ۲۶، ۲۵، ۲۰، ۶۳، ۴، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۲، ۳۴، ۳۹، ۳۶ و ۴۳ ، در گروه سه لاین‌های شماره ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶،۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۵۱ و در گروه چهار لاین‌های شماره ۳۴، ۴۳، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۵۲، ۵۳، ۵۵ و ۵۷ قرار گرفتند (شکل۳). این گروه‌ها در برخی نواحی با یکدیگر همپوشانی داشتند. مقایسه گروه‌بندی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی با گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای نشان داد که این دو نوع گروه‌بندی تطابق خوبی با یکدیگر دارند. بطور مثال لاین‌های شماره ۱، ۷، ۹، ۱۰، ۱۱، ۳۱، ۳۳، ۳۷، ۶۱ و ۶۲ در هر دو روش در گروه یک قرار گرفتند. لاین‌های شماره ۲، ۲۱، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۲، ۳۴، ۳۶ و ۳۹ در هر دو روش در گروه دو قرار گرفتند. لاین‌های شماره ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶،۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۵۱ در هر دو روش در گروه سه قرار گرفتند و در گروه چهار لاین‌های شماره ۳۴، ۴۳، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۵۲، ۵۳، ۵۵ و ۵۷ در هر دو روش مشترک بودند (شکل ۳ و ۴). در یک پژوهش موکوزه و همکاران (۱۹) تنوع ژنتیکی ۳۴ رقم تجاری و لاین الیت سویا را توسط ۲۱ نشانگر ریزماهواره بررسی و گزارش نمودند که تجزیه خوشه‌ای به روش سلسله مراتبی ژنوتیپ‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد. به گونه‌ای که اغلب ارقام تجاری در یک گروه و لاین‌های الیت در دو گروه دیگر قرار گرفتند. مولفه اصلی اول (PCA1) و دوم (PCA2) تجزیه به مولفه‌های اصلی به ترتیب ۱۷/۲ درصد و ۱۱/۷ درصد از واریانس داده‌های مولکولی را توجیه نمودند و نحوه پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس دو مولفه اول و دوم صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای تائید نمود. در بررسی دیگری که با هدف بررسی روابط ژنتیکی ۸۷ رقم و ژنوتیپ وحشی سویا ژاپنی انجام گردید. تجزیه خوشه‌ای توسط ۳۳۷ نشانگر ریز ماهواره، ژنوتیپ‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد که اغلب ارقام ژاپنی در گروه یک و ارقام خارجی و ژنوتیپ‌های وحشی به‌ترتیب در گروه‌های دو و سه قرار گرفتند. این گروه‌بندی با مبدا جغرافیائی ارقام نیز مطابقت داشت. الگوی پراکنش ژنوتیپ‌ها در نمودار دو بعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی تطابق قابل قبولی با دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داشت (۹). در تحقیقی که با هدف بررسی تفاوت‌های مولکولی ۷۵ رقم تجاری و بومی سویای هندی با مصارف تغذیه‌ای و داروئی توسط ۲۱ نشانگر ریزماهواره انجام شد، تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه بزرگ قرار داد به‌گونه‌ای که ارقام تجاری دارای پوسته زردرنگ در یک گروه و ارقام تجاری پوسته قهوه‌ای به همراه ارقام بومی پوسته سیاه در دو گروه دیگر قرار گرفتند. تجزیه به مختصات اصلی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تائید نمود و سه مولفه اولیه در مجموع ۳۳/۱۵ درصد از تغییرات واریانس داده‌های مولکولی را توجیه نمودند. این بررسی نشان داد که پایه ژنتیکی ارقام بومی با ارقام تجاری پوسته قهوه‌ای تا حد زیادی مشابه بود (۷).

