مطالعه مورفولوژیکی و بیوشیمیایی جهت تشخیص تنوع ژنتیکی جمعیت‌های یولاف زراعی

مهدی کاکایی[1*]، حجت‌اله مظاهری لقب[2]، دانیال کهریزی[3*]

1 مربی دانشگاه پیام نور گروه علمی مهندسی کشاورزی (ژنتیک و اصلاح نباتات)، تهران.
2 دانشیار اصلاح نباتات- دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان.
3 دانشیار اصلاح نباتات- دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه.

تاریخ دریافت: 1391/4/4، تاریخ پذیرش: 1391/7/9

چکیده

مطالعه صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی جهت تشخیص تنوع ژنتیکی گامی مهم و اساسی در اکثر برنامه‌های اصلاحی می‌باشد. در مطالعه حاضر از داده‌های حاصل از صفات کمی و الگوی باندی پروتئین‌های بذر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و طبقه بندی برخی از ژنوتیپ‌های یولاف زراعی استفاده گردید. برای این منظور 10 ژنوتیپ یولاف با آرایش طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر برخی صفات مطالعه شده دارای اختلاف معنی‌دار هستند. تجزیه‌ی خوشه‌ای به روش UPGMA برای داده‌های زراعی، ژنوتیپ-های مورد ارزیابی را در سه گروه قرار داد. بیشترین سود ژنتیکی برای صفت طول برگ پرچم (94/74) مشاهده گردید. برای تعیین همبستگی بین صفات مورفولوژیکی و مولکولی از آزمون مانتل– هانزل (Mantel - Haenszel) استفاده گردید و همبستگی معنی‌داری بین صفات مورفولوژیکی و داده‌های مولکولی مشاهده نشد. با توجه به فواصل ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها، در برنامه‌های بهنژادی جهت به دست آوردن مقدار هتروزیس، تلاقی ژنوتیپ‌های 212 با ژنوتیپ‌های 217، 202، 204 و 201 با توجه به ضرایب تشابه مورفولوژیکی قابل توجیه می‌باشد. در تحقیقات آتی، مطالعه آزمایشات مشابه به همراه تعداد بیشتری از ژنوتیپ‌ها توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *یولاف، فاصله ژنتیکی، صفات مورفولوژیکی، سود ژنتیکی، SDS-PAGE.*

* نویسنده مسئول: مهدی کاکایی تلفن: 09188162875 Email: Mehdikakaei37@gmail.com

* دانیال کهریزی، دانشیار اصلاح نباتات- دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه Email: dkahrizi@yahoo.com

مقدمه

یولاف مزروعی (*Avena sativa* L.) گیاهی است یکساله که در میان غلات از نظر تولید مقام پنجم را در جهان داراست. یولاف، بیشتر در نیمکره شمالی کشت می‌شود، کشورهای مهم تولید کننده آن عبارتند از آمریکا، کانادا، اتحاد جماهیر شوروی و کشورهای واقع در شمال غربی اروپا. کیفیت و کمیت پروتئین در یولاف متغیر است، تقریباً 90 درصد محصول آن به مصرف دام می‌رسد. یولاف همچنین در تغذیه انسان به کار می‌رود. منشأ یولاف مزروعی مشخص نیست ولی به صورت وحشی از زمان-های خیلی قدیم در مزارع گندم وجود داشته است (Yazdi Samadi & Abdemeshani, 2005). یولاف یکی از غلات علوفه‌ای مهم در مناطق معتدل است. اهمیت این گیاه به خاطر درصد بالای پروتئین و نیز کیفیت مطلوب آن در دانه و علوفه می‌باشد (Rezaie, 1982; Jazayeri & Rezaie, 2006). اصلاح نباتات بر پایه تنوع و گزینش بنا نهاده شده و تنوع ژنتیکی حوزه فعالیت و انتخاب اصلاح‌گر را برای گزینش و دیگر عملیات اصلاحی افزایش می‌دهد (Abouzari Gazafrodi & Fotokian, 2008). وجود تنوع ژنتیکی جهت والدین در برنامه‌های به نژادی دارای اهمیت بسیار است. از جمله روش-های بررسی تنوع ژنتیکی، می‌توان به روش‌های مورفولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی اشاره کرد. اطلاع درباره تنوع و ارتباط ژنتیکی میان ژنوتیپ-ها کمک بزرگی در تعیین راهبردهای توسعه محصولات به شمار می‌رود (Kakaei *et al.* 2009). مطالعه تنوع ژنتیکی به کمک تکنیک Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) جهت بدست آوردن تنوع و فاصله ژنتیکی از اندام‌های مختلف گیاهان مورد تحقیق بسیاری از محققین علوم زیستی قرار گرفته است، (Kakaei, 2009؛ et al., Kakaei and Kahrizi, ؛ Kakaei, 2010-b Vural, ؛ Kakaei and Kahrizi, 2011-b؛2011-a Valizadeh, 2001؛et al., 2009؛ Mahmoudzadeh *et al*, 2003). پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر به عنوان نشانگرهای ژنتیکی به چهار منظور بررسی می‌شوند: 1- آنالیز فاصله ژنتیکی درون و برون گونه‌ای، 2- اهلی کردن گیاهان، اصلاح و حفاظت از منابع ژنتیکی، 3- قرابت ژنتیکی و 4) بعنوان ابزاری جهت توسعه محصولات (Ghafoor & Ahmad, 2005; Kakaei & Kahrizi, 2011). پروتئین‌ها بطور مستقیم به وسیله اسیدهای نوکلئیک کدگذاری می‌شوند. پس به لحاظ ژنتیکی، اختلاف در پروتئین‌ها باید در تغییر رفتار الکتروفورزی نمایان شود (Mahmoudzadeh *et al*, 2003). در پژوهشی Kakaei and Kahrizi (2011) فاصله ژنتیکی برخی از ژنوتیپ گندم نان را بر اساس الگوی باندی پروتئین بذر، مطالعه و تنوع باندی و فاصله ژنتیکی بین آنها تعیین و گزارش کردند. در پژوهشی Kakaei et al, 2009 با مقایسه فاصله ژنتیکی و مورفولوژیکی برخی از ژنوتیپ‌های کلزا بر اساس SDS-PAGE پروتئین‌های برگ،

