جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

ارزیابی قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره سورگوم بر روی نیشکر و ذرت

ثریا کرمی[۱]، جعفر پوررضا[۲] و زهرا ساجدی[۳]

چکیده

نشانگرهای ریزماهواره ابزاری بسیار ارزشمند برای اهدافی از جمله نقشه یابی، انگشت نگاری و برنامه‌های اصلاحی می‌باشند. با این وجود، این نشانگرهای ارزشمند تنها برای برخی از گیاهان مهم از نظر اقتصادی، قابل دسترس می‌باشد که دلیل آن هزینه‌های گزاف و مدت زمان طولانی در اجرای برنامه ساخت کتابخانه ریزماهواره و طراحی آغازگر می‌باشد. نقشه‌های مقایسه‌ای درجه بالایی از تشابه بین گونه و جنس‌های خویشاوند خانواده گراس‌ها نشان داده‌اند و بدین ترتیب قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره‌ای بین گونه و جنس‌های خویشاوند میسر گردیده است. در این تحقیق هدف ارزیابی قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره‌ای سورگوم (*Sorghum ssp*) بر روی نیشکر (*Saccharum spp*) و ذرت (*Zea mays*) بود. از ۲۹ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای سورگوم، به‌ترتیب ۲۰/۷٪ و ۶/۹٪ بر روی ژنوم نیشکر و ذرت قابلیت انتقال نشان دادند. نشانگرهای ریزماهواره‌ای این تحقیق آگاهی بخش بودند با این‌که تنها شش رقم از هر گونه استفاده شد. تعداد قطعات تکثیر یافته توسط نشانگرهای چند شکل در گونه‌های نیشکر و ذرت به ترتیب ۹-٤ (متوسط ٦/۲) و ۳ -۲ (متوسط ۲/۵) بود. اندازه قطعات تکثیری در گونه‌های هدف، تفاوت‌هایی را در مقایسه با سورگوم نشان دادند. یک نشانگر با قابلیت تکثیر در هر سه گونه دیده شد که نشان دهنده حفظ نواحی آللی جایگاه اتصال نشانگر در بین این سه گونه می‌باشد. این نشانگرها با قابلیت تکثیر بین گونه‌ای، در حال حاضر می‌توانند برای مطالعات ژنتیکی و اصلاحی در این گونه‌ها مورد بهره‌برداری قرار گیرند.

کلمات کلیدی: *تشابه، ذرت، ریزماهواره، سورگوم، قابلیت انتقال، نیشکر.*

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۲۹

۱- عضو هیئت علمی، دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور خوزستان (نویسنده مسئول)
E- mail: sorayakarami@gmail.com
۲- عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رامهرمز
۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات اهواز

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه و بررسی منابع علمی

خانواده غلات در بین سایر خانواده‌های گیاهی از اهمیت بالایی برخوردار است. از جمله گیاهان متعلق به این خانواده می‌توان به نیشکر[1]، ذرت[2]، سورگوم[3]، جو[4]، ارزن[5]، یولاف[6]، برنج[7]، گندم[8]، چاودار[9] و تریتیکاله[10] اشاره نمود. برای مثال نیشکر به عنوان یک گیاه تک لپه‌ای چند ساله یکی از مهم‌ترین منابع کربوهیدرات در جهان می‌باشد که بیش از ۷۷/۷۳٪ از شکر جهان را تامین می‌کند. در سال ۷ –۲۰۰۶ میلادی کل شکر تولید شده در جهان ۱۵۰ میلیون تن بود، که بر اساس آمار سازمان خواربار جهانی در همین سال میزان تولید در ایران ۵۷۲۲ هزار تن گزارش گردیده است. مناسب‌ترین راه برای شناسایی و تشخیص قرابت‌های ژنتیکی ارقام و حذف مواد گیاهی مشابه استفاده از نشانگرهای مبتنی بر DNA می‌باشد؛ این نشانگرها امکان شناسایی مستقیم تنوع توالی ژنومی را در بین ارقام به‌وجود می‌آورند که در تکمیل اطلاعات شجره نامه مورد استفاده قرار می‌گیرد (سانگ و همکاران، ۲۰۰۵).

در بین تمام روش‌ها، نشانگرهای ریزماهواره به دلیل داشتن مزایایی همچون چند شکلی زیاد، هم بارزی، پراکندگی یکنواخت در سرتاسر ژنوم، دقت بالا و نشان دادن حداکثر اختلاف بین ارقام، به‌طور مؤثرتری در مطالعات ژنتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی در خانواده غلات استفاده می‌شوند که می‌توان به مطالعات آلوالا و همکاران (۲۰۰۶)، شاروپووا و همکاران (۲۰۰۲) و تمنخ و همکاران (۲۰۰۱) اشاره نمود. همچنین نشانگرهای ریزماهواره کاربرد وسیعی در مطالعات مربوط به ارزیابی ارتباط بین گونه‌های خویشاوند و ارتباط بین زیرجمعیت‌های یک گونه خاص دارند (باوکوک و همکاران، ۱۹۹٤). متاسفانه یکی از معایب این نشانگر که استفاده از این سیستم را برای تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی محدود نموده است، هزینه‌های گزاف و مدت زمان طولانی در اجرای برنامه‌های ساخت کتابخانه ریزماهواره و طراحی آغازگر می‌باشد و این امر موجب شده است که این نشانگر تنها برای گیاهانی استفاده شود که برنامه‌های توالی یابی ژنوم آن‌ها انجام شده و یا در حال اجرا می‌باشد (سلوی و همکاران، ۲۰۰۳).