بطور کلی بر اساس نتایج تحقیق حاضر می‌توان گفت که نشانگرهای مورد استفاده دارای چندشکلی قابل قبولی بودند و نشانگرهای Sat_218 و Sat_117 از قدرت تمایز بالاتری بین ژنوتیپ‌ها و تبیین تنوع آللی برخوردار بودند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های ژنتیکی لاین‌های اصلاحی را در چهار گروه و هشت زیر گروه قرار داد که بیانگر تنوع ژنتیکی قابل توجه‌ای بین ژنوتیپ‌ها بود تجزیه به مختصات اصلی نیز صحت گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای را تائید نمود. با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت استفاده از نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی و گزینش لاین‌های اصلاحی در نسل‌های پیشرفته امکان‌پذیر بوده و از کارائی لازم برخوردار بود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

جدول ۳- شماره و شجره لاین‌های اصلاحی سویا

Table 3. Number and pedigree of soybean breeding lines

شماره لاین.	شجره	شماره لاین	شجره
L.1	BL.5 (G.3 × Nemaha)	L.33	L.4 (DPX × Darby)
L.2	L.2 (G.3 × Hamilton)	L.34	L.5 (DPX × Darby)
L.3	L.3 (G.3 × Hamilton)	L.35	L.1 (Williams × DPX)
L.4	L.4 (G.3 × Hamilton)	L.36	L.2 (Williams × DPX)
L.5	L.5 (G.3 × Hamilton)	L.37	L.3 (Williams × DPX)
L.6	L.8 (G.3 × Hamilton)	L.38	L.4 (Williams × DPX)
L.7	L.9 (G.3 × Hamilton)	L.39	L.5 (Williams × DPX)
L.8	L.10 (G.3 × Hamilton)	L.40	L.6 (Williams × DPX)
L.9	L.2 (Sahar × Nemaha)	L.41	L.7 (Williams × DPX)
L.10	L.3 (Sahar × Nemaha)	L.42	L.8 (Williams × DPX)
L.11	L.2 (Williams × Sahar)	L.43	L.9 (Williams × DPX)
L.12	L.3 (Williams × Sahar)	L.44	L.10 (Williams × DPX)
L.13	L.1 (DPX × Rend)	L.45	L.3 (Hamilton × DPX)
L.14	L.3 (DPX × Rend)	L.46	L.1 (Hamilton × DPX)
L.15	L.4 (DPX × Rend)	L.47	L.3 (Hamilton × Sahar)
L.16	L.5 (DPX × Rend)	L.48	L.3 (Omaha × Sahar)
L.17	L.1 (DPX × Yougetsu)	L.49	L.3 (Accomac × Yougetsu)
L.18	L.2 (DPX × Yougetsu)	L.50	L.5 (Accomac × Yougetsu)
L.19	L.3 (DPX × Yougetsu)	L.51	L.1 (Accomac × Nemaha)
L.20	L.4 (DPX × Yougetsu)	L.52	L.2 (Accomac × Nemaha)
L.21	L.5 (DPX × Yougetsu)	L.53	L.3 (Accomac × Nemaha)
L.22	L.1 (DPX × Kotaman)	L.54	L.10 (Hamilton × Williams)
L.23	L.2 (DPX × Kotaman)	L.55	L.6 (Hamilton × Nemaha)
L.24	L.4 (DPX × Kotaman)	L.56	L.3 (Nijeria × Sepideh)
L.25	L.5 (DPX × Kotaman)	L.57	L.4 (Nijeria × Sepideh)
L.26	L.2 (DPX × Nemaha)	L.58	L.5 (Nijeria × Sepideh)
L.27	L.3 (DPX × Nemaha)	L.59	L.6 (Nijeria × Sepideh)
L.28	L.4 (DPX × Nemaha)	L.60	L.7 (Nijeria × Sepideh)
L.29	L.5 (DPX × Nemaha)	L.61	L.8 (Nijeria × Sepideh)
L.30	L.1 (DPX × Darby)	L.62	L.9 (Nijeria × Sepideh)
L.31	L.2 (DPX × Darby)	L.63	Katool
L.32	L.3 (DPX × Darby)	L.64	Sari