همبستگی معنی‌داری بین صفات مورفولوژیکی و داده‌های مولکولی مشاهده کردند. Moradi 2008 در مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف گندم دوروم به کمک صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی و بررسی آزمون مانتل مشخص کرد که الگوی باندی حاصل از نشانگرها و صفات زراعی ارزیابی مشابهی از تنوع موجود در بین ژنوتیپ-های مورد مطالعه داشته‌اند. در پژوهشی Najafabadi et al, 2008، جهت مطالعه تنوع ژنتیکی بخشی از ژرم پلاسم خربزه ایرانی نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی را مورد استفاده قرار دادند. نقوی و همکاران، (2009) تنوع ژنتیکی گندم دوروم را بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی و پروتئینی بررسی کردند. محققین با آگاهی از پارامترها و سیستم ژنتیکی (وراثت پذیری و ..)، جهت برنامه‌های به‌نژادی گیاهان تصمیم‌گیری می‌کنند. در پژوهشی Kahrizi et al, 2010 وراثت پذیری و سود ژنتیکی را برای برخی صفات مورفولوژی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم ارزیابی کردند. با توجه به اهمیت اطلاع از تنوع ژنتیکی که مبنای تمامی گزینش‌ها در برنامه-های بهنژادی می‌باشد و همچنین اهمیت آگاهی از سود ژنتیکی صفات جهت انتخاب، در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس صفات زراعی و نشانگر بیوشیمیایی (SDS-PAGE) و روابط بین این دو بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت مزرعه‌ای-آزمایشگاهی انجام شد که از نوع تحقیقات کاربردی می‌باشد. آزمایش در سال زراعی 90-1389 در مزرعه آزمایشی دانشگاه پیام نور مرکز اسدآباد واقع در 45 کیلومتری همدان اجرا گردید. در این پژوهش تنوع ژنتیکی (بر اساس صفات زراعی و الگوی باندهای الکتروفورزی) ده ژنوتیپ یولاف (جدول 1) تهیه شده از مؤسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. هر کرت شامل 7 ردیف کاشت به طول 2/5 متر و فاصله ردیف 20 سانتی متر بود.

جدول 1- ژنوتیپ‌های یولاف زراعی مورد مطالعه در این تحقیق.

Table 1- The *Avena sativa* genotypes that have been used in current study.

شماره Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ترتیب کد ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مزرعه‌ای Genotype code based on field data	O-217	O-203	O-205	O-216	O-212	O-206	O-202	O-204	O-201	O-211
ترتیب کد ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مولکولی Genotype code based on molecular data	O-205	O-204	O-202	O-206	O-216	O-211	O-203	O-217	O-201	O-212

صفات زراعی شامل وزن تک بوته، محتوای کلروفیل (بر اساس قرائت دستگاه اسپاد[1]) مرحله 50 و 100 درصد خوشه دهی، عرض برگ پرچم، طول برگ پرچم، مساحت برگ پرچم ، طول سنبله، ارتفاع از طوقه تا برگ پرچم، ارتفاع کل بوته، طول پدانکل، وزن صد دانه، عملکرد بیولوژیک (مجموع عملکرد بذر و وزن خشک) و تعداد دانه در سنبله توسط روش-های استاندارد اندازه گیری شدند.

برای الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از الکتروفورز روی ژل پلی اکریل آمید (SDS-PAGE) استفاده گردید.

الف: استخراج پروتئین کل: استخراج پروتئین کل با استفاده از روش((Xi *et al.*, 2006)، با مختصری تغییرات) صورت پذیرفت.

ب: آماده سازی ژل الکتروفورز: در این مطالعه از روش SDS-PAGE (الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید با حضور سدیم دو دسیل سولفات) استفاده گردید Laemmli 1970 با کمی تغییرات، (Mostafaie, 2002). مقدار پروتئین با استفاده از روش Bradford, 1976 ارزیابی شد. ژل‌های جدا کننده (ژل پایین) و متراکم کننده (ژل بالا) به ترتیب با غلظت‌های 12/5 و 5 درصد، بهترین نسبت‌ها برای تفکیک مناسب باندهای پروتئینی تشخیص داده شد. 12 میکرولیتر از هر نمونه با غلظت یکسان پروتئین استخراج شده جهت الکتروفورز با سرنگ هامیلتون در داخل چاهک‌ها قرار گرفت. الکتروفورز با شدت جریان (ولتاژ) 50 ولت برای حرکت پروتئین‌ها در ژل بالا (0/5 ساعت) و جریان 150 ولت برای حرکت پروتئین‌ها در ژل جدا کننده (1/5 ساعت) تا رسیدن رنگ نشانگر به انتهای ژل ادامه یافت. بعد از الکتروفورز به مدت 1 ساعت با کوماسی بلو بریلیانت R-250 رنگ آمیزی انجام و سپس ژل با محلول رنگ‌بر (حاوی: متانول، اسید استیک گلاسیال و آب مقطر) رنگ‌بری، و در نهایت اسکن شدند. از پروتئین‌های استاندارد (تولید شده توسط مرکز تحقیقات بیولوژی-پزشکی کرمانشاه) اوترانسفرین (78 کیلو دالتون)، آلبومین گاوی (66 کیلو دالتون)، اوآلبومین (45 کیلو دالتون)، اکتینیدین (29 کیلو دالتون)، بتا- لاکتوگلوبولین (18 کیلو دالتون) و لیزوزیم (14 کیلو دالتون) به عنوان نشانگر در ژل استفاده گردید.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات، مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (به روش دانکن) توسط نرم افزار (MSTAT-C) قرارگرفتند. پس از تجزیه واریانس، تجزیه‌های چند متغیره از جمله تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA در محیط نرم افزاز SPSS انجام گردید. با استفاده از الگوی پروتئینی بذر ژنوتیپ-های مورد مطالعه و اختصاص داده‌های صفر (عدم حضور باند پروتئینی) و 1 (حضور باند پروتئینی) با کمک نرم افزار NTSYS نگارش 2.02e، تجزیه خوشه‌ای آنها به روش (UPGMA) انجام گردید. جهت مطالعه همسویی و مقایسه نتایج داده‌های مورفولوژیکی و داده‌های مولکولی از آزمون مانتل توسط نرم افزار

[1] SPAD (Soil Plant Analytical Development)

