ژنتیک نوین
دوره ششم، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۰
صفحه ٥٤-٤٩

Archive of SID

بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های جهش یافته سویا با قدرت تثبیت ازت بالا با استفاده از نشانگر ملکولی RAPD

مهدی یونسی حمزه‌خانلو[۱]، علی ایزدی دربندی*[۲]، محمد طاهر حلاجیان[۳]، نجات پیرولی بیرانوند[٤]، عباس مجدآبادی[٥]

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۳، ٤ و ٥- به ترتیب مربیان و استادیار پژوهشکده سازمان انرژی اتمی ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Aizady@ut ac ir

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۹)

چکیده

در این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی نسل هفتم (M_7) ۳۳ لاین جهش یافته سویا با تثبیت ازت بالا حاصل از پرتوتابی رقم مادری L17 با اشعه گاما به همراه دو رقم تجاری ویلیامز و کلارک و رقم مادری L17 با استفاده از ۱۰ آغازگر تصادفی RAPD حاصل انجام گرفت که مجموعاً ۱۰٤ باند قابل امتیازدهی بدست آمد. از بین این ۱۰٤ باند ۳٤ باند یک شکل و بقیه (۷۰ باند) چند شکل بودند. برای برآورد شباهت بین لاین‌های بررسی شده و ارقام تجاری و مادری از ضریب تشابه جاکارد استفاده شد. میزان تشابه در بین افراد بررسی شده بین ۰/۷۹-۰/۱۷ متغیر بود. بر اساس ماتریس تشابه، لاین جهش‌یافته شماره ۳۲ (M32) مشابه‌ترین لاین به رقم مادری و لاین جهش‌یافته شماره ۹ (M9) دورترین لاین جهش یافته نسبت به رقم مادری بود. گروه بندی ژنوتیپ‌ها به روش تجزیه خوشه‌ای و با استفاده از الگوریتم CL (دورترین همسایه) لاین‌ها و ارقام بررسی شده در هفت گروه مختلف قرار گرفتند. با توجه به تنوع بالایی که لاین‌های جهش‌یافته از خود نشان دادند این لاین‌ها می‌توانند در برنامه‌های آتی اصلاح نباتات برای توسعه ارقام مورد نظر استفاده شوند

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی،
جهش یافته،
سویا،
RAPD.

مقدمه

سویا (*Glycine max* L.) از گیاهان مهم زراعی و با ارزش‌های فراوان در تأمین نیازهای غذایی بشر است. از این جهت شناسایی منابع ژنتیکی اولیه و تلاش در ایجاد ذخایر ژنتیکی با ارزش جدید می‌تواند رهیافت بسیار مهم اصلاحی باشد. تنوع ژنتیکی به منزله‌ی ماده اولیه فعالیت‌های اصلاح نباتات است و جهش این تنوع ژنتیکی را افزایش می‌دهد. نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در گیاه سویا نسبت به سایر گیاهان محدودتر است. گزارش شده که در هر مکان ژنی سویا معمولاً فقط دو الل چند شکلی طولی قطعات محدود شده (RFLP) وجود دارد (۲، ۳). هنگامی که تنوع ژنتیکی به واسطه استفاده از روش‌های متداول اصلاح نباتات محدود گردد، جهش‌های القائی می‌تواند مهم‌ترین روش برای توسعه تنوع ژنتیکی در مواجه با شرایط تنگنا باشد.

