مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۱، سال ۱۳۸۴ (۲۲۷-۲۱۹)

مطالعه انتقال پذیری مارکرهای میکروساتلایت گندم هگزاپلوئید (*Triticum aestivum* L.) به ژنوتیپ‌های مختلف گندمهای هگزاپلوئید و تتراپلوئید

نادعلی بابا ئیان جلودار[1]، نائوکی موری[2] و چی‌هارا ناکامورا[3]
۱، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران، ۲، ۳، دانشیار و استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه کوبه ژاپن
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۳/٦

خلاصه

گندم یکی از مهمترین محصولات غذایی است که درک ژنتیک و نظم ژنومی آن با استفاده از مارکرهای مولکولی از اهداف مهم برای اصلاح ژنتیکی این گیاه است. در این مطالعه انتقال پذیری ۹٦ مارکر میکروساتلایت از گندم هگزاپلویید به ۵ ژنوتیپ گندم، شامل رقم هگزاپلوئید زمستانه مقاوم به سرما میرونوسکا ۸۰۸، رقم بهاره گندم هگزاپلوئید چای نیزاسپرینگ، گندم تتراپلوئید دوروم رقم لانگدون و دو زیر گونه از گندم تتراپلوئید(*Triticum turgidum*) به نام های دی کوکوای دس (dicoccoides) و دی کوکوم (dicoccum) مورد استفاده قرار گرفته است. نتایج نشان داد که ۹۵ مارکر میکروساتلایت (۹۸/۹٦ درصد) به طور موفقیت آمیزی تولید چند شکلی نموده اند. فقط یک مارکر میکروساتلایت (۱/۰٤ درصد) موفق به تولید بند نشده است. هفتادو سه مارکر میکروساتلایت در تمام ۵ رقم صد درصد انتقال پذیری (چند شکلی) نشان داده اند. بیست و دو (۲۲/۹۲درصد) لوکوس میکروساتلایت هر یک در بعضی از ژنوتیپ ها تولید بند نموده و در بعضی دیگر موفق به تولید بند نشده اند. بطوری که حد اکثر و حد اقل انتقال پذیری آنها به ترتیب ۸۰ و ۲۰ درصد بودند. در این مطالعه چند شکلی وسیعی چه در اندازه و چه در تعداد بندها مشاهده گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که اکثر مارکرهای میکروساتلایت بدست آمده از گندم هگزاپلوئید انتقال پذیری بسیار بالایی در بین گونه های تتراپلوئید و هگزاپلوئید به نمایش گذاشتندو همچنین این تحقیق استفادهٔ وسیع مارکرهای میکروساتلایت را در گیاهانی که از نظر کشاورزی مهم هستند فراهم نموده است. مارکرهای میکروساتلایتی که در این مطالعه تولید چند شکلی نموده اند به خوبی می توانند جهت مطالعات نقشه ژنی، تجزیهٔلینکاژی و تکامل ژنومی در گندم های هگزاپلوئید و تتراپلوئید مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: **انتقال‌پذیری، مارکرهای میکروساتلایت، چند شکلی، گندمهای هگزاپلوئید، تتراپلوئید**

مقدمه

گندم یک گیاه آلوهگزاپلوئید (2n = 6x = 42) با سه ژنوم A، B و D و دارای ژنوم بسیار بزرگ با بیش از ۸۰ درصد DNA تکراری است (۱). اگرچه تعیین نقشه‌های لینکاژی RFLP[1]، و نقشه‌های فیزیکی برای تمام کروموزومهای همولوگی هفت‌گانه گندم دارای سرعت بوده است، اما سرعت استفاده از مارکرهایRFLPدرایجادنقشه‌های ژنتیکی بدلیل سطوح محدود چند شکلی در گندم‌کند بوده است (۲، ۳، ۹، ۱۰، ۱۳، ۲۰).