XLSTAT-2011 استفاده گردید. ضرایب فنوتیپی و ژنوتیپی و وراثت پذیری بر اساس روش Singh and Choudhury, 1985 و ضرایب تنوع بر اساس فرمول پیشنهادی Burton, 1952 محاسبه گردید، و جهت طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر مبنای کلیه صفات زراعی و تشخیص نزدیکی و تفاوت ژنتیکی میان نمونه‌ها مورد مطالعه، از روش ناپارامتری تجزیه خوشه‌ای استفاده گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها: آمار توصیفی صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های یولاف درجدول 2 نشان داده شده است. صفات مورد مطالعه شامل تعداد دانه در سنبله، مساحت برگ پرچم، ارتفاع از طوقه تا برگ پرچم، محتوای کلروفیل (در مرحله 50 و 100 درصد خوشه دهی)، وزن 100 دانه، وزن تک بوته، طول پدانکل، طول خوشه بدون احتساب ریشک و عرض برگ پرچم، ارتفاع کل بوته، عملکرد بیولوژیک و طول برگ پرچم می‌باشد، در بیشتر صفات مورد ارزیابی تنوع مناسبی در بین مواد آزمایشی وجود دارد. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در جدول 3 ارائه شده است. بر اساس این جدول ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی برای صفات تعداد دانه در سنبله، مساحت برگ پرچم، محتوای کلروفیل (اسپاد) (مرحله 50% خوشه دهی)، محتوای کلروفیل (اسپاد) (مرحله 100% خوشه دهی)، وزن 100 دانه و طول برگ پرچم در سطح 1% معنی دار هستند، که می‌توان جهت برنامه‌های بهنژادی (انتخاب) از آنها استفاده نمود. مطابق جدول 4 اجزای واریانس، ضریب تنوع، پیشرفت ژنتیکی، سود ژنتیکی و قابلیت توارث در 10 نمونه جمعیت یولاف زراعی برای صفاتی- که در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار بوده‌اند. همان طور که از جدول مذکور پیداست وزن 100 دانه و طول برگ پرچم بترتیب دارای بیشترین درصد وراثت پذیری می‌باشند، که در نتیجه بازده ناشی از انتخاب برای این صفات در برنامه‌های اصلاحی بالا خواهد بود. ضریب تنوع ژنتیکی برای صفات طول برگ پرچم و مساحت برگ پرچم به ترتیب بیشترین مقدار می‌باشد که نشان- دهنده تنوع بالا در بین مواد آزمایشی مورد ارزیابی برای این صفات می‌باشد. ضریب تنوع ژنتیکی برای سایر صفات، بین 0/055 تا 0/090 متغیر بود که نشان از تنوع کم آنها می‌باشد. برآورد اجزای واریانس، ضریب تنوع و قابلیت توارث در 21 نمونه از گونه علف باغ توسط محمدی و همکاران (2008)، مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفته‌اند. جدول 5 مقایسه میانگین صفات توسط آزمون دانکن (5%) صفات را نمایش می‌دهد.

جدول 2- آمار توصیفی صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های یولاف مورد بررسی.

Table 2- Descriptive statistics for traits in this study for *Avena sativa* genotypes.

دامنه تغییرات Rang	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	میانگین Mean	علامت اختصاری Abbreviation	صفت
26.17	77.50	51.33	62.7	NGPS	تعداد دانه در سنبله Number of grains per spike
19.2	33.73	14.53	23.34	FLA	مساحت برگ پرچم Flag leaf area
19.54	67.27	47.73	60.34	HCFL	ارتفاع از طوقه تا برگ پرچم Height of the crown to flag leaf
19.96	57.87	37.91	47.32	SPAD 50F	اسپاد (در مرحله 50 درصد خوشه دهی) SPAD (in 50% flowering stage)
10.20	70	59.80	64.49	SPAD 100F	اسپاد (در مرحله 100 درصد خوشه دهی) SPAD (in 100% flowering stage)
28.52	30.74	2.214	2.626	HGW	وزن 100 دانه Hundred grain weight
11.07	22.98	11.91	17.74	YPP	عملکرد تک بوته Yield per plant
4.27	11.47	7.20	9.15	PL	طول پدانکل Peduncle length
5.73	23	17.27	20.11	PLWA	طول خوشه بدون ریشک Panicle length without awn
0.5	1.833	1.333	1.55	FLW	عرض برگ پرچم Flag leaf width
14	97.33	83.33	88.82	PH	ارتفاع کل بوته Plant height
0.54	1.362	0.818	1.06	BY	عملکرد بیولوژیک Biological yield
9.3	23.63	14.33	17.622	FLL	طول برگ پرچم Flag leaf length

جدول 3- تجزیه واریانس ساده صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های یولاف زراعی (اختصارات بر اساس جدول 2 می‌باشد).

Table 3- Simple ANOVA for investigated traits in *Avena sativa*. (Abbreviations are based on table 2).

میانگین مربعات (Mean of Square)											درجه آزادی	منابع تغییر
YPP	PLWA	BY	FLL	FLW	HGW	SPAD 100F	SPAD 50F	HCFL	FLA	NGPS	Degree of freedom	Sources of Variation
1.224	6.036	0.002	13.294	0.004	0.118	6.367	53.641	26.290	16.900	231.700	2	بلوک Block
46.881^{ns}	6.153 ^{ns}	0.119^{ns}	30.128**	0.068 ^{ns}	0.286*	120.705**	43.410**	67.822^{ns}	112.067**	189.441**	9	ژنوتیپ Genotype
32.761	10.920	0.097	5.743	0.057	0.122	62.867	11.762	157.184	23.500	153.219	18	اشتباه Error
32.27	36.13	29.44	13.60	15.29	13.33	16.67	5.32	14.12	20.77	19.74		ضریب تغییرات (Coefficient of Variation%)

جدول 4- برآورد اجزای واریانس، ضریب تنوع، پیشرفت ژنتیکی، سود ژنتیکی و قابلیت توارث در 10 نمونه جمعیت یولاف. (اختصارات بر اساس جدول 2).

Table 4- Estimation of variance components, coefficient of variation, genetic advanced, genetic gains and heritability in 10 *Avena sativa* genotypes. (Abbreviations are based on table 2).

قابلیت توارث عمومی % General Heritability	سود ژنتیکی genetic gains	پیشرفت ژنتیکی genetic advanced	ضریب تنوع Coefficient of variation			برآورد اجزای واریانس Estimation of variance components			صفات Traits
			محیطی Environmental	ژنتیکی Genetics	فنوتیپی Phenotypic	محیطی Environmental	ژنتیکی Genetics	فنوتیپی Phenotypic	
30.91	10.167	0.267	0.132	0.088	0.159	0.122	0.154	0.1766	HGW
23.4	6.775	4.368	0.122	0.068	0.140	62.867	19.279	82.146	SPAD 100F
3.52	2.141	1.342	2.444	0.055	0.295	153.219	12.074	342.66	NGPS
19.12	8.175	2.922	0.095	0.090	0.207	11.762	10.549	55.172	SPAD 50F
21.7	22.308	5.204	0.207	0.2328	0.499	23.50	29.522	135.567	FLA
22.6	94.74	16.70	0.325	0.461	2.035	5.743	8.128	35.78	FLL

جدول 5- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها توسط آزمون دانکن (5%) بر اساس صفات مورد بررسی. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی داری ندارند. (اختصارات بر اساس جدول 2 می‌باشد).

Table 5- Mean comparisons of *Avena sativa* genotypes by Duncan's test (%5). In each column similar letters show that there is no significant difference. (Abbreviations are based on table 2).