Archive of SID

آزمایشات اصلاحی از طریق جهش منجر به شناسایی بسیاری از لاین‌های جهش‌یافته با صفات مطلوب مانند مقاومت به ریزش غلاف، محتوای پایین لینولئیک اسید[1] و محتوای بالای اولئیک اسید[2] در گیاه سویا شده است (٤). از جهش‌زاهای فیزیکی مانند اشعه گاما و ترکیب آن با جهش‌زاهای شیمیایی مانند اتیل متان سولفانات برای القای تغییرات ژنتیکی و یا القای مقاومت به بیماری‌ها و سموم مانند سم آترازین در سویا و سایر گیاهان به‌طور موفقیت‌آمیزی استفاده شده است (٥ و ٦) به‌طوری که بیش از ۲۳۰۰ واریته جهش‌یافته با استفاده از اشعه‌های موتاژنی آزاد شده است (۷). بررسی‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی نشان داده است که این گونه جهش‌ها باعث ایجاد تغییرات قابل توجهی هم در سطح ماده ژنتیکی و هم در سطح مورفولوژیکی گردیده است، که این تغییرات می‌تواند در راستای اهدافی باشد که محققان به دنبال آن هستند (۸ و ۹). نشانگر RAPD به‌طور موفقیت آمیزی برای شناسایی تنوع جهش‌یافته‌ها در بسیاری از گیاهان مانند سویا استفاده شده است. این گونه تغییرات که بواسطه تغییر در تک مکان یا بیش از یک مکان ژنی و یا بواسطه حذف و اضافه شدن توالی DNA می‌باشد، می‌تواند بواسطه تغییراتی که در مکان‌های اتصال آغازگرها اتفاق می‌افتد آشکار شود (۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). بررسی تنوع لاین‌های جهش‌یافته با قدرت تثبیت ازت بالا حاصل از پرتودهی با اشعه گاما، مقایسه تنوع لاین‌های جهش یافته، رقم مادری و ارقام تجاری از لحاظ نشانگرهای مولکولی (RAPD) و گروه‌بندی آنها جهت بهره‌برداری‌های اصلاحی از اهداف مورد نظر در این تحقیق بود. مطالعات اولیه نشان داده است که لاین‌های حاضر از نظر قدرت تثبیت ازت نسبت به رقم مادری L17 و سایر لاین‌های جهش یافته برتر می‌باشند (۱).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تنوع ژنتیکی در نسل هفتم ۳۳ لاین جهش‌یافته رقم L17 که قبلاً از پرتوتابی بذور با دزهای ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰گری با استفاده از اشعه گاما در گروه پژوهشی کشاورزی هسته‌ای تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی کرج، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران به دست آمده بودند بررسی شدند. در این تحقیق از رقم L17 (که لاین‌های جهش یافته از آن بوجود آمده بودند) و ارقام تجاری ویلیامز (WI) و کلارک (CL) که از بخش دانه‌های روغنی مرکز تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج تهیه شده بودند نیز استفاده شد.

استخراج DNA و PCR

تمامی مواد مورد نیاز برای انجام واکنش از شرکت سینا ژن خریداری شد. استخراج DNA بر مبنای روش شارما و همکاران (١٤) صورت گرفت. از بین تعداد زیادی آغازگر، تنها ۱۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی (جدول ۱) که چندشکلی مناسبی را برای نمونه‌های مورد مطالعه داشتند برای این تحقیق انتخاب شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[3] (PCR) در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۷/۸۵ میکرولیتر آب‌مقطر دو بار تقطیر، ۲/۵ میکرولیتر بافر واکنش ۱۰ برابر، ۰/۲۵ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدی ۱۰میلی‌مولار، یک میکرولیتر آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی (۰/٤ مول در میکرولیتر)، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز (۵ واحد/میکرولیتر)، ۱/٤ میکرولیتر کلرید منیزیم و ۱/۵ میکرولیتر DNA الگو (۵۰ نانو گرم در هر میکرولیتر) استفاده گردید. واکنش RAPD بر اساس روش شارما و همکاران (١٤) انجام گرفت. از دستگاه ترموسایکلر اپندورف برای چرخه‌های دمایی واکنش استفاده شد. چرخه‌های دمایی واکنش PCR عبارت بود از دو چرخه به‌صورت، ۹٤°C، ۲ دقیقه برای واسرشته سازی، ۳۵°C، یک دقیقه برای اتصال، ۷۲°C، یک دقیقه برای تکثیر، سپس دو چرخه به‌صورت، ۹٤°C، یک دقیقه برای واسرشته سازی، ۳۵°C، ۳۰ ثانیه برای اتصال و ۷۲°C، یک دقیقه برای تکثیر، سپس ٤۰ چرخه به‌صورت، ۹٤°C، ۱۵ ثانیه برای واسرشته سازی، ۳۵°C، ۳۰ ثانیه برای اتصال و ۷۲°C، یک دقیقه برای تکثیر و در نهایت یک مرحله به‌صورت، ۷۲°C، ۵ دقیقه برای تکثیر نهایی بود. پس از اتمام چرخه‌ها محصولات واکنش از دستگاه خارج شده و تا قبل از الکتروفورز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. واکنش‌های PCR هت تعیین تکرارپذیری نشانگرهای RAPD حداقل دو بار تکرار شدند. محصولات PCR در ژل‌های آگارز ۱/۵ درصد، بافر TAE و ولتاژ