میکروساتلایت[2] یک مارکر ژنتیکی هم بارز[3] دارای تکرارهای ساده[4] یک تا شش جفت باز پشت سر هم می‌باشد که در

1. Restriction Fragment Lengh Polymorphism

مکاتبه کننده: نادعلی بابائیان جلودار

2. Microsatellite
3. Codominant
4. Simple Sequence Repeat or SSR

Archive of SID
www.SID.ir

ژنومهای همه یوکاریوتها[1] وجود دارد (۱۲، ۱۵، ۲۳، ۲۴، ۲۵). این تکرارها حتی در درون گونه‌های بسیار نزدیک چند شکلی نشان می‌دهند، بدلیل اینکه موتاسیون‌ها سبب ایجاد تنوع در تعدادی از واحدهای تکراری می‌باشند، آنها عمدتا در مناطق کد کننده و غیر کدکننده DNA به طور تصادفی در سراسر ژنوم توزیع شده‌اند (۱۷، ۲۸). لوکوس‌های میکروساتلایت با تعداد تکرارهای بسیار بزرگ بیشتر چند شکلی نشان می‌دهند و سطح بالا از چند شکلی چنین میکروساتلایتهایی به دو مکانیزم مولکولی یعنی سرخوردگی در رونوشت‌برداری یا کراسینگ‌اور نامساوی نسبت داده می‌شود. تجزیه میکروساتلایت بر اساس واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) است که نسبت به تجزیه RFLP انجامش آسانتر است. بعلاوه، در گندم میکروساتلایت نسبت به همهٔ مارکرهای موجود سطح بسیار بالایی از چند شکلی را به نمایش گذاشته است (۶، ۱۸).

در حیوانات چندین مثال از مطالعات انتقال پذیری لوکوس میکروساتلایت‌ها (SSR)گزارش شده است (۱۲). اما این نوع مشاهدات در بین گونه‌های مختلف گیاهان با تاخیر فراوان و سرعت بسیار کم گزارش شده است (۴ ، ۱۵). بدلیل هزینه زیاد توسعه میکروساتلایت، این مارکرها با سرعت کم در گیاهان توسعه پیدا کرده است. رودر و همکاران (۱۹۹۵)، مجموعه‌ای از مارکرهای میکروساتلایت گندم هگزاپلوئید را بدست آورده و با ۲۳۰ عدد از این مارکرها توانستند ۲۷۶ لوکوس میکروساتلایت را تکثیر نمایند. همچنین این مارکرها سطح بالایی از چند شکلی را در میان گونه‌های نزدیک گندم دیپلوئید آشکار نمودند. پستسووا و همکاران (۲۰۰۰)، انتقال پذیری مارکر میکروساتلایت را از *T. tauschii* به گندم نان اثبات کرده‌اند. گویومارک و همکاران (۲۰۰۰)، انتقال پذیری مارکرهای میکروساتلایت جدا شده از *T.tauschii* به ژنومهای گندم هگزاپلوئید را گزارش نموده‌اند. همچنین متعاقبا گویومارک و همکاران (۲۰۰۲)، انتقال پذیری میکروساتلایت از گندم هگزاپلوئید به گندم دیپلوئید را گزارش نموده‌اند. پیکال و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از پرایمرهای SSR سویا توانسته اند، چند شکلی DNA چندین گونه از جنس لگومینوز[2] را مورد مطالعه قرار دهند. ویزینگ و گاردنر (۱۹۹۹)، وقتی که مارکرهای میکروساتلایت را استفاده نموده‌اند، تنوع در DNA کلروپلاست در تعدای از خانواده سولاناسه[3] مشاهده کردند. ویو و تانکسلی (۱۹۹۳) پانود و همکاران (۱۹۹۶)، با استفاده از مارکرهای میکروساتلایت توانسته‌اند DNA گونه‌های وحشی *Oryza* را تکثیر نمایند، تا از این طریق توانایی آنها را جهت تجزیه DNA تلاقی‌های بین گونه‌ای اثبات نمایند. بعضی مطالعات نشان داده‌اند که پرایمرهای میکروساتلایت ممکن است در نواحی کروموزومی مشابه در جنس‌های خیلی نزدیک بهم را تکثیر نمایند. بعنوان مثال، لی و همکاران (۲۰۰۰)، گزارش نموده‌اند که ۲۶در صد از پرایمرهای میکروساتلایت جو نواحی مشابه روی کروموزوم جنس یولاف را تکثیر می‌نمایند. گزارش مشابه برای لوکوسهای سویا انجام شده است که ۱۰ درصد پرایمرهای میکروساتلایت جدا شده از آن توانسته مکانهای مشابه روی کروموزوم باقلا و لوپین[4] را تکثیر نمایند (۱۵)، اسکات و همکاران (۲۰۰۰)، گزارش نموده‌اند که میکروساتلایت بدست آمده از درخت انگور توانسته‌اند در ارقام، گونه‌ها و جنسهای خویشاوند آن انتقال‌پذیری بسیار بالایی را نشان دهند.