FLL (cm)	BY ($kg.m^{-2}$)	PH (cm)	FLW (cm)	PLWA (cm)	PL (cm)	YPP (gr)	HGW (gr)	SPAD 100F	SPAD 50F	HCFL (cm)	FLA (cm)	NGPS	کد ژنوتیپ Genotype code
16.33 c	1.344a	86.43 a	1.567ab	19.33 ab	8.467 a	22.98 a	2.243cd	68.29 a	57.8 a	62.33 a	20.27 cd	62.33ab	1
18.80 bc	0.8187 a	83.80 a	1.833 a	21.05 ab	8.300 a	15.26 a	2.214 d	66.74 ab	56.30 ab	62.40 a	abc 26.43	57.17 ab	2
14.33 c	1.233 a	88 a	1.500 ab	19.80ab	11 a	19.74 a	2.778a-d	59.89 c	52.81abc	62.27 a	22.33bcd	77.50a	3
15.47 c	1.362 a	97.33 a	1.600 ab	20.17 ab	10.67 a	17.05 a	2.747a-d	61.72 bc	42 bc	56.23 bc	19.23 cd	65 ab	4
14.53 c	0.9133 a	87.20 a	1.333b	17.27 b	8.167 a	11.91 a	2.951 ab	60.99 bc	44.68abc	55.13a	15.37 d	55 ab	5
21.30 ab	0.9230 a	84.60 a	1.400 ab	20.33 ab	7.200a	13.19 a	3.074 a	63.62abc	37.91 c	60.13a	26.17abc	51.33b	6
18.40bc	0.9230 a	94.87 a	1.667 ab	20.07 ab	11.47 a	14.02 a	2.506abcd	65.36abc	44.91abc	56.60a	26.07abc	59 ab	7
19 bc	1.060 a	91.40 a	1.650 ab	21 ab	9.400 a	20.48 a	2.314 bcd	59.80 c	44.71a-c	55.13a	29.23 ab	61.50ab	8
14.43 c	1.143 a	83.33 a	1.400 ab	18.13ab	8.067 a	21.01 a	2.531abcd	70 a	46.15a-c	47.73a	14.53 d	72.83ab	9
23.63a	0.8783a	91.20 a	1.600ab	23 a	8.733 a	21.72 a	2.902abc	68.46a	45.83abc	60.40a	33.73a	65.33ab	10

همبستگی ساده صفات

جدول 6 ضرایب همبستگی ساده بین صفات زراعی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های یولاف را نشان می‌دهد. اطلاع از چگونگی ارتباط بین صفات مختلف در پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی برای افزایش عملکرد دانه اهمیت دارد. زیرا انتخاب یک طرفه برای صفات زراعی بدون در نظر گرفتن صفات دیگر نتایج مطلوبی نخواهد شد. لذا در برنامه‌های اصلاحی می‌بایستی به همبستگی بین صفات توجه گردد (Karami *et al*, 2005). بین صفات طول سنبله و عرض برگ پرچم همبستگی نسبتاً بالا (0/682) و معنی‌داری وجود دارد که می‌توان با انتخاب عرض برگ پرچم طویل‌تر، طول سنبله را افزایش داد که نهایتاً به عملکرد بالا منتهی می‌شود. بین صفات طول برگ پرچم و مساحت برگ پرچم همبستگی بالایی (0/893) در سطح احتمال 1% وجود دارد یعنی با افزایش صفت طول برگ پرچم صفت مساحت برگ پرچم هم افزایش می‌یابد که می‌تواند سطح فتوسنتز کننده گیاه را افزایش دهد. صفت طول سنبله همبستگی بالایی با صفت مساحت برگ پرچم (0/941) و صفت طول برگ پرچم (0/827) دارد. افزایش مساحت برگ پرچم منجر به افزایش طول سنبله می‌گردد که جهت افزایش عملکرد و انتخاب می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود. بلندی ارتفاع بوته همبستگی مثبتی با مساحت برگ پرچم دارد که هر چه رشد رویشی گیاه بیشتر باشد مساحت برگ پرچم را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش ارتفاع کل بوته منجر به افزایش طول پدانکل می‌گردد، بلندی ارتفاع منجر به بلندی پدانکل می‌شود که امری بدیهی است. صفت وزن صد دانه با صفات عرض برگ پرچم و محتوای کلروفیل همبستگی منفی دارد و همچنین صفات تعداد دانه در سنبله با صفت وزن تک بوته نیز دارای همبستگی منفی هستند.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها

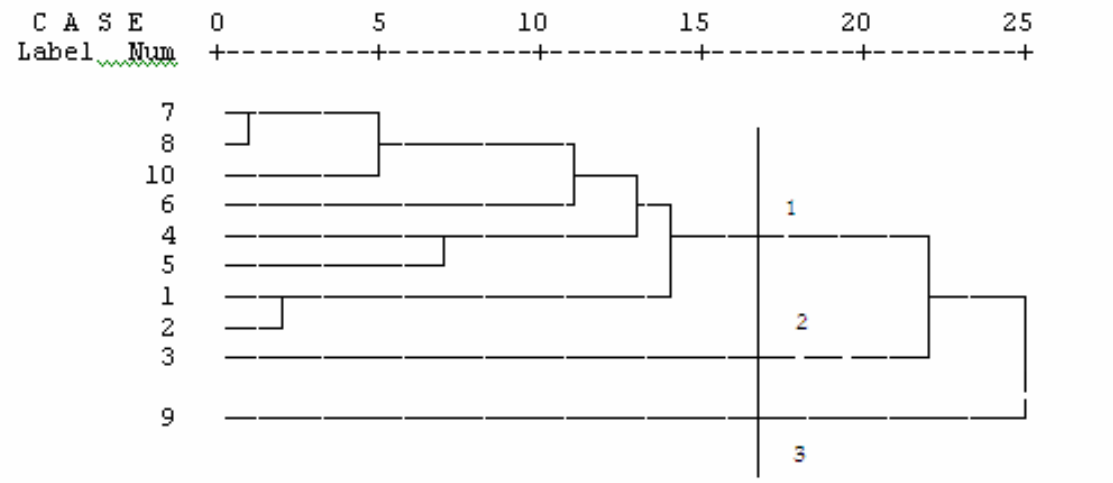
نتایج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نشان داد با ترسیم خط برش از مقیاس 16+ دندروگرام (تأیید تجزیه تابع تشخیص) شکل1، به 3 خوشه تقسیم شد. ژنوتیپ شماره 3 در گروه دوم، ژنوتیپ شماره 9 در گروه سوم و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه اول قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های شماره 3 و 9 که به ترتیب در خوشه دوم و سوم حضور دارند، دارای بیشترین میانگین وزن تک بوته و تعداد دانه در سنبله می‌باشند. قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در سه گروه نشان‌دهنده وجود تنوع می‌باشد که مورد تأیید صد درصدی تجزیه تابع تشخیص بود (جدول 7). از آنجایی که ژنوتیپ‌های موجود در یک گروه (خوشه) دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های مختلف دیگر می‌باشند، پس در صورت نیاز به برنامه‌های به‌نژادی همچون تلاقی، با توجه به موجود بودن ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلف، می‌توان از تفکیک متجاوز و هتروزیس استفاده نمود. در به‌نژادی انتخاب نیازمند تنوع ژنتیکی می‌باشد و با افزایش تنوع ژنتیکی در یک جمعیت دامنه انتخاب گسترده‌تر می‌شود.