[1] Linoleic acid
[2] Oleic acid
[3] Polymerase chain reaction

www.SID.ir

Archive of SID

ثابت ۸۰ به‌مدت ۸۰ دقیقه الکتروفورز گردیدند. ژل‌ها با محلول ۰/۵ میکروگرم/میکرولیتر اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند و پس از قرار گرفتن در زیر نور فرابنفش (۲٦۰ نانومتر) عکس برداری از آن‌ها انجام گردید.

محاسبات آماری

برای تجزیه داده‌های حاصل از نشانگر RAPD ابتدا به خاطر کیفی بودن ماهیت آن‌ها ماتریس صفر و یک تشکیل شد. باندهای یک شکل که در تمام افراد تکثیر شده بودند، از تجزیه حذف شدند. ماتریس داده‌ها که در آن ردیف‌ها نماینده لاین‌ها و ستون‌ها نماینده نشانگرها بودند در نرم افزار NTSYS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای محاسبه ماتریس تشابه در اندازه‌گیری شباهت بین ژنوتیپ‌ها از ضریب تشابه جاکارد[1] استفاده شد. در این تحقیق روش CL[2] یا دورترین همسایه‌ها برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به کار برده شد. برای به دست آوردن درصد چند شکلی تعداد قطعات چند شکل بر تعداد قطعات کل تقسیم شد و در عدد ۱۰۰ ضرب گردید. برای محاسبه PIC از فرمول روبرو استفاده شد، $H_e=1-\Sigma P_i^2$ که H_e هتروزیگوسیتی مورد انتظار یا همان PIC می‌باشد و P_i فراوانی آلل iام می‌باشد.