تعیین توالیهای حواشی لوکوسهای میکروساتلایت جهت ساخت مارکر میکروساتلایت بسیار گران و زمان بر است، بنابراین اغلب محدود به گیاهان بسیار مهم کشاورزی می‌شود. اگر مارکرهای میکروساتلایت موجود، سطح بالای انتقال پذیری را بین ارقام، گونه‌ها و جنسهای مختلف نشان دهند، این امکان وجود دارد که از مارکرهای میکروساتلایت موجود برای مطالعات درتعداد بیشتری از گیاهان استفاده شود. برای مثال بسیار جالب است که میکروساتلایتی که از گندمهای هگزاپلوئید بدست آمد برای مطالعات ژنتیکی در گونه‌های نزدیک دیگر قابل استفاده گردد. بدین رو در این تحقیق، ۹۶ مارکر میکروساتلایت گندم هگزاپلوئید (۱۸)، جهت انتقال پذیری به دیگر ارقام هگزاپلوئید و تتراپلوئید گندم مورد بررسی قرار گرفت.

1. Eukaryotes

2. *Legominosae*
3. *Solanaceae*
4. *Lupinus angustifolius* L.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۵ ژنوتیپ گندم (متعلق به ۳ گونه مختلف از جنس تریتی کوم) استفاده شده است. رقم گندم هگزاپلوئید زمستانه مقاوم به سرما به نام میرونوسکا ۸۰۸ (*T. aestivum* L cv. Mironovska 808) از کشور اکراین، رقم بهاره گندم هگزاپلوئید به نام چای نیزاسپرینگ (*T. aestivum* L cv. Chinese spring)، یک رقم گندم تتراپلوئید دوروم (*T. durum* Desf. cv. Langdon) و همچنین دو زیر گونه از گندم تتراپلوئد تریتی کوم تورجیدوم به نامهای دی کوکوای دس [*T. turgidum* ssp. dicoccoides (Korn. EX Asch. and Graebner) Thell.] از شمال عراق و گونه گندم امر[1] زراعی به نام دی کوکوم [*T. turgidum* ssp. dicoccum (Schrank ex Shobler) Thell.] از اتیوپی مورد استفاده قرار گرفته است. بذور در گلدانهایی به قطر ۲۴ سانتیمتر در گلخانه دانشگاه کوبه (ژاپن) کشت گردید. DNA از برگهای گیاهچه‌های جوان و بر اساس روش لیو و همکاران (۱۹۹۰)، جدا گردید. کیفیت DNA با استفاده از الکتروفورز آگارز آزمایش گردید. بعد از اندازه‌گیری غلظت DNA با فلئورومتر (Dyna Quant, Pharmacia, Amersham, U.K.)، نمونه‌هایی با غلظت ۵۰ نانوگرم در هر میکرولیتر تهیه شد.

تکثیر میکروساتلایت

از میان ۲۳۰ جفت پرایمر میکروساتلایت که توسط رودر و همکاران (۱۹۹۵) در گندم هگزاپلوئید توسعه یافته بود، ۹۶ جفت پرایمر بر اساس تشابه ژنومی بین گندم 6x و 4x و نیز بر اساس اعتبار پروژه جهت این تحقیق انتخاب شدند. انتقال پذیری این پرایمرها از گندم هگزاپلوئید به دیگر ارقام گندم هگزاپلوئید و تتراپلوئید مورد بررسی قرار گرفت.

هر نمونه واکنش[2] PCR (در حجم ۲۰ میکرولیتر) دارای ۰/۲۵ میکرو مول از هر پرایمر، ۱۰۰ میکرومول از dNTP، ۱۰ میلی مول Tris- Cl (pH = 8.3)، ۵۰ میلی مول کلرور پتاسیم (KCL)، ۱/۵ میلی مول کلرور منیزیم ($MgCl_2$)، یک واحد آنزیم تک پلی مراز (TOYOBO, Japan) و ۵۰ نانوگرم از DNA الگو بوده است. عمل تکثیر DNA توسط دستگاه ترموسایکلر پرکین-المر[3] با دوره‌های حرارتی ۵ دقیقه آغازین در ۹۴ درجه سانتیگراد، و ۴۵ دور شامل ۱ دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد، ۲ دقیقه در درجه حرارت اتصال (بستگی به درجه حرارت اتصال[4] پرایمر) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد اعمال شد.