جدول 6- ضریب همبستگی ساده بین صفات زراعی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های یولاف (اختصارات بر اساس جدول 2 می‌باشد).

Table 6- Correlation coefficient between agronomy traits in *Avena sativa* genotypes under study. (Abbreviations are based on table 2).

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)
YPP (1)	1												
SPAD 50F (2)	0.434	1											
FLW (3)	0.140	0.434	1										
FLL (4)	0.008	-0.259	0.348	1									
FLA (5)	0.135	-0.060	0.571	0.839**	1								
SPAD 100F (6)	0.363	0.299	0.133	0.249	0.020	1							
PLWA (7)	0.215	-0.032	0.682*	0.827**	0.941**	0.134	1						
HCFL (8)	0.029	0.312	0.531	0.314	0.636*	-0.384	0.551	1					
PH (9)	-0.017	-0.348	0.294	0.082	0.242	-0.360	0.349	0.267	1				
PL (10)	0.052	0.047	0.348	-0.257	0.085	-0.385	0.238	0.476	0.762*	1			
HGW (11)	-0.394	-0.671*	-0.669*	0.152	-0.031	-0.285	-0.080	-0.230	0.084	-0.122	1		
BY (12)	0.526	0.205	-0.153	-0.595	-0.476	-0.123	-0.313	-0.086	0.249	0.347	-0.178	1	
NGPS (13)	-0.674 *	0.306	-0.071	-0.436	-0.206	0.063	-0.061	-0.070	0.064	0.436	-0.094	0.562	1

استفاده از تجزیه کلاستر جهت گروه‌بندی و اطلاع از تنوع موجود در بین مواد آزمایشی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات زراعی و داده‌های مولکولی (الگوی باندی حاصل از DNA و SDS-PAGE) در جو (Hajmansoor *et al*, 2010)، برنج (Abouzari Gazafrodi & Fotokian 2008) و کلزا (Kakaei *et al*, 2009 & 2010) به کار گرفته شده است. پورمیدانی و میرزایی ندوشن 1378 در مطالعه‌ای با عنوان بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه کلاستر (خوشه‌ای) ژنوتیپ‌های مختلف تاغ (Haloxylon)، ژنوتیپ‌ها را در 5 گروه دسته‌بندی کردند و گزارش کردند که گروه‌ها از نظر تمامی صفات تحت بررسی در سطوح احتمالی 1% و 5% با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. صفات مورفولوژیکی تحت تأثیر محیط رشد قرار می‌گیرند و با توجه به شرایط محیطی و رشدی موجود، موجب بروز تنوع در آنها می‌شود. پس به علت ماهیت پلی ژنتیک بودن این گروه صفات، گروه-بندی بر اساس آنها به دلیل اینکه قادر به بیان دقیق تغییرات ژنتیکی در سطح ژنوم نیستند، ممکن است تحت شرایط محیطی مختلف، نتایج و تغییرات متفاوتی را ایجاد کنند.



شکل 1- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس صفات زراعی مورد مطالعه به روش UPGMA. (اسامی و شماره ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول 1 می‌باشد).

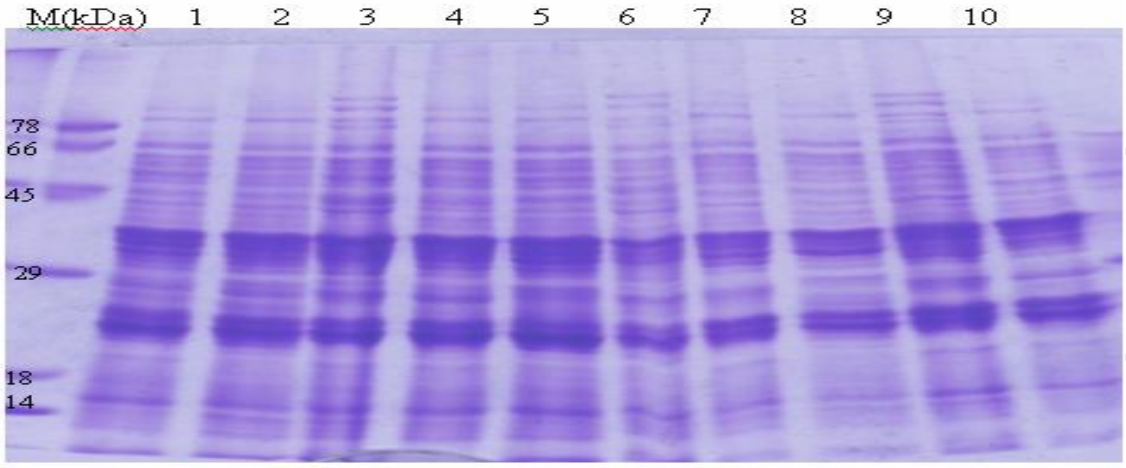
Figure 1- Dendrogram for *Avena sativa* genotypes based on physiological traits via UPGMA method. (The genotype names and numbers are according to table 1).

جدول 7- نتایج تابع تشخیص برای گروه بندی بر اساس صفات زراعی مورد مطالعه ژنوتیپ‌های یولاف.

Table 7- Principle component analysis for grouping based on agronomy traits in *Avena sativa* genotypes.

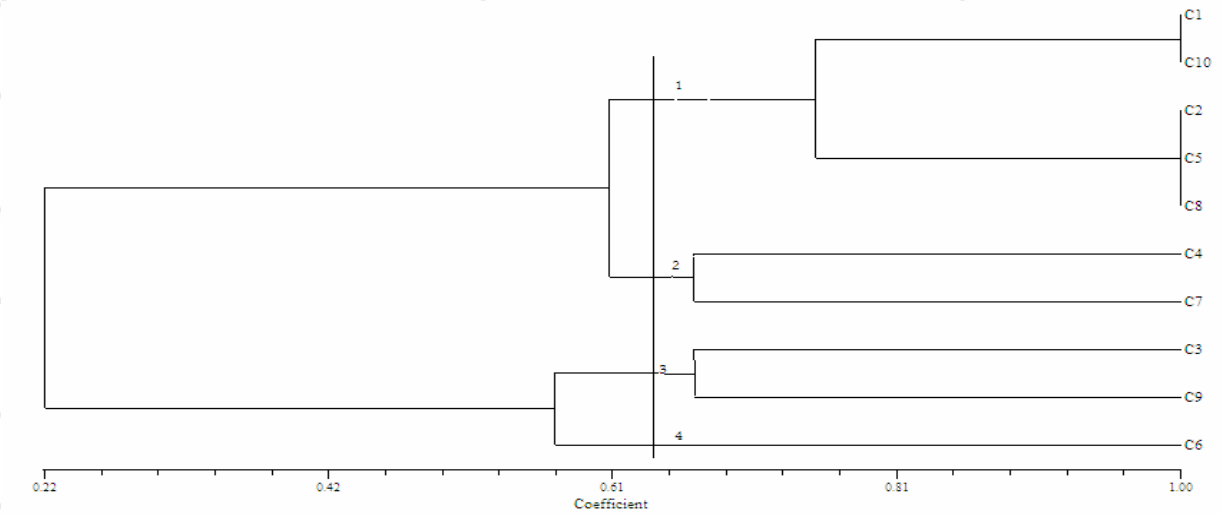
گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای groups obtained from cluster analysis	گروه‌های پیش بینی شده بر اساس تجزیه تابع تشخیص Groups predicted based on Principle component analysis						کل Total	
	1		2		3			
	تعداد number	درصد Percent	تعداد number	درصد Percent	تعداد number	درصد Percent	تعداد number	درصد Percent
2	8	100	0	0	0	0	8	100
2	0	0	1	100	0	0	8	100
3	0	0	0	0	1	100	1	100