نتایج و بحث

نتایج تکرار واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) نشان داد که در شرایط تکثیری یکسان الگوی باندی RAPD بطور مشابه خواهد بود. واکنش PCR با ۱۰ آغازگر تعداد ۱۰٤ باند قابل نمره‌دهی را تکثیر نمود که ۷۰ باند از بین آن‌ها (٦۷ درصد) چند شکل بودند (جدول۱). میانگین چندشکلی به دست آمده با ۱۰ آغازگر ٦۷ درصد بود. میانگین PIC به دست آمده برابر با ۰/۸۰۱ بود. میزان PIC برای ۱۰ نشانگر بررسی شده بین ۰/۷٤ تا ۰/۸۷ متغیر بود. PIC نه تنها با در نظر گرفتن تعداد الل‌های یک مکان ژنی بلکه با در نظر گرفتن فراوانی نسبی این الل‌ها یک برآوردی از قدرت تمیز هر نشانگر را ارائه می‌کند. مقدار PIC به دست آمده بیانگر قدرت تشخیص بالای آغازگرهای استفاده شده می‌باشد ضریب همبستگی کوفنتیک[3] (بین ماتریس تشابه جاکارد و ماتریس کوفنتیک) ۰/۷۸ بود. ضریب همبستگی کوفنتیک بالای ۰/۹ نشانه کارآیی بالای تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. و هرچه ضریب همبستگی کمتر از ۰/۸ باشد نشانگر عدم کارایی مطلوب تجزیه خوشه‌ای می‌باشد ولی در مورد نشانگرهای مولکولی ضریب همبستگی کوفنتیک ملاک نیست و معمولاً پایین است (۱۵) لذا ضریب همبستگی کوفنتیک به دست آمده در این تحقیق قابل قبول می‌باشد. با توجه به دندروگرام حاصل از روش CL یا دورترین همسایه‌ها (شکل۱) لاین‌های بررسی شده (لاین های جهش‌یافته، ارقام تجاری و رقم والدیL17) در ۷ گروه مختلف قرار گرفتند که ضریب تشابه بین آن‌ها از ۰/۱۷ تا ۰/۷۹ متغیر بود. گروه اول شامل ۱۳ فرد بود که لاین‌های جهش‌یافته در کنار رقم مادری (L17) قرار گرفته بودند. گروه دوم شامل ۱۳ لاین جهش یافته بود.

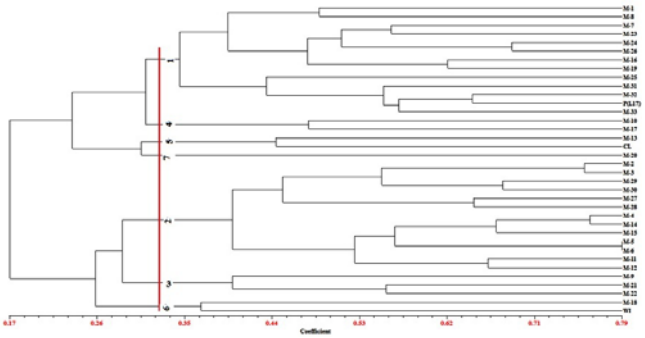
[1] Jaccard
[2] Complete linkage
[3] Cophenetic correlation

جدول۱- درجه چندشکلی و اطلاعات مربوط به آغازگرهای استفاده شده برای لاین‌های بررسی شده

شماره	آغازگر	توالی (´۳-´۵)	مجموع قطعات	تعداد قطعات چند شکل	درصد چند شکلی	PIC
۱	OPA-01	CAGGCCCTTC	۶	۵	۸۳	۰/۷۷
۲	OPA-02	TGCCGAGCTG	۱۱	۷	۶۴	۰/۷۹
۳	OPA-03	AGTCAGCCAC	۱۲	۷	۵۸	۰/۸۰
۴	OPA-04	AATCGGGCTG	۹	۴	۴۴	۰/۷۳
۵	OPA-05	AGGGGTCTTG	۱۱	۸	۷۳	۰/۸۷
۶	OPA-07	GAAACGGGTG	۱۲	۱۰	۸۳	۰/۸۳
۷	OPA-08	GTGACGTAGG	۱۱	۹	۸۲	۰/۸۶
۸	OPA-09	GGGTAACGCC	۱۱	۷	۶۴	۰/۸۰
۹	OPA-10	GTGATCGCAG	۱۰	۶	۶۰	۰/۷۴
۱۰	OPA-11	CAATCGCCGT	۱۱	۷	۶۴	۰/۸۲
			۱۰۴	۷۰	۶۷	۰/۸۰۱