اخیراً، ژنتیک مقایسه‌ای در مورد حفظ محتوی و ترتیب ژن بین گونه‌های خویشاوند در طول تکامل اطلاعاتی را نشان داده است (اندریو و همکاران، ۲۰۰۰). هم‌چنین، بر اساس نقشه‌های مقایسه‌ای، تشابه نشانگرهای مشترک اثبات شده است. بدین ترتیب می‌توان بر اساس این یافته‌ها پیشنهاد کرد که، یک نشانگر از یک گونه/جنس در دیگر گونه/جنس‌های خویشاوند تظاهر پیدا خواهد

1- *Sugarcane*
2- *Maize*
3- *Sorghum*
4- *Barely*
5- *Millet*
6- *Oat*
7- *Rice*
8- *Wheat*
9- *Rye*
10- *Triticale*

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

کرد (پالوپ و همکاران، ۲۰۰۰). اطلاعات توالی‌یابی شده از چندین گیاه زراعی نیز، وجود همولوژی کافی بین ژنوم ها در نواحی احاطه کننده جایگاه‌های ریزماهواره را نشان داده است، بدین ترتیب آغازگرهای طراحی شده بر اساس توالی‌های ژنومی یک گیاه (بخشنده) می‌تواند برای کشف، تعیین و شناسایی ریزماهواره در گونه‌های خویشاوند (هدف)، گونه‌هایی که اطلاعات موجود در خصوص ریزماهواره برای آن‌ها کافی نیست و یا اینکه اصلا وجود ندارد، استفاده شود (سلوی و همکاران، ۲۰۰۳). در واقع کاربرد نشانگرهای ریزماهواره یک گونه برای گونه دیگر را "قابلیت انتقال" می‌نامند که در تعداد زیادی از گونه‌ها و حتی جنس‌ها به طور موفقیت آمیزی ثابت شده است که برای نمونه می‌توان به مطالعات انجام شده بر روی جنس زیتون[1] (رالو و همکاران، ۲۰۰۳)، لیمو[2] (پالوپ و همکاران، ۲۰۰۰) و خیار[3] (گانگ و همکاران، ۲۰۰۸) اشاره نمود. استیف و همکاران (۲۰۰٤) با استفاده از ۲۷ آغازگر ریزماهواره طراحی شده از جنس *Cucurbita pepo*، قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره را در گونه‌های مختلف *C. maxima*، *C. moschata* و *C. ecuadorensis* نشان داد. نقشه‌های مقایسه‌ای نشان دادند که در طی ٦٥ میلیون سال تکامل، هنوز قطعات کروموزومی بزرگی در بین ژنوم اعضای خانواده غلات وجود دارد که ترتیب ژن‌ها در آن‌ها حفظ شده است (پترسون و همکاران، ۱۹۹۵). در مطالعه‌ای جهت تشخیص نواحی تشابه بین سه ژنوم ذرت، نیشکر و سورگوم، اثبات شد که نیشکر و سورگوم از نظر سازماندهی کروموزومی شباهت و خویشاوندی نزدیکتری در مقایسه با ذرت نسبت به هم دارند (گریویت و همکاران، ۱۹۹٤). مطالعات بعدی نیز تشابه کاملی بین ژنوم سورگوم و نیشکر بر اساس نقشه‌های مقایسه‌ای ژنوم گزارش دادند (دافور و همکاران، ۱۹۹٦، گایمراز و همکاران، ۱۹۹۷ و هرناندز و همکاران، ۲۰۰۱).

در این تحقیق سعی بر آن است که با استفاده از وجود تشابه بین اعضای خانواده غلات، هم‌چنین قابلیت انتقال و تکثیر بین گونه‌ای نشانگرهای ریزماهواره‌ای به عنوان یک روش کم هزینه و بدون نیاز به برنامه‌های استخراج ریزماهواره، منابع نشانگری جدیدی برای نیشکر و ذرت به عنوان گونه‌های خویشاوند سورگوم معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA: به منظور ارزیابی قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره سورگوم از شش رقم نیشکر (*Cristalina*، SP٤٠- ١١٤٣، N٣٠، CP٧٠-٤١٠، CP٨٢-١٥٩٢، SP٧١-٦١٦٣) و شش رقم ذرت (٧٠٤، KSC٤٠٤، Opaque٢، Opaque١، آجیلی، شیرین) استفاده گردید. برگ‌های مربوط به هر رقم با آب مقطر شستشو داده شد و قسمت‌های زائد و رگبرگ اصلی را جدا کرده و بعد از وزن کردن با ترازوی