شکل 2 الگوی نواری پروتئین‌های بذر یولاف را نمایش می‌دهد. شکل 3 تجزیه کلاستر بر اساس نشانگر SDS-PAGE به روش UPGMA را نشان می‌دهد که در فاصله بین 0/61 تا 0/81 به 4 گروه تقسیم می‌شوند، که ژنوتیپ‌های شماره 1، 10، 2، 5 و 8 در گروه اول، ژنوتیپ‌های 4 و 7 در گروه دوم، ژنوتیپ‌های 3 و 9 در گروه سوم و ژنوتیپ شماره 6 در گروه چهارم قرار گرفته‌اند، که با توجه به این گروه‌بندی در برنامه‌های تلاقی می‌توان از آنها بهره‌مند شد، و شکل 4 تجزیه کلاستر صفات کیفی و صفات مرفولوژیکی (صفات زراعی) را نمایش می‌دهد که بر اساس خط برش در محدوده 0/25 تا 0/42 ژنوتیپ‌ها را در 4 گروه قرار می‌دهد. طبق ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه جاکارد نشانگر پروتئینی (جدول 8) بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های 202 با 205، 204، 206 و 216-211 با 205 و 212 می‌باشد و بر اساس ماتریس تشابه جاکارد بر اساس نشانگر مورفولوژیکی (داده‌های زراعی) بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌ها 212 با 217 و 203- 206 با 217- 204 و 202 با 212-201 با 212 و 206 می‌باشد.



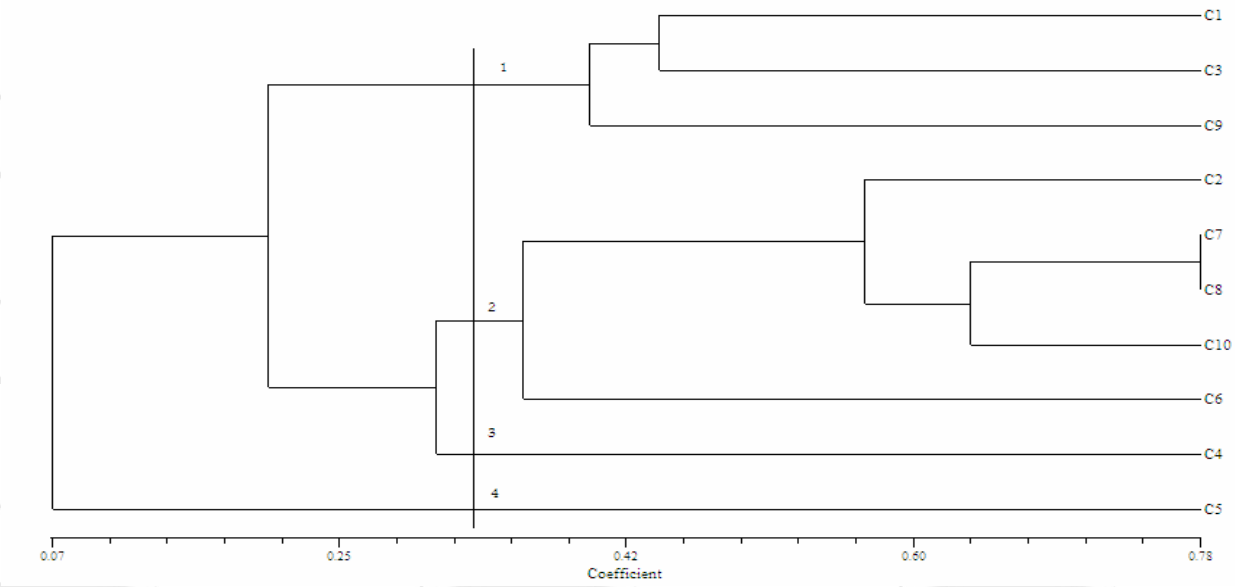
شکل 2- الگوی نواری پروتئین‌های بذر یولاف با استفاده از SDS-PAGE

Figure 2- Avenin sativa protein banding patterns using SDS-PAGE.



شکل 3- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس نشانگر SDS-PAGE، به روش UPGMA. (اسامی و شماره ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول 1 می‌باشد).

Figure 3- Dendrogram for *Avena sativa* genotypes based on SDS-PAGE markers via UPGMA method. (The genotype names and numbers are according to table 1).



شکل4- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس صفات کیفی صفات مورفولوژیکی (صفات زراعی) به روش UPGMA. (اسامی و شماره ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول 1 می‌باشد).