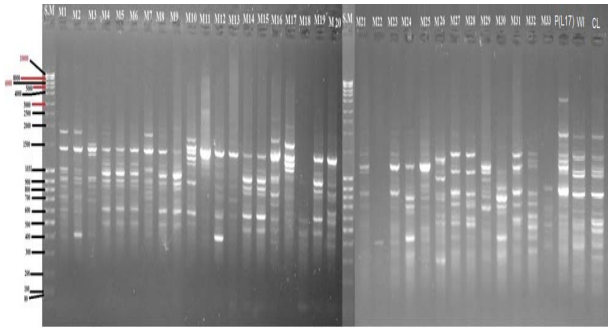
www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱- دندروگرام CL برای ۳۳ لاین جهش‌یافته، دو رقم تجاری ویلیامز (WI) و کلارک (CL) و رقمL17 مادری (P) بر اساس نشانگرهای RAPD

گروه سوم و چهارم هر کدام به‌ترتیب شامل سه و دو لاین جهش‌یافته بود. گروه پنجم شامل رقم تجاری کلارک (CL) و لاین جهش‌یافته شماره ۱۳ (M13) بود. گروه ششم شامل رقم تجاری ویلیامز (WI) و لاین جهش‌یافته شماره ۱۸ (M18) بود. گروه هفتم فقط شامل لاین جهش‌یافته شماره ۲۰ (M20) بود. با توجه به ماتریس تشابه جاکارد لاین جهش‌یافته شماره ۳۲ (M32) با ضریب تشابه ۰/٦٤۳ مشابه‌ترین لاین به رقم مادری (L17) بود. لاین جهش‌یافته شماره ۹ (M9) که در گروه سوم قرار گرفته است با ضریب تشابه ۰/۲٦۲ دورترین لاین جهش‌یافته نسبت به رقم مادری (L17) بود. در بین لاین‌های بررسی شده لاین‌های جهش‌یافته شماره ۵ (M5) و شماره ٦ (M6) با ضریب تشابه ۰/۷۹٤ و لاین جهش‌یافته شماره ۹ (M9) و رقم تجاری کلارک (CL) با ضریب تشابه ۰/۱۷۵، به‌ترتیب مشابه‌ترین و دورترین (متفاوت‌ترین) لاین‌ها نسبت به هم دیگر بودند. با اینکه لاین‌های جهش‌یافته با استفاده صفات مورفولوژکی قابل شناسایی از لاین مادری و ارقام تجاری هستند ولی در مواردی که تعداد افراد زیاد است و اثرات محیطی وجود دارد، می‌تواند باعث ایجاد محدودیت‌هایی شود. استفاده از نشانگرهای مولکولی به عنوان روش جایگزین می‌تواند بر این مشکل فائق آید. القاء جهش با استفاده از اشعه‌های یونزا با اثرات متقابل اشعه با گیاه شروع می‌شود. تغییر ژنتیکی با استفاده از اشعه‌های یونزا بواسطه یونیزاسیون و تحریک مولکول DNA ایجاد می‌شود. اشعه‌های یونزا بر روی مواد وراثتی دو اثر دارد: جهش ژنی و شکست کروموزومی. القاء جهش با افزایش تنوع ژنتیکی مرتبط می‌باشد و در برنامه‌های اصلاح نباتات به کار می رود. تعداد باندهای تولید شده توسط هر کدام از آغازگرها بین ٦ (OPA-01) تا ۱۲ باند (OPA-03, OPA-07) متغیر بود که میانگین باندها ۱۰/٤ باند برای هر آغازگر بود. این نتیجه تقریباً با نتایج وایوژ و پاول (۱٦) مطابقت دارد که نشان داده بودند اکثر آغازگرهای ۱۰ تایی در گیاهان قادر به تولید ۲ تا ۱۰ محصول تکثیری مختلف هستند.



شکل۲- الگوی باندی برای لاین‌های جهش‌یافته (M1-M33)، رقمL17 مادری (P) و ارقام تجاری ویلیامز (WI) و کلارک (CL) حاصل از آغازگر OPA-09 S.M نشان دهنده نشانگر اندازه می‌باشد با توجه به شکل رقمL17 مادری (P) شامل باندی می‌باشد که در لاین‌های جهش‌یافته حذف شده است.