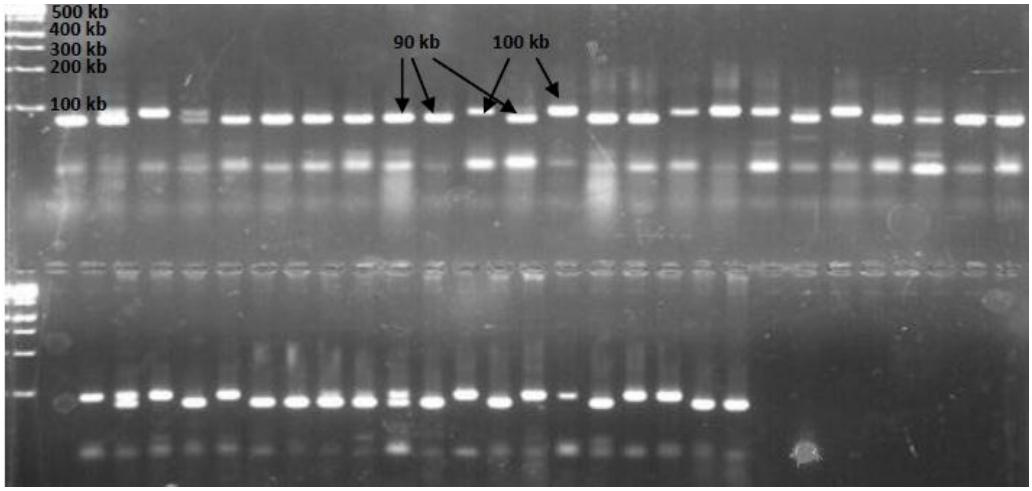
جدول ۴- مشخصات نشانگرهای ریزماهواره و توالی آغازگرهای پیش‌رو و پس‌رو