1- *Olea*
2- *Limonium*
3- *Cucurbita*

دیجیتالی در فویل بسته‌بندی و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA ژنومیک هر یک از رقم‌ها بر اساس دستورالعمل پن و همکاران (۲۰۰۰) با کمی تغییرات استخراج و در بافر TE[1] حل گردید. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی از روش اسپکتروفتومتری و بارگذاری DNA بر روی ژل آگارز ٪۰/۸ و مشاهده زیر نور ماوراء بنفش استفاده شد. برای این کار نمونه‌ها به نسبت ۲ درصد (۱۰ میکرولیت محلول DNA + ٤۹۰ میکرولیتر بافر TE) رقیق و غلظت DNA هر نمونه با طول موج ۲٦۰ نانومتر توسط دستگاه بیوفتومتر (اپندرف) اندازه گیری گردید. همچنین از نسبت A۲٦۰/A۲۸۰ برای اندازه‌گیری خلوص DNA استفاده گردید. بهترین مقادیر برای این نسبت بین ۲-۱/۸ می‌باشد، که بیانگر خلوص DNA است. نمونه‌هایی که دارای نسبتی خارج از دامنه ۲-۱/۸ بودند، حذف شده و استخراج DNA از نمونه‌های گیاهی مربوطه مجدداً صورت پذیرفت. همچنین با بارگذاری نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد کیفیت DNA استخراجی آشکار گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: برای تکثیر DNA ژنومیک نیشکر و ذرت از ۲۹ جفت پرایمر طراحی شده از کتابخانه ژنومیک سورگوم، طراحی شده توسط براون و همکاران (۱۹۹٦) و تارامینو و همکاران (۱۹۹۷) استفاده گردید (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس دستورالعمل کوردیرو و همکاران (۲۰۰۰) با کمی تغییرات در حجم ۱۰ µl شامل ۲۰ ng از DNA الگو، ۳۰ ng از هر آغازگر (ساخت شرکت MWG BIOTECH)، ۲۰۰ µM از هر dNTP، ۱۰ mM از Tris-HCl (Ph=۸/۳)، ۵۰ mM از KCl، ۱/۵ mM از $MgCl_2$ ٪۰/۰۱ ژلاتین و ۰/۵ واحد Taq DNA Polymerase (Cinnagen, Iran) انجام گردید. برنامه واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز نیز به صورت Touch down بر روی دستگاه ترموسیکلر (Plam-Cycler ساخت شرکت Corbett Research) به شرح زیر انجام گرفت: ۳ دقیقه در ۹٤ درجه سلسیوس جهت واسرشت سازی اولیه و به دنبال آن ۳۵ چرخه هر کدام شامل ۱ دقیقه در ۹٤ درجه سلسیوس، ۱ دقیقه در ٦۰-۵۵ درجه سلسیوس و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس جهت بسط نهایی انجام پذیرفت. طبق برنامه Tochdown مرحله اتصال پرایمرها به دو چرخه ۱۰ و ۲۵ تایی تقسیم گردید که در طی ۱۰ چرخه اولیه، به ازای هر چرخه، ۰/۵ درجه سلسیوس از دمای اتصال اولیه کاهش می‌یافت. هم‌چنین، برای آغازگرهایی که طبق این برنامه تکثیری نشان ندادند، دمای اتصال تا ٤۸ درجه سلسیوس کاهش داده شد.

محصولات تکثیر یافته بعد از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل پلی اکریل آمید واسرشته ساز ۸٪ (w/v) در بافر TAE (۱ mM EDTA، ۲۰ mM Sodium Acetat، ٤۰ mM Ttis-HCL) در ولتاژ ۳۰۰ ولت به مدت ۳ ساعت بارگذاری

1 - *Tris-EDTA*

شد. برای رنگ آمیزی از روش اتیدیوم بروماید (۱ μg/ml) به مدت ۱۵ دقیقه، استفاده گردید. سپس از ژل رنگ آمیزی شده زیر نور ماوراء بنفش توسط دستگاه Gel Document مدل۷۰۰ GAS عکس برداری شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای هر نمونه بیش از ۲ بار تکرار شد. برای اطمینان از صحت طراحی آغازگرهایی ریزماهواره‌ای سورگوم، از سه رقم سورگوم (Keller، Sorfa، سورگوم جارویی) نیز به عنوان شاهد در تمام مراحل استفاده شد.

امتیازدهی باندها و آنالیز آماری: برای ارزیابی اندازه مولکولی محصولات تکثیر یافته از سایز مارکر bp ۱۰۰ (MBI Fermentas) و نرم‌افزار آماری ONE-Dscan استفاده شد. قطعات تکثیر یافته در چهار گروه بر اساس شدت وضوح و سهولت در امتیازدهی دسته‌بندی شدند: ۱) قطعاتی با وضوح بالا و سهولت در امتیازدهی؛ ۲) وضوح ضعیف اما قابل امتیاز دهی؛ ۳) وضوح خیلی ضعیف و امتیاز دهی مشکل؛ ٤) بدون تکثیر. گروه‌های ۱ و ۲ تکثیرهای مثبت و گروه‌های ۳ و ٤ به عنوان تکثیرهای منفی در نظر گرفته شدند. معیار لازم در این تحقیق برای معرفی یک نشانگر ریزماهواره با قابلیت تکثیر مثبت در بین گونه/جنس، مشاهده قطعات تکثیریافته در حداقل چهار رقم از شش رقم تعداد متوسط قطعات تکثیر یافته در یک گونه با وجود چند شکلی نشانگرها محاسبه شد. درصد تکثیر برابر است با تعداد نشانگرهای تکثیر یافته در یک گونه بر تعداد کل نشانگرها.