عمل جداسازی قطعات DNA روی ژل ۶ درصد آکریلامید به همراه بافر 1X TBE (pH8.3) [45 mM Tris-borate and 1 mM EDTA] انجام شد. رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام شد. بندها برای هر مارکر میکروساتلایت برای هر ژنوتیپ بر اساس حرکت نسبی مارکر DNAی استاندارد RFLP، (۳۳۰bp - ۳۰) معین شد (Invitrogen, U.S.A.). حضور یا عدم حضور فراورده‌های تکثیری در هر لوکوس به ترتیب با علامت + و - نشان داده شد (جدول۱). درصد انتقال‌پذیری بر اساس حضور بندها در ژنوتیپ‌ها برای هر مارکر مورد محاسبه قرار گرفت (جدول ۱).

نتایج و بحث

در این آزمایش، بند یا بندهای روشن و شفافی که در اندازه‌های ۸۰ تا ۲۰۰ جفت باز حداقل در ۳ تکرار PCR روی ژل اکریلامید مشاهده شد بعنوان انتقال پذیری مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج آزمایش انتقال پذیری بین گونه‌ای پرایمرهای میکروساتلایت گندم هگزاپلوئید به پنج ژنوتیپ گندم‌های هگزاپلوئید و تتراپلوئید در جدول ۱ آمده است. در این بررسی ۹۵ مارکر میکروساتلایت (۹۸/۹۶ درصد) به طور موفقیت آمیزی حداقل روی یکی از این ۵ ژنوتیپ گندم‌های هگزاپلوئید و تتراپلوئید تولید بند نموده‌اند (جدول۱). این نتیجه پیشنهاد می‌کند که اکثر مارکرهای میکروساتلایت جدا شده از گندم هگزاپلوئید دارای پتانسیل کشف لوکوسهای همولوگ در ارقام تتراپلوئید و هگزاپلوئید مورد بررسی در این مطالعه می‌باشد. این نتیجه همچنین مبین این نکته است که توالیهای حاشیه‌ای لوکوسها در هر دو گندم هگزاپلوئید و تتراپلوئید همچنانکه

1. Emmer
2. Reaction mixture
3. Perkin-Elmer
4. Anealing temperature

Archive of SID
www.SID.ir

توسط سوردیل و همکاران (۲۰۰۱) شرح داده شده است حفظ و بدون تغیر باقی مانده است. فقط یک مارکر میکروساتلایت (۱/۰۴ درصد) موفق نشد هیچ بندی را در ژنوتیپهای گندم مورد مطالعه در این آزمایش تولید نماید (جدول۱). عدم تکثیر ممکن است احتمالا به علت تغیر توالیها به سبب موتاسیون‌های نقطه‌ای، حذف یا معکوس شدن در بین یک جفت پرایمر در ژنوتیپهای مورد مطالعه باشد که توسط دوس و همکاران (۱۹۹۳)، بیان شده است.

جدول۱- نتیجه انتقال پذیری ۹۶ پرایمر میکروساتلایت به ۵ ژنوتیپ گندم‌های هگزاپلوئید و تتراپلوئید.

لوکوس	DCC	DCM	DU	MI	CH	درصد انتقال پذیری	لوکوس	DCC	DCM	DU	MI	CH	درصد انتقال پذیری
Xgwm6-4B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm114-3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm32-3A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm120-2B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm72-3B	-	-	-	-	-	۰/۰	*Xgwm122-2A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm112-3B,7B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm124-1B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm113-4B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm126-5A*	+	+	-	+	+	۸۰
Xgwm140-1B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm130-7A*	-	-	+	+	+	٦۰
Xgwm149-4B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm131-1B,3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm154-5A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm132-6B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm164-1A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm133-6B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm179-5A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm135-1A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm234-5B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm136-1A*	+	+	+	-	+	۸۰
Xgwm247-3B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm146-7B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm249-2A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm148-1B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm251-4B	+	+	+	+	-	۸۰	*Xgwm153-1B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm259-1B	+	+	-	+	+	۸۰	*Xgwm155-3A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm260-7A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm156-5A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm265-2A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm257-2B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm268-1B	-	+	+	+	+	۸۰	*Xgwm264-1,3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm273-1B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm284-3B*	-	-	+	+	+	۶۰
Xgwm445-2A	+	+	-	-	-	۴۰	*Xgwm285-3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm459-6A	+	+	-	-	-	۴۰	*Xgwm291-5A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm473-2A	+	+	-	-	-	۴۰	*Xgwm480-3A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm497-1A,2A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm493-3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm498-1B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm494-6A*	+	+	+	-	+	۸۰
Xgwm518-6B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm495-4B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm526-2B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm499-5A*	-	+	-	+	-	۴۰
Xgwm540-5B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm501-2B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm544-5B	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm512-2A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm550-1B	-	-	+	+	+	۶۰	*Xgwm513-4B*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm558-2A	+	+	+	+	+	۱۰۰	*Xgwm515-2A*	+	+	+	+	+	۱۰۰
Xgwm577-7B	-	+	+	+	+	۸۰	*Xgwm533-3B*	+	+	+	+	+	۱۰۰