Table 4. Description of SSR markers and sequence of forward and backward primers

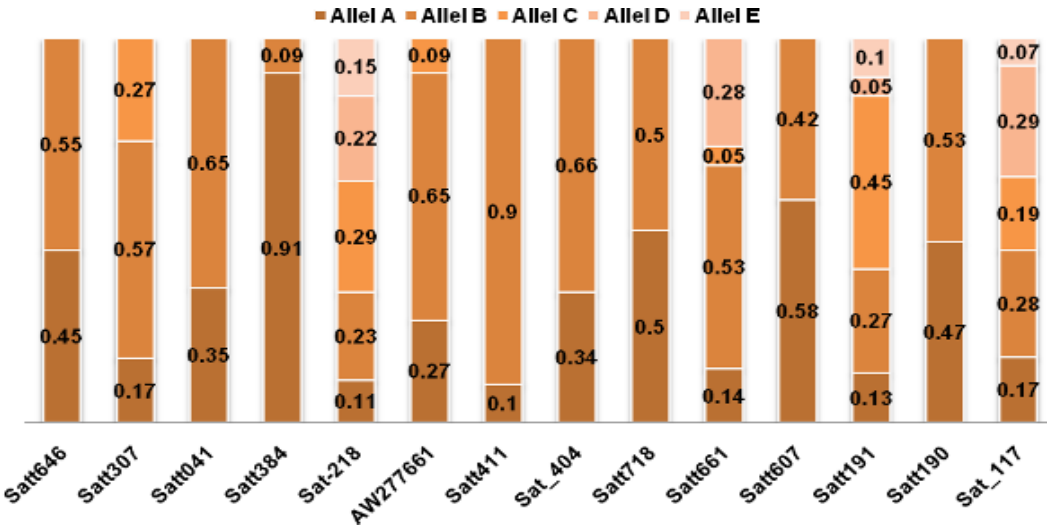
شماره	نام نشانگر	کروموزوم	پرایمر پیش‌رو	پرایمر پس‌رو	الگوی نواربندی
۱	Sat_117	G	TTTGGCAGTTTCTTGTAG	GCTGGATCGCAGTTA	چند شکل
۲	Sat_124	E	GGGTCCATTCCACTTTTTGTACAATAT	GGGAGTTCAAACATCCATTAGTGGTATA	تک‌شکل
۳	Satt041	D1b	TGTTGTGTGGCTTTATTATT	TTAAGGTGGGATATGGTC	چند شکل
۴	Satt307	C2	GCGCTGGCCTTTAGAAC	GCGTTGTAGGAAATTTGAGTAGTAAG	چند شکل
۵	Sct_028	C2	TCGCCGGTACAAAAG	CGAATGAACAAACAAACA	تک‌شکل
۶	Satt646	C1	GCGGGGTATGAATTAATTAATGTAGAAT	GCGCCTTCAAAAACTAATGACATATCAT	چند شکل
۷	AW277661	C1	GCGCATGGAGCATCATCTTCATA	GCGAGAAAACCCAATCTTTATATCAATA	چند شکل
۸	Sat_125	N	GGGACGAAACAAAGTCACAT	GGGATGCTGTTATCAAAATCA	تک‌شکل
۹	Sat_218	H	GCGCACGTTAAATGAACTGGTATGATA	GCGGGCCAAAGAGGAAGATTGTAAT	چند شکل
۱۰	Satt384	E	TGGGGGTCAATTTTAATTTGTGC	ATTTCCCTTTCACCCACCTCTGTTT	چند شکل
۱۱	Satt691	E	GCGAAAGATAAAAAGTAGATTGAAA	GCGCTCCTAAATCCAAATGAATC	تک‌شکل
۱۲	Satt190	C1	GGGAGTGTGAACTTACATTGTCT	GGGCCTTGAATTTTGTGCTAT	چند شکل
۱۳	Satt161	C1	GGGTATATCAACATATCTTCACCTTTTT	GGGCTGCTTGTTAATGTTTTGTAGA	تک‌شکل
۱۴	Satt 718	C1	GCGTGCAACACCTCAAGTTTCAAATAC	GCGTAGCTCTTTCCAAAGTTTTCATC	چند شکل
۱۵	SAtt022	N	GGGGGATCTGATTGTATTTTACCT	CGGGTTTCAAAAAACCATCCTTAC	تک‌شکل
۱۶	Satt411	E	TGGCCATGTCAAACCATAACAACA	GCGTTGAAGCCGCCTACAAATATAAT	چند شکل
۱۷	Satt607	C1	GCGGTTTCATCTGCAGTGTATTATTAT	GCGCCACTTAATTATTTCAGATTAATT	چند شکل
۱۸	Sat_404	C1	GCGGATGCGCTTAGCCAGAAGATGAGT	GCGTTCTCCCCCAATGTACATACTTCTACCA	چند شکل
۱۹	Satt661	C1	TGATATGAGCAATGTAGTTCCTCT	TCCATGAAAAAGAAGTTAGAATAGC	چند شکل
۲۰	Satt191	G	CGCGATCATGTCTCTG	GGGAGTTGGTGTTTTCTTGTG	چند شکل

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]



شکل ۱- الگوی نواربندی نشانگر Sat_117 در برخی از لاین‌های اصلاحی
Figure 1. Banding pattern of Sat_117 marker in the some breeding lines