نتایج و بحث

در این آزمایش از ۲۹ نشانگر ریزماهواره سورگوم استفاده شد که در کل ۸ نشانگر قابلیت تکثیر و انتقال نشان دادند. شکل ۱، الگوی باندی ایجاد شده توسط آغازگر SbAGB۰۳، Sb ۱-۱ و SbAGD۰۲ را بر روی مواد گیاهی استفاده شده در این مطالعه نشان می‌دهد. از بین نشانگرهای تکثیر شده، نشانگر ZM-ADH۲N در هر دو ژنوم نیشکر و ذرت تکثیر نشان داد. این نشانگر بر اساس توالی‌های بانک ژن ذرت توسط سینیور و هون (۱۹۹۳) طراحی گردیده بود و در مطالعه‌ای که توسط براون و همکاران (۱۹۹٦) انجام شد، این نشانگر از بین ۲۳ جفت آغازگر طراحی شده، به دلیل نشان دادن قابلیت انتقال و تکثیر در سورگوم به عنوان یک منبع جدید نشانگری برای سورگوم معرفی گردید؛ بنابراین تکثیر این نشانگر در بین هر سه گونه دلیلی بر ارتباط خویشاوندی آن‌ها می‌باشد.

از بین ۲۹ جفت آغازگر ریزماهواره سورگوم، شش (۲۰/۷٪) و دو (٦/۹٪) نشانگر سورگوم به ترتیب بر روی ژنوم نیشکر و ذرت تکثیر مثبت نشان دادند و بهینه سازی وضعیت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، تغییر در دمای هم سرشته سازی و مقدار $MgCl_2$ نیز تاثیری بر روی افزایش میزان قابلیت انتقال نداشت. از نشانگرهای

تکثیر شده مثبت بر روی ژنوم نیشکر، یک نشانگر چند شکلی نشان نداد، در حالی‌که در مطالعات براون و همکاران (۱۹۹٦)، آگراما و همکاران (۲۰۰۳) و تارامینو و همکاران (۱۹۹۷)، همه آغازگرهای مندرج در جدول ۱، بر روی ژنوم سورگوم چند شکلی نشان دادند؛ بنابراین عدم چند شکلی نشانگرها با وجود قابلیت تکثیر، شاید ناشی از وجود نواحی آللی ویژه‌ای باشد که به شدت در طول تکامل در گونه‌های خویشاوند حفظ شده‌اند و هیچ تنوعی در ریزماهواره یا توالی احاطه کننده آن‌ها رخ نداده است (کوردیرو و همکاران، ۲۰۰۱).

تعداد زیادی از نشانگرها بر روی هر دو ژنوم هدف (نیشکر و ذرت)، یا تکثیری نشان ندادند یا این‌که قطعات تکثیری، بسیار ضعیف و غیر قابل امتیازدهی بودند. علاوه بر این، دو نشانگر نیز در ژنوم نیشکر تنها یک قطعه تکثیر شدند که با توجه به اکتاپلوئید بودن این گیاه، این قطعات نیز در گروه ٤ قرار گرفتند و از نتایج کلی حذف گردیدند. چندین مطالعه دیگر از جمله مطالعات ژائو و کوچرت (۱۹۹۳)، وان دنزی و همکاران (۱۹۹۸)، تیخانوو و همکاران (۱۹۹۹)، رالو و همکاران (۲۰۰۳)، پن و همکاران (۲۰۰۵) و ادونینا و همکاران (۲۰۰۵) در خانواده غلات و دیگر خانواده‌های گیاهی نشان دادند که جفت آغازگزهای ریزماهواره‌ای طراحی شده برای یک گونه می‌تواند DNAی گونه‌های خویشاوند را تکثیر دهند. برای مثال قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره‌ای ذرت در نیشکر در مطالعه سلوی و همکاران (۲۰۰۳)، ۷٤/۵ درصد گزارش گردید. قابل ذکر است که منبع بخشنده نشانگرهای ریزماهواره‌ای، علاوه بر این‌که بر روی میزان چند شکلی ریزماهواره‌ای گیاه هدف موثر است، عموما انعکاسی از فاصله ژنتیکی نیز می‌باشد. البته فاکتورهایی همانند سطح پلوئیدی و موتاسیون ممکن است ارتباط بین قابلیت انتقال و فاصله ژنتیکی را پیچیده‌تر نمایند (دارلی وانگر و همکاران، ۲۰۰۲). بیشترین تعداد قطعات تکثیر یافته توسط نشانگرهای چند شکل در هر دو گونه، مربوط به تکرارهای دوتایی و کمترین مربوط به تکرارهای سه تایی و مرکب بود. از پنج جفت پرایمری که در نیشکر قطعات چند گانه تکثیر دادند، یک پرایمر تکرار AC، سه پرایمر تکرار AG و یک پرایمر محتوی تکرار مرکب بودند و در ذرت یک پرایمر حاوی تکرار AG و دیگری محتوی تکرار مرکب بود. در نیشکر بیشترین تعداد قطعات به وسیله تکرار ساده $(AC)_{۸}$، در حالی‌که تکرار مرکب $(AG)_{۳۴}GA(CA)_{۶}$ کمترین تعداد قطعه را تکثیر داد و در ذرت نیز به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد قطعات توسط پرایمرهایی با تکرارهای دوتایی و مرکب دیده شد که این نتیجه با گزارش‌های سلوی و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت نشان داد. این نکته قابل ذکر است که در نیشکر، تکرارهای دوتایی از نوع AC، GA و سه تایی از نوع $(CGG)_n$ به ترتیب تکرارهای غالب در کتابخانه DNA ژنومیک و کتابخانه نشانه‌های توالی‌های بیان

شده[1] می‌باشند و در مطالعات صورت گرفته آشکار گردید که بین تعداد قطعات تکثیری و فراوانی تکرارهای غالب نوعی ارتباط مثبت وجود دارد (کوردیرو و همکاران، ۲۰۰۱؛ سلوی و همکاران، ۲۰۰۳؛ پن و همکاران، ۲۰۰۵). به منظور بررسی رابطه بین تعداد قطعات تکثیری و فراوانی تکرارهای ریزماهواره‌ای، همبستگی ساده بین این دو متغیر محاسبه شد و میزان همبستگی، R^2 =۰/۰۸ برآورد گردید. در مطالعه حاضر نیز، اگر چه بیشترین تعداد قطعات در هر دو گونه توسط آغازگرهایی با تکرارهای دوتایی تکثیر داده شد اما چون تعداد نشانگرها با تکرارهای سه تایی و مرکب در مقایسه با تکرارهای دوتایی بسیار کم بود ارتباط مثبتی بین تعداد قطعات تکثیری و تکرارهای دوتایی پیشنهاد نمی‌شود.