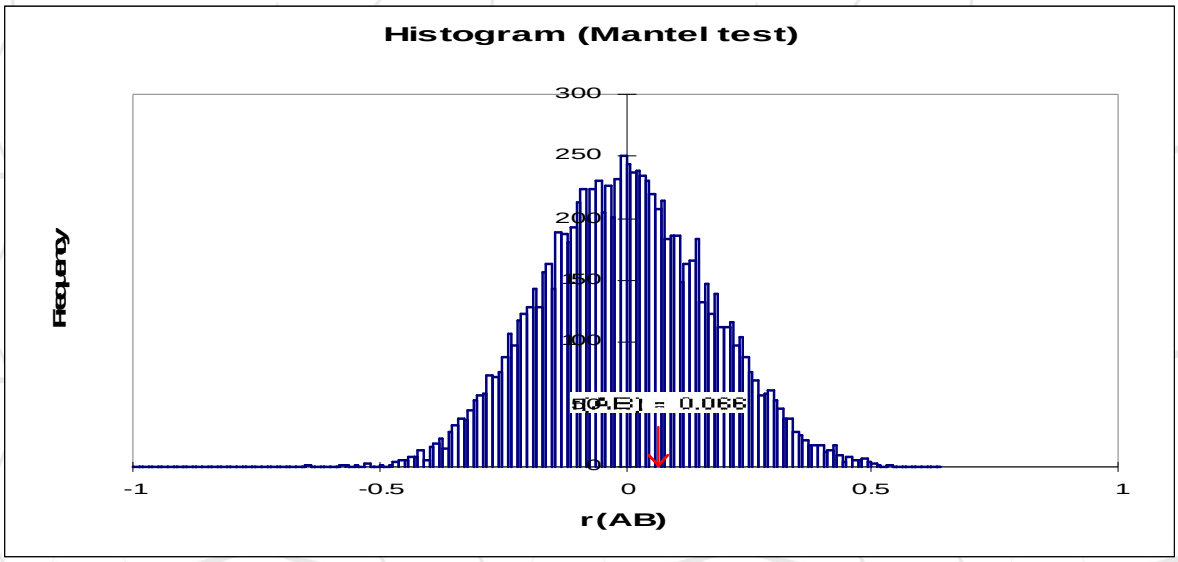
Figure 4- Dendrogram for *Avena sativa* genotypes based on qualitative of physiological traits via UPGMA method. (The genotype names and numbers are according to table 1).

هیستوگرام آزمون مانتل نشانگر پروتئینی با داده‌های مورفولوژیکی در شکل 2 دیده می‌شود، که مقایسه ماتریس تشابه جاکارد حاصل از نشانگر پروتئینی و داده‌های مورفولوژیکی (جدول 9) با استفاده از آزمون مانتل را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که (در سطح احتمال 5%) داده‌های زراعی و مولکولی همسو نیستند. در خیلی مواقع نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی در تطابق کامل با صفات فنوتیپی نیستند که می‌توان ابراز داشت که نشانگرهای مورفولوژیکی (داده‌های زراعی) اجازه نمی‌دهند که افراد بر اساس محیط جغرافیایی خود مشخص شوند، چرا که این صفات تحت تأثیر محیط دستخوش تغییر می‌شوند، به نظر می‌رسد عدم انطباق داده‌های و نتایج حاصل از SDS-PAGE با صفات کمی به علت کنترل پلی‌ژنیکی داده‌های زراعی می‌باشد. تلاقی ژنوتیپ‌های 212 با 217، 202، 204 و 201- 206 با 217 و 201 با 206 با توجه به ضرایب تشابه نشانگرهای مورفولوژیکی قابل توجیه می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان اظهار داشت که بین ژنوتیپ‌ها تنوع موجود است که برای نیل به نتایج بهتر به نظر می‌رسد استفاده از مواد آزمایشی با تعداد بیشتر و صفات گسترده‌تر و همچنین استفاده از نشانگرهای DNA در آزمایش‌های آتی سودمند است. در پژوهشی Kakaei 2009 ماتریس‌های تشابه حاصل از نشانگر پروتئینی و داده‌های مزرعه‌ای در برخی

از ژنوتیپ‌های کلزا را با استفاده از آزمون مانتل در چند مرحله رشد مقایسه و مشاهدات زراعی و نشانگر پروتئینی را در برخی مراحل رشدی گیاه همسو و در برخی مراحل دیگر رشد گیاه، غیر منطبق گزارش کرد. Moradi, 2008، با استفاده از آزمون مانتل انطباق داده‌های مولکولی (DNA) و داده‌های صفات کمی را ارزیابی نمود. بطور کلی پیشنهاد می‌شود در برنامه‌های بهنژادی افزون بر صفات زراعی از نشانگرهای پروتئینی و DNA هم استفاده گردد.

سپاسگزاری

از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور (استان همدان) به لحاظ اختصاص پژوهانه جهت انجام این مطالعه و همه‌ی عزیزانی که نویسندگان را یاری کرده‌اند صمیمانه تشکر می‌کنیم.



شکل 5– هیستوگرام آزمون مانتل نشانگر پروتئینی با داده‌های مزرعه‌ای. این شکل توزیع p-value دو دامنه را نشان می‌دهد.

Figure 5- Histogram of Mantel's test for protein marker with agronomic data. This graph was shown two tailed distribution of P-value.

جدول 8- ماتریس تشابه جاکارد بر اساس نشانگر پروتئینی.

Table 8- Jaccard's similarity matrix based on protein marker (molecular data).

کد ژنوتیپ Genotype code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
205	1									
204	0.75	1								
202	0.142	0.125	1							
206	0.5	0.75	0.142	1						
216	0.75	1	0.175	0.75	1					
211	0.125	0.25	0.571	0.285	0.25	1				
203	0.666	0.5	0.166	0.666	0.5	0.142	1			
217	0.75	1	0.125	0.75	1	0.25	0.5	1		
201	0.333	0.285	0.666	0.333	0.285	0.571	0.4	0.285	1	
1212	1	0.75	0.142	0.5	0.75	0.175	0.666	0.75	0.333	1

جدول 9- ماتریس تشابه جاکارد بر اساس داده‌های زراعی ژنوتیپ‌های یولاف.

Table 9- Jaccard' s similarity matrix based on Agronomy data.

کد ژنوتیپ Genotype code	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
217	1									
203	0.444	1								
205	0.444	0.166	1							
216	0.181	0.166	0.4	1						
212	0	0	0.142	0.142	1					
206	0	0.375	0.1	0.222	0.25	1				
202	0.272	0.666	0.153	0.363	0	0.333	1			
204	0.272	0.5	0.25	0.363	0	0.333	0.777	1		
201	0.428	0.1	0.375	0.22	0	0	0.09	0.09	1	
211	0.333	0.545	0.307	0.416	0.1	0.4	0.636	0.636	0.272	1

منابع

Abouzari Gazafrodi A, Fotokian MH (2008). The investigation of genetic diversity with morphological data in rice varieties (*Oryza Sativa* l). Pajouhesh & Sazandeg 37: 110-117. [in Persian].

Basafa M, Taherian M (2004). Study of genetic variation in alfalfa ecotypes (*Medicago Sativa*) from cold region of Iran, using morphological characters. Iranian Crop Science 8: 121-138. [in Persian].

Bradford MM (1976). A rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Burton GW (1952). Quantitative Inheritance in grasses, Proc. 6th International Grassland Congress. 1: 227-283. Pa. State College, August. 17-23. National Publishing Company, Washington, D. C.

Fareghi SH, Farshadfar M, Farshadfar E (2007). Study of chemical composition and nutrition value of perennial Lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS-PAGE marker. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding AND Genetic Research 15: 196-210. [in Persian].

Ghafoor A, Ahmad Z (2005). Diversity of agronomic traits and total seed protein in black gram *Vigna mungo* (L.) hepper. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47: 69-75 [in Persian].