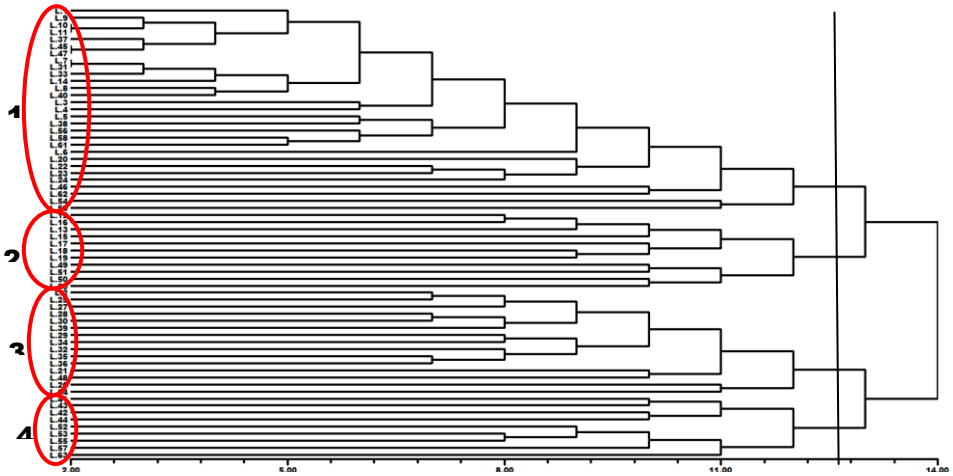


شکل ۲- تعداد و فراوانی آلل‌های نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی
Figure 2. Alleles number and frequency of the studied microsatellite marker

جدول ۵- تخمین پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی
Table 5. Estimation of genetic diversity parameters of the studied microsatellite markers

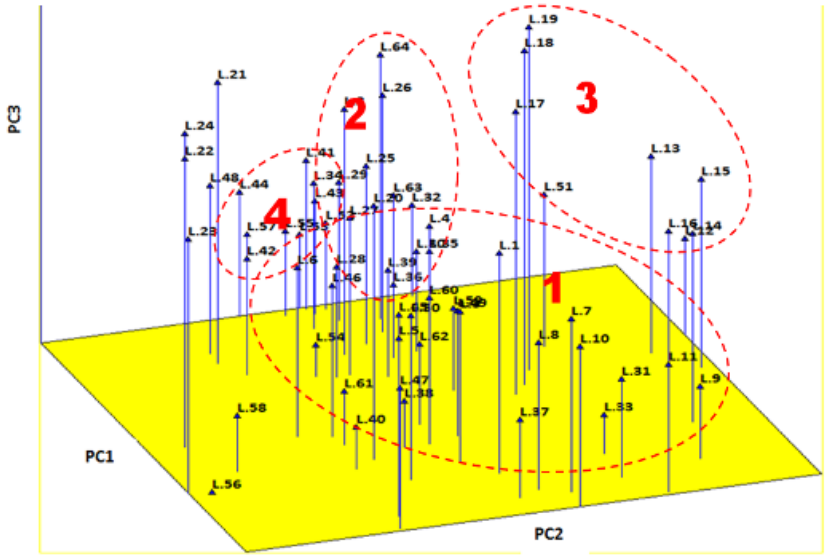
نشانگر	تعداد آلل مشاهده شده	تعداد آلل موثر	شاخص شانون	درصد هموزیگوسیتی	درصد هتروزیگوسیتی	محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC)
Satt646	۲	۱/۹۸	۰/۶۹	۰/۸۶	۰/۱۴	۰/۵۰
Satt307	۳	۲/۳۸	۰/۹۷	۰/۵۳	۰/۴۷	۰/۵۷
Satt041	۲	۱/۸۴	۰/۶۵	۰/۷۷	۰/۲۳	۰/۴۶
Satt384	۲	۱/۱۹	۰/۲۹	۰/۸۹	۰/۱۱	۰/۱۶
Sat-218	۵	۴/۵۶	۱/۵۶	۰/۱۰	۰/۹۰	۰/۷۸
AW277661	۳	۲/۰۱	۰/۸۴	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۵۰
Satt411	۲	۱/۲۱	۰/۳۱	۱	۰	۰/۱۸
Sat_404	۲	۱/۸۱	۰/۶۴	۱	۰	۰/۴۵
Satt718	۲	۲	۰/۶۹	۱	۰	۰/۵۰
Satt661	۴	۲/۶	۱/۱۱	۰/۲۷	۰/۷۳	۰/۶۲
Satt607	۲	۱/۹۵	۰/۶۸	۱	۰	۰/۴۹
Satt191	۵	۳/۲۴	۱/۳۵	۰/۹۴	۰/۰۶	۰/۷۰
Satt190	۲	۱/۹۹	۰/۶۹	۰/۸۸	۰/۱۲	۰/۵۰
Sat_117	۵	۴/۲۷	۱/۵۱	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۷۷
Mean	۲/۹۳	۲/۳۶	۰/۸۵	۰/۷۲	۰/۲۷	۰/۵۱
Stan D	۱/۳	۱/۰۱	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۱۸