تعداد نشانگرهای تکثیر یافته و چند شکل در گونه‌های هدف (ذرت و نیشکر) در مقایسه با گونه بخشنده (سورگوم) کمتر بود؛ در مطالعه آگراما و تونیسترا (۲۰۰۳) که با استفاده از مجموعه نشانگرهای ریزماهواره جدول ۱، انجام شده بود، سطح بالایی از تکثیر و چند شکلی بر روی ژنوم سورگوم گزارش شد. در مطالعه‌ای دیگر با نتیجه‌ای مشابه با نتایج این تحقیق، از بین بیست نشانگر ریزماهواره نیشکر تنها سه نشانگر (۱۵٪) در سورگوم و ایریانتوس[2]، جنس خویشاوند نیشکر، تکثیر نشان دادند (کوردیرو و همکاران، ۲۰۰۱). مطالعات انجام شده نشان دادند که قابلیت انتقال نشانگرهای ریزماهواره گیاهی در مقایسه با نشانگرهای RFLP، معمولاً کمتر است (وان دنزی و همکاران، ۱۹۹۸؛ کورزان و همکاران، ۱۹۹۸)، اگر چه این موضوع همیشه برقرار نیست و مطالعه انجام شده توسط دارلی وانگر و همکاران (۲۰۰۲)، قابلیت انتقال بسیار بالایی از نشانگرهای ریزماهواره را در هلو[3] گزارش داد.

اندازه قطعات تکثیر یافته در نیشکر و ذرت به ترتیب در محدوده ۵۰۰-۱۰۰ و ۱۵۳-۱۰۵ جفت باز بود که از نظر اندازه تفاوت‌هایی را در مقایسه با سورگوم نشان داد. تنوعات طولی مشاهده شده بین جنس‌های متفاوت، می‌تواند به این دلیل باشد که یک تجمع موتاسیونی در بین جنس‌های خویشاوند رخ داده است در حالی‌که در داخل یک جنس، تنوعات طولی عمدتاً ناشی از انبساط یا انقباض ریزماهواره‌ها است (براون و همکاران، ۱۹۹۶). بنابراین، برای درک اساس تنوع اندازه قطعات، به توالی‌یابی هر یک از این قطعات نیاز است. اختلاف اندازه قطعات به دلیل موتاسیون در توالی نواحی احاطه کننده ریزماهواره، در مطالعات کوردیرو و همکاران (۲۰۰۱)، براون و همکاران (۱۹۹۶) و کاستیا و همکاران (۱۹۹۵) نیز، گزارش شده است. مشابه با نتایج این تحقیق، تنوع در اندازه محصولات تکثیر یافته توسط جفت پرایمرهای ریزماهواره‌ای ذرت بر روی DNA نیشکر و ایریانتوس گزارش شد (سلوی و همکاران، ۲۰۰۳).

1- *Expressed sequence tags*
2- *Erianthus*
3- *Pruns spp*

تعداد قطعات تکثیر شده بوسیله پرایمرهای چند شکل بر روی نیشکر ٤ تا ۹ (متوسط ٦/۲) و ذرت ۲ تا ۳ (متوسط ۲/۵) بود. در مطالعه‌ای مشابه، ۹ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای چند شکل ذرت بر روی نیشکر، ۱۰ تا ١٤ (متوسط ۱۰) قطعه تکثیر دادند (سلوی و همکاران، ۲۰۰۳)، که این تفاوت، احتمالا به دلیل تعداد کم رقم‌های استفاده شده در این مطالعه می‌باشد.

دانستن این نکته مفید است که اگر آغازگرهای ریزماهواره گونه‌های خویشاوند در دسترس باشد، می‌توان با غربال کردن تعداد زیادی از جدید برای مطالعات ژنتیکی و اصلاحی، مفید و قابل استفاده باشند. در این تحقیق به دلیل وجود تعداد محدودی از پرایمرهای ریزماهواره‌ای آغازگرهای یک گونه بر روی گونه خویشاوند دیگر، به مجموعه‌ای از آغازگرهای چندشکل معتبر دست یافت. قابلیت انتقال نشانگرهای سورگوم را در نیشکر و ذرت نشان نداد، ولی همین تعداد آغازگرهای تکثیر شده می‌توانند به عنوان منابع نشانگری اگر چه نتایج ما سطح بالایی از سورگوم، از ۲۹ جفت آغازگر استفاده گردید ولی از آنجا که شباهت بین نیشکر، ذرت، گندم و سورگوم بر اساس نقشه‌های مقایسه‌ای به اثبات رسیده است با غربال‌گری آغازگرهای ریزماهواره‌ای هر یک از این گیاهانمی‌توان قابلیت انتقال بین گونه‌ای ریزماهواره ها را در این خانواده بررسی کرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از مسئولین محترم دانشگاه پیام نور استان خوزستان برای تامین هزینه‌های اجرای طرح صمیمانه قدردانی می‌گردد. هم‌چنین از مسئولین محترم مرکز تحقیقات کشت و توسعه نیشکر اهواز برای در اختیار قرار دادن نمونه‌های گیاهی صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