با توجه به دندروگرام CL و تنوع باندی موجود، تفکیک لاین‌های جهش‌یافته از ارقام تجاری (ویلیامز و کلارک) و رقم مادری (L17) و قرار گرفتن آن‌ها در هفت گروه مختلف می‌تواند به واسطه‌جهش (حذف یا اضافه شدن) در مکان‌های اتصال آغازگرها باشد. بر اساس شکل (۲) در محصول PCR رقم مادری حاصل از آغازگرOPA09 باندی حدود ۳ کیلو باز به‌طور انحصاری دیده می‌شود که این باند در سایر لاین‌های جهش‌یافته وجود ندارد و حذف شده است. همسانه‌سازی و تعیین توالی این فراورده و معرفی آن به‌عنوان یک نشانگر SCAR[1] می‌تواند مناسب باشد. این نشانگر را جهت شناسایی رقم والدی از لاین‌های جهش‌یافته به راحتی می‌توان استفاده کرد. افزون بر این تعیین توالی و جستجوی مشابهت‌های آن در بانک اطلاعاتی می‌تواند مقدمه‌ای برای بررسی‌های تکمیلی ژنتیک برگشتی و تعیین نقش احتمالی آن باشد. در این بررسی با استفاده از ۷۰ باند چند شکل امتیازبندی ژنوتیپ‌ها انجام شد. تنوع موجود در شدت باندها و حذف برخی از باندها می‌تواند با میزان باند تولید شده از

[1] SCAR: Sequence Characterized Amplified Region

www.SID.ir

Archive of SID

DNA الگو بعد از جهش، در ارتباط باشد که تعداد مکان‌های اتصالی آنزیم Taq پلیمراز را تغییر می‌دهد.