Hajmansoor S, Bihamta MR, Nabipour A, Mohammadi A, Pirseyedi SM, Nikkhah HR. (2010). Genetic Diversity in Barley Genotypes: I. Seed Storage Proteins (Hordeins) and Agronomic Traits 25: 585-604. [in Persian].

Jazayeri MR, Rezai AM (2006). Evaluation of Drought Tolerance of Oat (*Avena sativa* L.) Cultivars in Climatic Conditions of Isfahan . JWSS - Isfahan University of Technology 10: 393-405. [in Persian].

Kahrizi D, Cheghamirza K, Kakaei M, Mohamadi R and Ebadi A (2010). Heritability and genetic gain of some morpho-physiological variables of durum wheat (*Triticum aestivum turgidum var. durum*). African Journal of Biotechnology 9: 4687-4691.

Kakaei M and Kahrizi D (2010). Evaluation of seed storage protein patterns of ten wheat varieties using SDS-PAGE. Biharean Biologist 5: 116-118.

Kakaei M and Kahrizi D (2011-a). Study of seed proteins pattern of *Brassica napus* varieties via sodium dodecyl sulfate polyacrylamid gel electrophoresis. International Research Journal of Biotecnology 2: 026-028.

Kakaei M and Kahrizi D (2011-b). Evaluation of seed storage protein patterns of ten wheat varieties using SDS-PAGE. Biharean Biologist 5: 116-118.

Kakaei M, Zebarjadi AR and Mostafaie A (2010). Comparison of Genetic and Morpho-physiological Distance via SDS-PAGE Marker in Some Rapeseed Genotypes. Journal of Agriculture Biotechnology of Agricultural 1: 49-57 [In Persian].

Kakaei M, Zebarjadi AR, Mostafaie A, Rezaeizad A (2010). Determination of drought tolerant genotypes in *Brassica napus* L. based on drought tolerance indices. Electronic Journal of Crop Production 3: 107-124 [in Persian].

Kakaei M, Zebarjadi AR, Mostafaie A (2009). Comparison of Genetic and Morpho-physiological Distance via SDS-PAGE Marker in Some Rapeseed Genotypes. Agriculture Biotechnology 2: 79-93 [in Persian].

Kakaei M (2009). Effects of Genotype and drought stress on physiological, morphological,

phonological and biochemical traits of winter rape (*Brassica napus* L.). M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Branch of Kermansha, Iran.

Karami E, Ghannadha MR, Naghavi MR, Mardi M (2005). An Evalution of Drought Resistance in Barley. Iranian Journal Agriculture Science 36 (3), 547-560. [in Persian].

Laemmli UK (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Mahmoudzadeh A, Haidari R, Jamalomidi M (2003). Estimation of genetic distance among Tea varieties using protein electrophoresis and polymorphism for esterase. Journal of Agriculture Scinces Natural Research 10: 73-80 [in Persian].

Mohammadi R, Khayyam-Nekouei M, Mirlohi AF, Razmjoo, Kh (2008). Investigation of genetic variation in Dactylis glomerata L. populations. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 16: 14-26 [in Persian].

Moradi A (2008). Evalation of genetic diversity in genotypes oh durum wheat (*Triticum turgidum* var durum) by using of molecular markers and agronomic traits. M. Sc. Thesis. Razi university., Kermanshah-Iran [in Persian].

Mostafaie A (2003). Protein Electrophoresis in gel. Yadavaran Press [in Persian].

Naghavi MR, Rashidi Monfared S, Ahkami AH and Ombidbakhsh MA (2009). Genetic Variation of Durum Wheat Landraces and Cultivars Using Morphological and Protein Markers. World Academy of Science, Engineering and Technology 49: 73-75 [in Persian].

Pour Meidani A, Mirzaie Nodoushan H (1999). Investigation of genetic variation and Cluster analysis in different Haloxylon genotypes. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 12: 1-15 [in Persian].

Rezaie A (1982). Oat, Isfahan University Press [in Persian].

Salehi Najafabadi S, Jalali Javaran M, Dehghani H (2010). Using Morphological and Molecular Markers aims to Assessment of the Genetic Diversity and Division Partiol of Germplasm of Iranian Melon. Iranian Biology 23: 343-252 [in Persian].

Shahnejat-Bushehri AA, Torabi S, Omidi M and Ghannadha MR (2005). Comparison of Genetic and Morphological Distance with Heterosis with RAPD Markers in Hybrids of Barley. International Journal of Agriculture & Biology 4: 592-595 [in Persian].

Singh RK, Chowdhury BD (1985). Biometrical method in quantitative genetic analysis. Kalyani publishers, Ludhiana, New Delhi, pp: 54-57.

Valizadeh M (2001). Seed Storage Protein Profile of Grain Legumes Grown in Iran, Using SDS-PAGE. Journal of Agriculture Science Technology 3: 287-292.

Vural C, Ozcan S and Akbulut M (2009). New combination in Veronica (Scrophulariaceae s.l.) based on morphological characters and the seed storage protein polymorphism. Journal of Systematics and Evolution 47: 168-172.

Xi J, Wang X, Li S, Zhou X, Yue L, Fan J and Hao D (2006). Polyethylene glycol fraction improved detection of low-abundant proteins by two-dimensional electrophoresis analysis of plant proteome. Phytochemistry 67: 2341-2348.

Yazdi Samadi B, Abdemeshani S (2005). Crop Breeding, Tehran University Press [in Persian].

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 5، شماره 2، تابستان 1392)

Study of Morphological and biochemical to determine the genetic diversity of cultivated Oat (*Avena sativa* L.)

Kakaei M.*[1], Mazahery Laghab H.[2], Kahrizi D.[3]

[1]Agriculture (Genetic and Plant Breeding) Department, Payame Noor University, 19395-4697 Tehran, Iran.
[2] Associate Professor of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Bu-Ali Sina University, Hamedan-Iran.
[3] Associate Professor of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, Iran.

Abstract

Study of the morphological characteristics and molecular markers for genetic diversity determination is one of the basic steps in the most breeding programs. For this purpose, current investigation was carried out with ten cultivars based on randomized complete blocks design (RCBD) with three replications, during the period of October 2010 to June 2011 cropping season. Statistical analysis of agronomy data showed that there were significant differences between genotypes for almost studied traits. Cluster analysis by UPGMA method for agronomic traits divided genotypes into three groups. High genetic gains were observed for flag leaf length. Correlation between morphological and molecular traits was assessed using Mantel test and significant positive correlation was observed between them. Thus according to genetic distances between the genotypes and heterosis value based on morphological markers according to similarity coefficient, the cross between 212 with 217, 201, 202, and 204 is recommended. In conclusion, replication of such experiment with more varieties for more accurate results is recommended.

Keyword: *Avena sativa, Genetic Distance, Morphological Traits, Genetic Gain, SDS-PAGE*.

*Corresponding Author: Kakaei M. Tel: 09188162875 Email: Mehdikakaei37@gmail.com