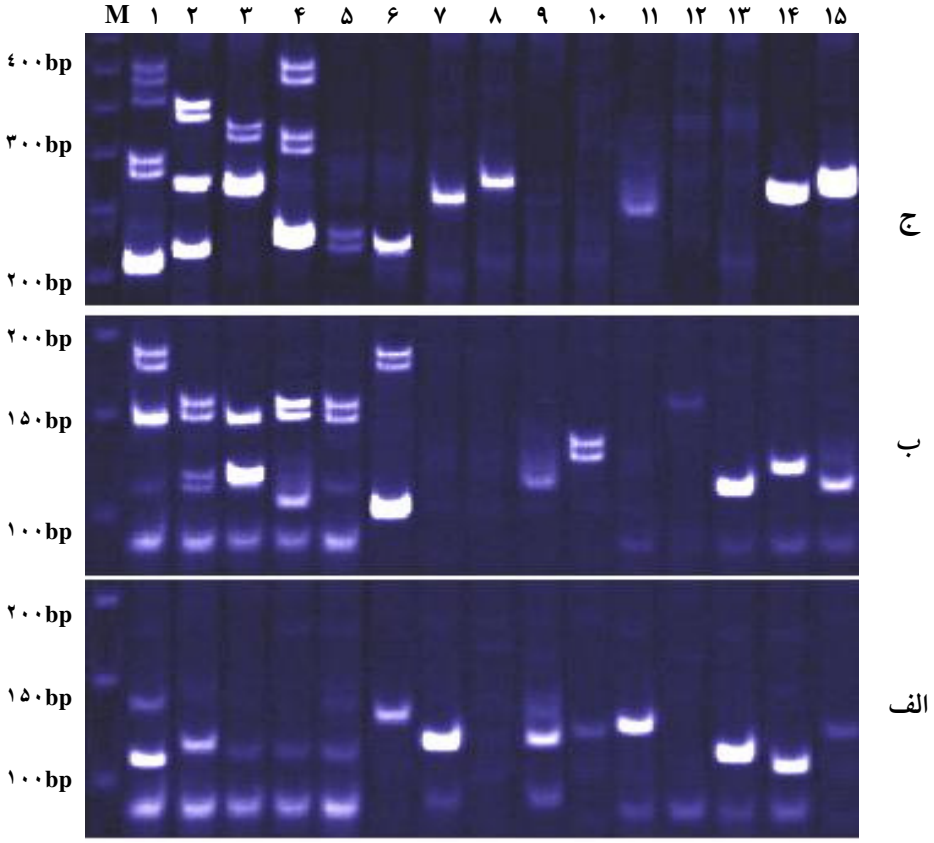
جدول ۱- الگوهای تکثیر نشانگرهای ریزماهواره سورگوم در نیشکر و ذرت

کد نشانگر	نام نشانگر	موتیف	سورگوم	نیشکر			ذرت		
			اندازه قطعات بر حسب bp	اندازه قطعات بر حسب bp	تعداد قطعات تکثیریافته	نوع تکثیر**	اندازه قطعات بر حسب bp	تعداد قطعات تکثیریافته	نوع تکثیر**
۱	Sb۱-۱	$(AG)_{۱۶}$	۲۶۰-۳۰۰ (۲۷۳-۲۷۵*)	۲۱۰-۴۴۰	۸	+	-	-	-
۲	Sb۱-۱۰	$(AG)_{۲۷}$	۳۵۰۰-۴۰۰	-	-	-	-	-	-
۳	Sb۴-۱۵	$(AG)_{۱۹}$	۱۲۰-۱۳۰	-	-	-	-	-	-
۴	Sb۴-۲۲	$(ACGAC)_{۴}(AG)_{۶}$	۲۷۰-۳۰۰	-	-	-	-	-	-
۵	Sb۴-۳۲	$(AG)_{۱۵}$	۱۶۰-۱۸۰	-	-	-	-	-	-
۶	Sb۴-۱۲۱	$(AC)_{۱۴}$	۲۰۰-۲۲۵	-	-	-	-	-	-
۷	Sb۵ -۸۵	$(AG)_{۱۲}$	۲۰۰-۲۲۵	-	-	-	-	-	-
۸	Sb۵ -۲۰۶	$(AC)_{۲۰}$. $(AG)_{۱۳}$	۱۱۵-۱۳۰	-	-	-	-	-	-
۹	Sb۵ -۲۱۴	$(AG)_{۱۴}$	۱۷۴-۳۰۰	-	-	-	-	-	-
۱۰	Sb۵ -۲۳۶	$(AG)_{۲۰}$.	۱۶۵-۱۸۵	-	-	-	-	-	-
۱۱	Sb۶-۳۶	$(AG)_{۱۹}$	۱۵۵-۱۹۰	-	-	-	-	-	-
۱۲	Sb۶ -۵۷	$(AG)_{۱۸}$	۲۸۵-۳۰۵	-	-	-	-	-	-
۱۳	Sb۶-۸۴	$(AG)_{۱۴}$	۱۷۰-۱۹۰	-	–	-	-	-	-
۱۴	Sb۶ -۳۲۵	$(AAG)_{۲۲}$	۱۱۰-۱۴۰ (۱۲۴-۱۴۲)	۱۱۰-۳۶۰	۴	#،+	-	-	-
۱۵	Sb۶ -۳۴۲	$(AC)_{۲۵}$	۲۵۰-۳۲۰ (۲۵۰-۳۵۰)	۲۶۰-۵۰۰	۹	+	-	-	-