ظهور باندهای جدید معمولاً به‌واسطه تغییرات ساختاری (شکست، جابجایی، حذف و ...) DNA می‌باشد. راینا و همکاران (۱۷) گزارش کردند که چندشکلی نشانگر RAPD در اکوتیپ‌های مختلف مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بادام زمینی ۴۲/۷ درصد می‌باشد که این تنوع به‌واسطه جهش در DNA هسته‌ای می‌باشد. سوفرامانین و همکاران (۱۸) جهش‌های حذفی و اضافه شده بیشتری را در بلک گرم[1] در مقایسه با رقم مادری مشاهده کردند که لاین‌های جهش‌یافته با استفاده از اشعه گاما ایجاد شده بودند. نتیجه مشابه نشان داد که جهش یافته‌ها نسبت به والدین باندهای بیشتری را نشان دادند (۱۹). پرتوتابی اشعه گاما منجر به افزایش شکست‌ها در DNA می‌شود. این شکست‌ها می‌تواند با استفاده از تغییرات در الگوهای باندی RAPD شناسایی شوند (۱۳). مکان‌های RAPD تنوع زیادی از الگوی باندی DNA را نشان دادند به طوری که ۲۷ درصد تغییرات حاصل ناشی از دو آغازگر OPA-07 و OPA-08 بود. وجود چنین تنوعی در بین این لاین‌ها و ارقام تجاری و مادری نشان دهنده پتانسیل بالای اشعه‌های یونزا برای ایجاد تنوع در گیاهانی مانند سویا می‌باشد. همان‌طوری که قبلاً مشخص شده بود این لاین‌ها از نظر تثبیت ازت نسبت به رقم مادری برتری داشته‌اند (۱) و لذا دستیابی به تنوع ژنتیکی و اثبات این تنوع (تنوع بین لاین‌های جهش‌یافته و رقم تجاری) می‌تواند مسیر روشنی را برای بهره‌برداری هرچه بیش‌تر و کاربردی‌تر این لاین‌ها در پیش روی اصلاح‌گران قرار دهد تا با دیدی بازتر و روشن‌تر به استفاده از این لاین‌ها بپردازند. در این ارتباط محققان مختلفی از این ابزار برای سنجش تنوع القا شده توسط اشعه گاما استفاده کرده‌اند تا بتوانند نحوه تأثیر و میزان تنوع القا شده را با استفاده از گروه بندی افراد و سنجش میزان دوری افراد نسبت به رقم مادری بسنجد و در نهایت از آن‌ها برای اهداف مختلف بهره ببرند (۲۰، ۲۱، ٦ و ۱۲). تنوع الگوی باندی حاصل از آغازگرهای تصادفی که بین لاین‌های جهش‌یافته و مادری وجود داشت نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی مشخص آن‌هاست. یعنی جهش در نقاط اتصال این آغازگرها تغییراتی ایجاد کرده است که منجر به تفاوت محصولات PCR تولید شده از لاین‌های جهش‌یافته و مادری شده است. تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر RAPD به خوبی این تنوع و اختلاف را نشان داد و گروه لاین‌های جهش‌یافته را از رقم مادری و ارقام تجاری جدا کرد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر ژنتیکی تنوع موجود بین لاین‌های جهش‌یافته، تجاری و رقم مادری را آشکار ساخت. این تحقیق نشان داد که نشانگرهای مولکولی مانند RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های جهش‌یافته مناسب می‌باشد زیرا تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نشانگر RAPD باعث تفکیک گروه‌های زیادی شد. نشانگر RAPD با اندازه حدود ۳ کیلو باز منحصراً در رقم مادری مشاهده شد که قابل تبدیل به نشانگر SCAR است. با توجه به تنوعی که این لاین‌ها از لحاظ نشانگر ژنتیکی بررسی شده نشان دادند پیشنهاداتی را می‌توان به این شرح ارائه داد. شناسایی لاین‌های جهش یافته‌ای که فاصله ژنتیکی زیادی با رقم مادری داشته باشند می‌تواند منجر به شناسایی لاین‌های جهش‌یافته با ژن‌های مطلوبی شود که این لاین‌ها سازگاری بهتری را نسبت به رقم والدی و ارقام تجاری در شرایط تنش‌های زیستی و غیر زیستی از خود نشان دهند. همچنین با توجه به اینکه قبلاً مشخص شده بود که این لاین‌ها دارای صفات مطلوب و برتری از جمله تثبیت بیولوژیک نیتروژن بالاتر نسبت به والد خود می‌باشند (۱) می‌توان باندهای اختصاصی مرتبط با این صفت را در جهش‌یافته‌های با خصوصیات گره‌زایی و تثبیت ازت بالا مشخص نمود. مقدار PIC محاسبه شده نشان‌دهنده قدرت تمییز بالای آغازگرهای استفاده شده می‌باشد. لاین‌های جهش‌یافته حاضر می‌توانند در شرایط مزرعه‌ای برای مقاومت به انواع بیماری‌ها و پاتوژن‌ها مورد ارزیابی قرار گیرند و لاین‌های مقاوم انتخاب شوند. با ایجاد لاین‌های مقاوم به پاتوژن‌ها و بیماری‌ها سموم کمتری مصرف می‌شود و در نهایت آسیب جدی به اکوسیستم کشاورزی وارد نمی‌شود.

[1] Black gram

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. یرولی بیرانوند ن، عباسعلیان ح، موسوی شلمانی م ا و صیادی ر(۱۳۸۵) ارزیابی تثبیت بیولوژیک نیتروژن برخی موتانت‌های گیاه سویا حاصل از پرتو دهی با اشعه گاما. نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران- دانشگاه تهران- پردیس ابوریحان.