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱

لوکوس	DCC	DCM	DU	MI	CH	درصد انتقال پذیری	لوکوس	DCC	DCM	DU	MI	CH	درصد انتقال پذیری
Xgwm611-7B	-	-	+	+	+	٦٠	*Xgwm537-7B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm46-7B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm538-4B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm47-2A,2B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm547-3B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm55-2B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm554-5A*	-	-	+	+	+	٦٠
Xgwm60-7A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm566-3B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm63-7A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm570-6A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm66-4B,5B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm595-5A*	-	-	+	-	-	٢٠
Xgwm67-5B	-	+	+	+	+	٨٠	*Xgwm601-4A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm68-5B,7B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm610-4A*	+	+	-	+	+	٨٠
Xgwm70-6B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm613-6B*	-	-	+	+	+	٦٠
Xgwm71-2A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm614-2A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm77-3B	+	-	+	+	+	٨٠	*Xgwm617-5A,6A*	+	+	-	+	+	٨٠
Xgwm88-6B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm630-2B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm95-2A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm635-7A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm99-1A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm637-4A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm107-4B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm644-6B,7B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm108-3B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm666-1,3,5,7A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm46-7B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm538-4B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm47-2A,2B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm547-3B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm55-2B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm554-5A*	-	-	+	+	+	۶٠
Xgwm60-7A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm566-3B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm63-7A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm570-6A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm66-4B,5B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm595-5A*	-	-	+	-	-	٢٠
Xgwm67-5B	-	+	+	+	+	٨٠	*Xgwm601-4A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm68-5B,7B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm610-4A*	+	+	-	+	+	٨٠
Xgwm70-6B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm613-6B*	-	-	+	+	+	۶٠
Xgwm71-2A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm614-2A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm77-3B	+	-	+	+	+	٨٠	*Xgwm617-5A,6A*	+	+	-	+	+	٨٠
Xgwm88-6B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm630-2B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm95-2A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm635-7A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm99-1A	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm637-4A*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm107-4B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm644-6B,7B*	+	+	+	+	+	١٠٠
Xgwm108-3B	+	+	+	+	+	١٠٠	*Xgwm666-1,3,5,7A*	+	+	+	+	+	١٠٠

DCC: دی کوکوای دس، DCM: دی کوکوم،DU: دوروم، MI: میرونوسکا ۸۰۸، CH: چاینیز اسپرینگ

در بین ۵ ژنوتیپ الگوهای باندی چند شکلی مناسبی در ۷۳ (۷۶/۰۴ درصد) مارکر میکروساتلایت مشاهده شده است. این ۷۳ مارکر میکروساتلایت در تمام ۵ ژنوتیپ تولید بند نموده‌اند یعنی درصد انتقال‌پذیری این لوکوس‌ها صددرصد بوده است (جدول۱). درصد انتقال پذیری بالا پیشنهاد می‌کند که ژنومهای گندمهای هگزاپلوئید و تتراپلوئید دارای ارتباط نزدیک و بر