ادامه جدول

۱۶	SbAGA۰۱	$(AG)_{۳۳}$	۸۸-۱۰۶	-	-	-	-	-	-
۱۷	SbAGE۰۱	$(AG)_{۳۰}$	۱۰۶-۲۰۸	-	-	-	-	-	-
۱۸	SbAGB۰۲	$(AG)_{۳۵}$	۱۰۱-۱۲۱	-	-	-	-	-	-
۱۹	SbAGD۰۲	$(AG)_{۳۲}$	۱۰۰-۱۴۸	-	-	–	-	-	-
۲۰	SbAGG۰۲	$(AG)_{۴۱}$	۱۷۰-۱۹۰	-	-	–	-	-	-
۲۱	SbAGB۰۳	$(AG)_{۴۱}$	۹۴-۱۵۸ (۱۱۰-۱۲۱)	۱۰۰-۱۹۹	۵	+	-	-	-
۲۲	SbAGE۰۳	$(AG)_{۳۴}GA\ (CA)_{۶}$	۸۴-۱۵۱ (۱۲۵-۱۵۰)	۱۹۰-۴۹۰	۴	+	-	-	-
۲۳	SbAGF۰۶	$(AG)_{۳۵}$	۱۱۰-۱۸۰	-	-	-	-	-	-
۲۴	SbAGF۰۸	$(AG)_{۳۴}$	۱۳۴-۱۷۶	-	-	-	-	-	-
۲۵	SbAGH۰۴	$(AG)_{۳۹}$	۱۱۰-۱۷۰	-	-	-	-	-	-
۲۶	SvPEPCAA	$(AT)_{۱۰}$	۲۱۰-۲۵۰	-	–	–	-	-	-
۲۷	SvHPRGPG	$(AT)_{۱۰}$	۲۴۶-۲۵۵	-	-	–	-	-	-
۲۸	SBKAFGK1	$(ACA)_{۹}(AAC)_{۹}$	۱۴۲-۱۶۶ (۱۵۰-۱۷۰)	-	-	-	۱۳۰-۱۵۳	۲	+
۲۹	ZMADH۲ N	$(AG)_{۷}$	۱۱۰-۱۲۰ (۱۴۵-۱۶۰)	۱۲۰-۳۶۰	۱۰۵ -۱۱۵	+	۱۰۵ -۱۱۵	۳	+

*) اندازه قطعات بر اساس مطالعات (بروان، ۱۹۹۶؛ تارامینو، ۱۹۹۷)، **) + (تکثیر)- (عدم تکثیر)، # (عدم چند شکلی)، *) اندازه قطعات مشاهده شده در مطالعه حاضر



شکل ۱- الگوی تکثیر DNA ژنومی شش رقم نیشکر (۶-۱)، شش رقم ذرت (۱۲-۷) و دو رقم سورگوم (۱۴-۱۳) بوسیله نشانگر (الف) SbAGD۰۲ ، (ب) SbAGB۰۳، (ج) Sb۱-۱ بر روی ژل آکریل آمید و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید. لاین M، سایز مارکر DNA

منابع مورد استفاده

✓ Adonina, I.G., E.A Salina., E.G Restsova. and M.S. Roder. 2005. Transferability of wheat microsatellite to diploid *Aegilops* species and determination of chromosomal localization of microsatellites in the S genome. Genome. 48: 959- 970.

✓ Agrama, H.A. and M.R. Tuinstra. 2003. Phylogenetic diversity and relationship among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. Journal of Africa Biotechnical. 2: 334- 340.

✓ Alwala, S., A. Suman., J.A Arro., J.C. Veremis. and C.A Kimbeng. 2006. Target region amplification (TRAP) for assessing genetic diversity in sugarcane germplasm collections. Crop Science. 46: 448- 455.

✓ Andrew, H., J.E. Paterson., M.D. Bowers., X.D. Burow., G.E. Christin. and J.W. Robert. 2000. Comparative genomics of plant chromosomes. Plant Cell. 12: 1523- 1539.

✓ Bowcock, A.M., A. Ruiz-Linares., A. Tomfohrde., E. Minch., J.R. Kidd. and L.L. Cavalla-Sforza. 1994. High-resolution human evolution trees from polymorphic microsatellites. Nature. 368: 455- 457.

✓ Brown, S.M., M.S. Hopkins., S.E. Mitchell., M.L. Senior., T.Y. Wang. and R.R. Duncan. 1996. Multiple methods for the identification of polymorphic simple sequence repeats (SSRs) in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) *moench*]. Theoretical and Applied Genetics. 93: 190- 198.

✓ Cordeiro, G.M., R. Casu,. C.L. McIntyre., J.M. Manners. and R.J. Henry. 2001. Microsatellite markers from sugarcane ESTs cross transferable to Helianthus and sorghum. Plant Science. 160: 1115- 1123.

✓ Cordeiro, G.M., G.O. Taylor. and R.J. Henry. 2000. Characterization of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum sp*.) a highly polyploidy species. Plant Science. 155: 161- 168.