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]
[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش اتصال همسایگی و ضریب تشابه تطابق ساده ۶۴ لاین اصلاحی سویا بر اساس امتیاز ۱۴ نشانگر ریزماهواره

Figure 3. Dendrogram of clustering analysis Neighbor Joining and simple matching coefficient for 64 soybean breeding lines based on scoring 14 microsatellite markers



شکل ۴ - نمودار سه بعدی پراکنش ۶۴ لاین اصلاحی سویا بر اساس سه مولفه اولیه (PC1 = ٪ ۱۹، PC2 = ٪ ۱۰ و PC3 = ٪ ۸)

Figure 4. Three-Dimensional distribution graph of 64 soybean breeding lines based on 3 first principle components (PC1=%18.6, PC2=%10, PC3= %8)

منابع

1. Babaei, H.R. 2016. Study of adaptability of new soybean purlines. Registered number: 55194-97/12/15. Final report of research project. Seed and Plant Improvement Institute, [available] In Site: < https://www .acist.areeo.ac.ir/fa-IR/acist.areeo.ac/15589>.
2. Bisen, A., D. Khare, P. Nair and N. Tripathi. 2015. SSR analysis of 38 genotypes of soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) Genetic diversity in India. Physiology Molecular Biology Plants. 21: 109-115.
3. Chotiyarnwong. O., P. Chatwachirawong, S. Chanprame and P. Srinives. 2007. Evaluation of genetic diversity in Thailand indigenous and recommended soybean varieties by SSR markers. Thailand Journal of Agricultural Science, 40(3): 119-126.
4. Dadras, A.R., H. Samizadeh and H. Sabouri. 2015. Validation of candidate markers drought tolerance in soybean genotypes under normal and drought stress condition. Journal of Crop Breeding, 9(22): 1-13 (In Persian).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]
[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