Archive of SID

www.SID.ir

خاسته از یک منشاء تکاملی هستند که این موضوع توسط گویومارک و همکاران (۲۰۰۲)، تشریح شده است. بیست و سه (۲۳ درصد) لوکوس میکروساتلایت هر یک در بعضی از ژنوتیپ‌ها تولید بند نموده‌اند و در بعضی دیگر موفق به تولید بند نشده‌اند. یعنی در بین ۵ ژنوتیپ به ترتیب، یازده مارکر ۸۰ درصد، شش مارکر ۶۰ درصد، چهار مارکر ۴۰ درصد و یک مارکر ۲۰ درصد انتقال پذیری از خود نشان داده‌اند (جدول۱). از بین ۲۲ مارکر، دوازده لوکوس میکروساتلایت برای ژنوتیپ دی کوکوای دس هیچ بندی را تولید ننموده‌اند که در میان این دوازده مارکر میکروساتلایت، ۸ لوکوس در عدم تولید بند، با ژنوتیپ دی کوکوم مشترک بوده‌اند. شباهت در عدم تکثیر لوکوسها بین گندمهای دی کوکو ای دس و دی کوکوم توسط پرایمر میکروساتلایت پیشنهاد می‌کند که ژنومهای این دو ژنوتیپ نسبت به ژنوتیپهای مورد مطالعه در این تحقیق از نظر تکاملی دارای قرابت بیشتری هستند (جدول۱). چهار جفت پرایمری که در دی کوکو ای دس تولید بند نموده‌اند موفق به تولید بند در دی کوکوم نشده‌اند. این شاید به علت تغییر توالیهای حواشی این لوکوسها باشد که دووس و همکاران (۱۹۹۳) به آن اشاره نموده‌اند. از طرف دیگر هشت پرایمر در ژنوتیپ دی کوکوم تولید بند ننموده‌اند که از این تعداد هفت پرایمر در دی کوکو ای دس تولید بند ننموده‌اند فقط یک جفت پرایمری که در دی کوکوم موفق به تولید بند نشده‌اند در زیر گونه دی کوکو ای دس تولید بند نموده‌اند. تعداد نه مارکر میکروساتلایت (۹/۳۷ درصد) برای ژنوتیپ گندم دوروم تولید بند نموده‌اند که در میان این ۹ پرایمر، فقط دو پرایمر در تولید بند در ژنوتیپ دی کوکو ای دس مشترک بودند که این نشان‌دهنده عدم شباهت توالیهای بازی این هفت لوکوس بین این دو گونه است(جدول۱). همچنین از این نتیجه می‌توان اظهار داشت که بین دو ژنوتیپ دیکوکوای دس و دیکوکوم قرابت بیشتری نسبت به دی کوکوم و دوروم یا دی کوکو ای دس و دوروم وجود دارد. هفت لوکوس برای ژنوتیپ هگزاپلوئید میرونوسکا ۸۰۸، موفق به تولید بند نشده‌اند که در میان این ۷ لوکوس فقط یک لوکوس در عدم تولید بند بین این ژنوتیپ و ژنوتیپهای دی کوکو ای دس، دی کوکوم، دوروم، و چای نیز اسپرینگ مشترک بوده‌اند. هفت مارکر میکروساتلایت در ژنوتیپ چای نیزاسپرینگ موفق به تولید بند نشده‌اند که از این تعداد ۳ لوکوس در گندم دوروم و میرونوسکا ۸۰۸، تولید بند ننمودند. این نتیجه مبین این نکته است توالیهای بازی حاشیه‌ای این لوکوسها در ژنومهای میرونوسک۸۰۸، دوروم و چای نیز اسپرینگ، دارای تغییر بوده است.

در نهایت می‌توان اشاره نمود که مارکرهای میکروساتلایت مارکرهای مناسب جهت کشف سطح بالای تنوع در میان گونه‌ها یا ارقام بسیار نزدیک نظیر گندم می‌باشند. در این مطالعه تعداد ۹۶ مارکر میکروساتلایت که از گندم هگزاپلوئید بدست آمده بود برای تعیین چند شکلی در میان ۵ ژنوتیپ متعلق به ۳ گونه مختلف مورد استفاده قرار گرفت و چند شکلی وسیعی چه در اندازه و چه در تعداد بندها مشاهده شد. تنوع در اندازه بندها از ۵ ژنوتیپ احتمالا بدلیل اختلاف در تعداد تکرارهای پشت سرهم موجود بین مکانهای پرایمر است (۴). اکثر مارکر میکروساتلایت مشتق شده از گندم هگزاپلوئید (۷۶/۰۴) کاملا انتقال‌پذیری خوبی در بین گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید به نمایش گذاشتند و نشان داند که توانایی تکثیر قسمتهای مختلف ژنوم گونه‌های دیگر گندم را دارا هستند (۱۱). نتایج مشابه برای انتقال پذیری مارکرهای میکروساتلایت بین گندم‌های هگزاپلوئید به گندم دیپلوئید توسط سوردیل و همکاران (۲۰۰۱)، مشاهده شده است. گونه‌های گندم تتراپلوئید منبع مهمی برای اصلاح گندم بشمار می‌روند. گندم تترا پلوییید دوروم و دو زیر گونه از گندم تتراپلوییید تریتی کوم تورجیدوم یعنی زیر گونه‌های دی کوکو ای دس و دی کوکوم که در این مطالعه بکار گرفته شده است سطح بالای چند شکلی را نشان داده‌اند. این نتیجه بطور قوی پیشنهاد می‌کند که مارکرهای میکروساتلایتی که برای گندم هگزاپلوئید توسعه یافته است بدلیل توزیع تصادفی این مارکرها در سراسر ژنوم ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این مطالعه می‌توانند سراسر ژنوم آنها را جهت ترسیم نقشه‌های ژنتیکی پوشش دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