✓ Dirlewanger, E., P. Cosson., M. Tavaud., M.J. Aranazana., C. Poizat., A. Zanetto., P. Arus. and F. Laigret. 2002. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) *Batsch*] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theoretical and Applied Genetics. 85: 649- 652.

✓ Dufour, P., L. Grivet., A. D'Hont., M. Deu., G. Trouch., J.C. Glaszman. and P. Hamon. 1996. Comparative genetic mapping between duplicated segments on maize chromosomes 3 and 8 and homoeologous regions in sorghum and sugarcane. Theoretical and Applied Genetics. 92: 1024- 1030.

✓ Gong, L., G. Sftft., R. Kofler., M. Pachner. and T. Leyyey. 2008. Microsatellites for the genus Cucurbita an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. Theoretical and Applied Genetics. 117: 37- 48.

✓ Grivet, L., A. D'Hont., P. Dufour., P. Hamon., D. Roques. and J.C. Glaszmann. 1994. Comparative genome mapping of sugarcane with other species within the *Andropogoneae* tribe. Heredity. 73: 500- 508.

✓ Guimaraes, C.T., G.R. Sills. and B.W.S. Sobral. 1997. Comparative mapping of *Andropogoneae*: *Saccharum* and its relation to sorghum and maize. Proceedings of the National Academic Science. 94: 14261- 14266.

✓ Hernandez, P., G. Cordeiro., D. Laurie., A. Martin. and J. Snape. 2001. Microsatellite and RFLP probes from maize are efficient source of molecular markers for the biomass energy crop *Miscanthus*. Theoretical and Applied Genetics. 102: 616- 622.

✓ Korzun, V., S. Malyshev., N. Kartel., T. Westermann., W.E. Weber. and A. Borner. 1998. A genetic linkage map of Ray. Theoretical and Applied Genetics. 96: 203- 208.

✓ Kostia, S., V. Sirkaa., P. Vakkari. and P. Pulkkinen. 1995. Microsatellite sequences in Conifer, *Pinus sylvestris*. Genome. 38: 1244- 1248.

✓ Palop, M., C. Palacios. and F. Gonzalez-Candelas. 2000. Development and across species transferability of microsatellite markers in the genus Limonium (*Plumbaginaceae*). Conservation Genetics. 1: 177- 179.

✓ Pan, Y.B., J. Comstock. and B. Scheffler. 2005. Highly polymorphic microsatellite DNA markers for U.S sugarcane germplasm evaluation and variety fingerprinting. Plant and Animal Genome. XIII. Pp: 36.

✓ Pan, Y.B., D.M. Burner. and B.L. Legendre. 2000. An assessment of the phylogenetic relationship among sugarcane and related taxa based on the nucleotide sequence of 5S rRNA intergenic spacers. Genetica. 108: 285- 295.

✓ Paterson, A.H., Y.R. Lin., Z. Li., K. Schertz., J.F. Doebley., S.R.M. Pinson., S.C. Liu., J.W. Stansel. and J.E. Irvine. 1995. Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. Science (Washington. D.C). 269: 1714- 1718.

✓ Rallo, P., Tenzer, I., Gessler, C., Baldoni, L., Dorado, G. and Martin, A. 2003. Transferability of olive microsatellite loci across the genus Olea. Theoretical and Applied Genetics. 107: 940- 946.

✓ Senior, M.L. and M. Heun. 1993. Mapping microsatellites and polymerase chain confirmation of the targeted repeats using a CT primer. Genome. 36: 884- 889.

✓ Selvi, A., N.V. Nair., N. Balasundaram. and T. Mohapatra. 2003. Evaluation of maize microsatellite markers for genetic diversity analysis and fingerprinting in sugarcane. Genome. 46: 394- 403.

✓ Sharopova, N., M.D. Mc-Mllan. and L. Schultz. 2002. Development and mapping of SSR markers for maize. Plant Molecular Biology. 48: 463- 481.

✓ Song, Q.J., J.R. Shi., S. Singh., E.W. Fickus., J.M. Costa., J. Lewis., B.S. Gill., R. Ward. and P.B. Cregan. 2005. Development and characterization of microsatellite (SSR) markers in wheat. Theoretical and Applied Genetics. 110: 550- 556.

✓ Stiff, G., A. Zraiadi. and T. Lelley. 2004. Development and characterization of microsatellite markers (SSR) in Cuburbita species. Cucurbit Genet Coop. 27: 61- 65.

✓ Taramino, G., R. Tarchini., and S. Ferrario. 1997. Characterization and mapping of simple sequence repeats (SSR) in *sorghum bicolor*. Theoretical and Applied Genetics. 95: 66- 72.

✓ Temnykh, S., G. Declerck. and A. Lukashova. 2001. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential. Genome Research. 11: 1441- 1452.

✓ Tikhanov, A.P., P.J. SanMiguel., Y. Nakajima., N.M. Gorenstein., J.F. Bennetzen. and Z. Avramova. 1999. Co-linearity and its exception in orthologous and regions of the maize and sorghum. Proceedings of the National Academic Science. 96: 7409- 7414.

✓ Van Deynze, A.E., M.E. Sorrella., W.D. Park., N.M. Ayres., H, Fu., S.W. Cartinhour., E. Paul. and SR. McCouch. 1998. Anchor probes for comparative mapping of grass genera. Theoretical and Applied Genetics. 97: 356- 369.

✓ Zhao, X. and G. Kochert. 1993. Phylpgenetic distribution and genetic mapping of a (GGC) microsatellite from rice (*Oryza sativa* L.). Plant Molcular and Biology. 21: 607- 614.