5. 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>.
6. He, C., V. Poysa and K. Yu. 2003. Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among Lycopersicon esculentum cultivars. Theoretical and Applied Genetics, 106: 363-373.
7. Hipparagi, Y., R. Singh, D.R. Choudhury and V. Gupta. 2017. Genetic diversity and population structure analysis of Kala bhat (*Glycine max* (L.) Merrill) genotypes using SSR markers. Hereditas. 154(9): 1-11.
8. Hisano, H., S. Sato and S. Isobe. 2007. Characterisation of soybean genome using EST-derived microsatellite markers. DNA Research, 14: 271-281.
9. Hwang, T.Y., B.S. Gwak, J. Sung and H.S. Kim. 2020. Genetic diversity patterns and discrimination of 172 Korean soybeans (*Glycine max* (L.) Merrill) varieties based on SSR analysis. Agriculture. Open access. [available] In Site: https://www.mdpi.com/2077-0472/10/3/77/pdf.
10. Hwang, T.Y., Y. Nakamoto, I. Kono, H. Enoki, H. Funatsuki, K. Kitamura and M. Ishimoto. 2008. Gentic diversity of cultivated and wild soybesn including Japanese elite cultivars as revealed by length potymorphism of SSR markers. Breeding Science. (58): 315-323.
11. Jamali, S.H., L. Sadghi and S.Y. Sadeghian-Motahhar. 2011. Identification and distinction of soybean commercial cultivars using morphological and microsatellite markers. Iranian Journal of Crop Sciences, 13(1): 131-145 (In Persian).
12. Khatun, M.K., M.A. Haque, M.A. Malek, M.H. Rashid, S. Islam and M.M. Haque. 2021. Genetic diversity analysis of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] germplasms in Bangladesh using SSR markers. Journal of Agricultural Science, 13(2): 1-10.
13. Kim, K.S., A. Chirumamilla, C.B. Hill, G.L. Hartman and B.W. Diers. 2014. Identification and molecular mapping of two soybean aphid resistance genes in soybean PI 587732. Theoretical and Applied Genetics. 127: 1251-1259.
14. Kimura, M. and J.F. Crow. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics. 49: 25-38.
15. Kwon, S.J. 2002. Relationship between genetic divergence and hybrid performance in japonica rice grown in a cold water-irrigated field. Euphytica, 28: 389-396.
16. Li, Y. H., J. M., Smulders, R.Z. Chang, and L.J. Qiu. 2011. Genetic diversity and association mapping in a collection of selected Chinese soybean accessions based on SSR marker analysis. Conservation Genetics, 12: 1145-1157
17. Mahjoob, B., H. NajafiZarini and S.H.R. Hashemi. 2014. Assessment of Genetic Relationships among 36 Brassica Genotypes using ISSR Molecular Markers. Journal of Crop Breeding, 6(14): 96-106 (In Persian).
18. Marsan, P.A., P. Castiglioni, F. Fusari, M. Kuiper and M. Motto. 2004. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as reveled by RFLP and AFLP markers. Theoretical and Applied Genetics, 96(2): 219-227.
19. Mukuze, C., P. Tukamuhabwa, M. Maphosa, S. Dari, I.O. Dramadri, T. Obua, H.M. Kongai and P. Rubaihayo. 2020. Genetic diversity analysis among soybean genotypes using SSR markers in Uganda. African Journal of Biotechnology, 19(7): 439-448.
20. Mulato, B.M., M. Moller, M.I. Zucchi, V. Quecini and J.B. Pinheiro. 2010. Genetic diversity in soybean germplasm identified by SSR and EST-SSR markers. Pesquisa Agropecu aria Brasileria, 45: 276-283.
21. Munir, A., S. Armghan, M. Iqbal, M. Asif and A.H. Hirani. 2013. Morphological and molecular genetic variation in wheat for salinity tolerance at germination and early seedling stage. Australian Journal of Crop Science, 7(1): 66-74.
22. Naghavi, M.R., B. Ghareyazi and G. Hosseni Salekdeh. 2005. Molecular Marker. 320 pp. University of Tehran Press, Iran (In Persian).
23. Qiu, L.J. and R.Z. Chang. 2009. The Origin and History of Soybean. In: Sing, G. (ed) The Soybean: Botany, Production and Uses. 1-23 pp. CAB International. London, UK.
24. Reif, J. 2004. Assessing the genetic diversity in crops with molecular markers: theory and experimental results with CIMMYT wheat and maize elite germplasm and genetic resources. PhD. thesis. The University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, 81 pp.
25. 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 dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 81: 8014-8018.
26. Shannon, C. E., and W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, IL, USA.
27. Ssendege, G., T. Obua, R. Kawuki, M. Maphosa and T.P. Tukamuhabwa. 2015. Soybean genetic diversity and resistance to soybean rust disease in Uganda. Agricultural Journal, 10(3-6): 17-23.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