سپاسگزاری

از مسئولین محترم وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه مازندران و دانشگاه کوبه (ژاپن) بدلیل کمکهای مالی جهت انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از کمک‌های مهندس نادعلی باقری در تایپ این مقاله صمیمانه قدردانی بعمل می آید.

REFERENCES

1. Bennett, M. D. & J. B. Smith 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B. 227-274.
2. Cadalen, T. C., C. Boeuf, S. Bernard, & M. Bernard 1997. An intervarietal molecular marker map in *Triticum aestivum* L. Em. Thell. And comparison with a map from a wide cross. Theor. Appl. Genet. 94: 367-377.
3. Chao, S. P. J. Sharp, A. J. Worland, E. J. Warham, & R. M. D. Koobner 1989. RFLP - based genetic maps of wheat homoeologous grap 7 chromosomes. Theor. Appl. Genet. 78: 495-504.
4. Choumane, W., P. Winter, F. Weigand, & G. Kahl 2000. Conservation and variability of sequence-tagged microsatellite sites (STMSs) from chickpea (*Cicer aerietinum* L.) within the genus Cicer. Theor. Appli. Gent. 101: 269-278.
5. Devos, K. M., T. Millan, & M. D. Gale 1993. Comparative RFLP of the homoeologous group-2 chromosome of wheat, rye and barley. Theor. Appl. Genet. 85: 784-792.
6. Gupta, P. K., I. S. Balyan, P. C. Sharma, & B. Ramesh 1996. Microsatellites in plants- a new class of molecular markers. Curr. Sci. 70: 45-54.
7. Guyomarc'h, H., P. Sourdille, K. J. Edwards & M. Bernard 2000. Studies of the transferability of microsatellites derived from *Triticum tauschii* to hexaploid wheat and to diploid related species using amplifications, hybridization and sequence comparisons. Theor Appl Genet105: 736-744.
8. Guyomarc'h, H., P. Sourdille, G. Charmet, K. J. Edwards & M. Bernard 2002. Characterisation of polymorphic markers from *T. tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. Theor Appl Genet 104: 1164-1172.
9. Hohmann, U., T. R. Endo, K. S. Gill & B. S. Gill 1994. Comparison of genetic and physical maps of group 7 chromosomes from *Triticum aestivum* L. Mol. Gen. 245: 644-653.
10. Kota, R. S., K. S. Gill, B. S. Gill & T. R. Endo 1993 A cytogenetically based physical map of chromosome 1B in common Wheat. Genome 36: 548-554.
11. Li, C. D., B. G. Rossnagel, & G. J. Scols. 2000. The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. Theor Appl Genet 101: 1259-1268.
12. Litt, M. & J. A. Luty 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinunleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. American Journal of Human Genetics, 44: 397-401.
13. Liu, Y. G., N. Mori, & K. Tsunewaki 1990. Restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis in wheat. I. Genomic DNA library construction and RFLP analysis in common wheat. Jpn J Genet 65:367-380.
14. Panaud, O., X. Chen, & S. R. McCouch 1996. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.), *Mol. Gen. Genet.*, 252: 597-607.
15. Peakall, R., S. Gilmore, W. Keys, M. Morgante, & A. Rafalsk 1998. Cross-species amplification of soybean (*Glysin max*) simple sequence repeats (SSRs) within the genus and other legume genera: Implications for the transferability of SSRs in plants. Mol. Biol. Evol. 15: 1275-1287.
16. Pestsova, E., V. Korzun, N. P. Goncharov, K. Hammer, M. W. Ganal & M. S. Röder 2000. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. Theor. Appl. Genet. 101: 100-106.
17. Röder, M. S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M. H. Tixier, P. Leroy & M. W. Ganal 1998. A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007-2023.