2. Keim P , Schupp J M, Travis S E, Clayton K, Zhu T, Shi L, Ferreira A, and Webb D M (1997) A high density soybean genetic map based on AFLP markers Crop Science 37: 537–543

3. Skorupska H T , Shoemaker R C, Warner A, Shipe E R and Bridges W C(1993) Restriction fragment length polymorphism in soybean germplasm of the southern USA Crop Sci 33:1169-1176

4. Rahman S M , Takagi V, Kubota K, Miyamoto K and Kawakita V(1995) High oleic acid mutant in soybean induced by X-ray irradiation Biosci Biotech Biochem 59: 922-933

5. Villavicencioa A L C H , Araujoa M M, Baldassoa J G, Aquino S, Konietznyb U and Greiner R(2004) Irradiation influence on the detection of genetic-modified Soybeans Radiation Physics and Chemistry 71 (2004) 489–492

6. Atak Ç, Alikemanoglu S, Acik L, and Canbolat Y(2004) Induced of plastid mutations in soybean plant (glycine max L Merrill) with gamma radiation and determination with RAPD Mutation research 556:35-44

7. Jain S M (2005) Major mutation-assisted plant breeding programs supported by FAO/IAEA Plant Cell Tiss Org Cult 82:113–123

8. Khan M H , and Tyagi S D(2009) Studies on induction of chlorophyll mutations in soybean, Glycine max (L) Merrill Front Agric China 2009, 3(3): 253–258

9. Manjaya J G , Suseelan K N, Gopalakrishna T, Pawar S E and Bapat V A(2007) Radiation induced variability of seed storage proteins in soybean [Glycine max (L) Merrill] Food Chemistry 100, 1324–1327

10. Kumar S, Prasad K V and Choudhary M L(2006) Detection of genetic variability among chrysanthemum radiomutants using RAPD markers Current Sci 90:1103–1118

11. Caetano-Anolles G, Bassam B J and Gresshoff P M(1991) DNA amplification fingerprinting using very as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietals identification, and phylogenetic relationships in peanut (Arachis hypogaea) cultivars and wild species Genome 44: 763-772

short arbitrary oligonucleotide primers Biotechnol 9: 553-5

12. Raisheed M S , Asad S, Iqbal M J, Mukhter Z, Zaffar Y and Malik K A(2001) Polymorphic studies employing RAPD analysis in stress-induced variants of sugarcane developed through in-vitro techniques Pak Sugar J 16(6): 15-26

13. Senthamizh S B , Ponnuswami V and Kavitha P S(2008) Use of RAPD assay for the detection of mutation changes in caonla (Emblica officinalis Gaertn) Adv Nat Appl Sci 2(3): 129-134

14. Sharma R , Mahila H R, Mohapatra T, Bhargava S C and Sharma M M(2003) Isolating Plant Genomic DNA Without Liquid Nitrogen Plant Molecular Biology Reporter 21: 43–50

15. Rohlf F J (1987)NTSYS-pc: Micro-computer programs for numerical taxonomy and multivariate analysis. Amer. Statistician, 41:330.

16. Waugh R and Powell W(1992) Using RAPD Markers for Crop Improvement Trends Biotech,10: 186-190

17. Raina S N , Rani V, Kojima T, Ogihara Y, Singh K P and Devarumath R M(2001) RAPD and ISSR fingerprints

18. Souframanien J, Pawar S E and Rucha A G(2002) Genetic variation in gamma ray induced mutants in black gram as revealed by RAPD and ISSR markers Indian J Genet 4: 291-295

19. Banerjee H , Pai R A, and Sharma R P(1999) Restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of chickpea accessions Biol Plant 42: 197-208.

20. Ganapathi T R , Sidha M, Suprasanna P , Ujjappa K M, Bapat V A and D'Souza S F(2008) Field performance and RAPD analysis of gamma-irradiated variants of banana cultivar 'Giant Cavendish' (AAA) Int J Fruit Sci 8(3): 147-159

21. Wendt S N , Peters J A, Oliveira A C, Bobrowski V L, Cosa E L C , Madruga C S and Vighi I L(2001) Plant regeneration and molecular characterization of potato cultivar Macaca, obtained from gamma irradiation explants J New Seeds, 3(2): 17-37

www.SID.ir