28. Sun, B., C. Fu, C. Yang, Q. Ma, D. Pan and H. Nian. 2013. Genetic diversity of wild soybeans from some regions of southern china based on SSR and SRAP markers. American Journal of Plant Sciences, 4: 257-268.
29. Tantasawat, P., J. Trongchuen, T. Prajongjai, S. Jenweerawat and W. Chaowiset. 2011. SSR analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Genetic relationship and variety identification in Thailand. Australian Journal of Crop Science. 5(3): 283-290.
30. Tommasini, L., J. Batley, G.M. Arnold, R.J. Cooke, P. Donini, D. Lee, J.R. Law, C. Lowe, C. Moule, M. Trick and K.J. Edwards. 2003. The development of multiplex simple sequence repeats (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. Theoretical and Applied Genetics, 106: 1091-1101.
31. Wang, M., R.Z. Li, W.M. Yang and W.J. Du. 2010. Assessing the genetic diversity of cultivars and wild soybeans using SSR markers. African Journal of Biotechnology, 9: 4857-4866.
32. Zhang, G. W., S. C. Xu, W. H. Mao, Q. Z. Hu, and Y. M. Gong. 2013. Determination of the genetic diversity of vegetable soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] using EST-SSR markers. Journal of Zhejiang University Science, 4: 279-288.
33. Zulj Mihaljevic, M., H. Sarcevic, A. Lovric, Z. Andrijanic, A. Sudaric, G. Jukic and I. Pejic. 2020. Genetic diversity of European commercial soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] germplasm revealed by SSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution, 67: 1587-1600.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]

Evaluation of Allelic Diversity in Soybean Breeding lines (*Glycine max*, L) using Microsatellite markers (SSR)

Hamid Reza Babaei

Research Assistant of Professor of Horticulture Crops Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran,
(Corresponding Author: 30241hrbabaei@gmail.com)
Received: 13 February, 2021 Accepted: 22 November, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Due to the limitation of morphologically distinguishing features that are not dependent on the environment and their Appearance forms, recognition and selection among similar lines for breeders will be associated with problems. Therefore, the use of molecular markers as a complementary method for assessing agronomic properties will be useful in identifying and selecting superior breeding lines. The aim of this study was to investigate the genetic differences of advanced soybean breeding lines to select the desired lines and eliminate duplicate lines.

Materials and Methods: in Karaj in 2013, 64 F7 generation soybean lines were planted in the greenhouse and at the appropriate time, leaf samples were taken from the seedlings of the lines and DNA samples were extracted. The resulting DNA solution was used for quantification and quality and preparation of appropriate concentration for polymerase chain reaction (PCR) by 20 microsatellite markers. After determining the genotype of the lines by polymorphic markers, Scoring genetic bands, Statistical analysis was performed using genetic data to estimate the genetic diversity indices including the number of observed and effective alleles, heterozygosity and homozygosity percentage, polymorphic information content and Shannon index. Also, for grouping the studied lines, cluster analysis by neighborhood connection method and simple similarity coefficient were used, and analysis by principal coordinates was used to check the accuracy of cluster analysis results.

Results: Based on the results of 20 microsatellite markers used to determine genetic diversity, 14 polymorphic markers showed. A total of 41 alleles were identified for gene loci, with the average number of alleles observed for each gene locus being 2.93 and the average number of effective alleles being 2.36. The range of Shannon (I) index ranged from 0.29 to 1.56 and the range of polymorphic information content (PIC) ranged from 0.78 to 0.16. Based on the measured genetic diversity indices, Sat_218 and Sat_117 markers had higher differentiation power. The cluster analysis divided the breeding lines into four groups and eight subgroups. The first three components of the principal coordinate analysis accounted for 36.6% of the total variance of the changes. The three-dimensional diagram divided the breeding lines into four groups, which was compatible relatively well with the clustering resulting from the cluster analysis.

Conclusion: In general, the results of the present study showed that the markers used had acceptable polymorphism and Sat_218 and Sat_117 markers had a higher ability to differentiate between genotypes and reveal allelic diversity. Therefore, molecular markers had the necessary efficiency to evaluate and select superior breeding lines in advanced generations.

Key word: Cluster analysis, number of effective alleles (A_e), Principal components analysis and Shannon index (I), Polymorphic information content (PIC)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-10-16]

[DOI: 10.52547/jcb.13.40.122]