Archive of SID

www.SID.ir

18. Röder, M. S., J. Plaschke, S. U. Konig, A. Borner, M. E. Sorrells, S. D. Tanksley & M. W. Ganal 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. Molecular and General Genetics 246:327-333.
19. Scot, K. D., P. Eggler, G. Seaton, M. Rossetto, E. M. Ablett, L. S. Lee & R. J. Henry 2000. Analysis of SSRs derived from grape ESTs. Theor. Appl. Genet. 100: 723-726.
20. Sharman, J. D., A. L. Fenwick, D. M. Namuth & N. L. V. Lapitan 1995. A barley RFLP map: alignment of the three barley maps and comparisons to gramineae species. Thror. Appl. Gene. 91: 681-690.
21. Sourdille, P., M. Tavaud, G. Charmet & M. Bernard 2001. Transferability of wheat microsatellites to diploid *Triticeae* species carrying the A, B and D genomes. Theor Appl Genet 103: 346-352.
22. Sourdille, P., H. Guyomarc'h, C. Baron, B. Gandon, V. Chiquet, F. Artiguenave, K. J. Edwards, N. Foisset, P. Dufour & M. Bernard 2001. Improvement of the genetic maps of wheat using new microsatellite markers. In: Plant Anim Genome 9. Final abstracts guide, P425, p 167.
23. Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Res 17: 6463-6470.
24. Tautz, D., M. Trick & G. A. Dover 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. Nature 322: 652-656.
25. Weber, J. L. & P. E. May 1989. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. American Journal of Human Genetics, 44: 338-396.
26. Wu, K. S. & S. D. Tanksley 1993. Abundance polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice, *Mol. Gen. Genet.*, 241: 225-235.
27. Weising, K. & R. C. Gardner 1999. A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. Genome 42: 9-19.
28. Zane, L., L. Bargelloni & T. Patarnello 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. Molecular Ecology, 11: 1-16.

Archive of SID

www.SID.ir

Iranian, J. Agric. Sci. Vol. 36. No. 1, 2005

Transferability of Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum*) Microsatellite Markers to Hexaploid and Tetraploid Wheat Species

N. A. BABAEIAN JOLODAR[1], NAOKI MORI[2] AND CHIHARU NAKAMURA[3]

1, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Mazandaran, Iran

2, 3, Associate Professor and Professor, Faculty of Agriculture, University of Koobe, Japah

Accepted. May. 26, 2004

SUMMARY

Wheat is one of the world's most important crop plants and understanding its genetic and genome organization using molecular markers is of great value for genetic and plant breeding purposes. In this study, we examined transferability of 96 microsatellite markers from hexaploid wheat to 5 hexaploid and tetraploid wheat cultivars (*T. aestivum* L cv. Mironovska 808, *T. aestivum* L cv. Chinese spring, *T. aestivum* L. cv. *T. durum* Desf. cv. Langdon, *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*; and *T. turgidu*m ssp. *dicoccum*). Results showed that, among the 96 primer pairs, 95 (98.96%) amplified microsatellite loci while only one microsatellite marker (1.04%) failed to amplify any products in the five cultivars. Among the 5 cultivars, informative polymorphic banding patterns were observed at 73 (53.5%) out of 96 microsatellite loci. Twenty two (22.92%) primer pairs produced amplification products on some cultivars, so that, their highest transferability was 80% and the lowest 20%. Also in this study, extensive polymorphism was observed as detected by differences in the size and number of the amplification products. The results indicated that, most of the microsatellite markers derived from hexaploid wheat (98.96%) showed quite good transferability towards the hexaploid and tetraploid species and it might be possible to facilitate more widespread use of microsatellites in agriculturally important plants. Also this result can lead to the provision of an additional source of markers for gene mapping, linkage analysis and genome evolution studies in hexaploid and tetraploid wheat species.

Key words: Transferability, Microsatellite markers, Hexaploid wheat, Tetraploid wheat

Archive of SID

www.SID.ir