"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و چهارم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱

مقاله پژوهشی

DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1

ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

Assessment of genetic diversity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes using microsatellite markers

ابراهیم سوری لکی [۱]، بابک ربیعی [۲]، وحید جوکارفرد [۳] و سیدحسن مرعشی [۴]

چکیده

سوری لکی، ا.، ب. ربیعی، و. جوکارفرد و س.ح. مرعشی. ۱۴۰۱. ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۴ (۴): ۳۸۹ -۳۷۵.**

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی جهت استفاده در تحقیقات بعدی، در این پژوهش تنوع ژنتیکی ۶۰ ژنوتیپ کینوا وارداتی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره در سال ۱۴۰۰ در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ارزیابی‌های فنوتیپی ژنوتیپ‌های کینوا نشان داد که تنوع نسبتا بالایی در بین آن‌ها وجود داشت که در بین صفات مورد بررسی به‌ترتیب صفات عملکرد دانه در بوته (۴۲/۸) و تعداد روز تا خمیری شدن دانه (۸/۱۴) بیشترین و کمترین مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی را داشتند. ارزیابی تنوع مولکولی ژنوتیپ‌ها با استفاده از ۴۰ جفت نشانگر ریزماهواره، تعداد ۱۳۶ باند چندشکل تولید کرد و میانگین تعداد آلل‌های موثر (۱/۸۱)، محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۶۰)، شاخص شانون (۰/۵۴) و تنوع ژنی نی (۰/۴۴)، وجود تنوع بالا در بین ژنوتیپ‌های کینوا را مورد تأیید قرار داد. نشانگرهای KAAT027، KAAT036، KAAT040، KCAA014، KGA042، KGA055 و KGA059 با پنج آلل چندشکل، بیش‌ترین تعداد آلل چندشکل را در بین نشانگرهای مورد استفاده داشتند. میانگین تعداد آلل‌های مؤثر نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های کینوا ۱/۸۱ آلل بود و نشانگرهای KAAT027 و KAAT006 با ۳/۷۵ و ۱/۰۸ آلل، به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد آلل موثر را نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش UPGMA، ۶۰ ژنوتیپ کینوا را در دو زیرجمعیت با ۳۸ و ۲۲ ژنوتیپ گروه‌بندی کرد. با توجه به اینکه یکی از معیارهای مهم در انتخاب نشانگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل مؤثر است، بنابراین می‌توان از نشانگرهای با تعداد آلل مؤثر بیش‌تر شامل KAAT027، KAAT036 و KAAT040 (هر سه با بیش از سه آلل موثر)، برای بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های کینوا در پژوهش‌های آتی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، ساختار جمعیت، کینوا، محتوای اطلاعات چندشکل و نشانگر ریزماهواره

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۶ این مقاله مستخرج از رساله دکتری نگارنده اول و طرح پژوهشی نگارنده دوم با شماره ۱۶۳۵۲۳۷۱۵۴ مصوب دانشگاه گیلان می‌باشد

۱- دانش آموخته دکتری، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استاد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران (مکاتبه‌کننده) (پست الکترونیک: rabiei@guilan.ac.ir)
۳- دانشجوی دکتری دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۴- استاد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

مقدمه

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd)، از جمله گیاهان نوپا، یکساله و دولپه‌ای با حدود ۹۳ درصد خودگشنی است که منشأ آن کوه‌های آند در کرانه غربی آمریکای لاتین می‌باشد (Jacobsen *et al.*, 2005) کینوا گیاهی تتراپلوئید (2n=4x=36) با تعداد کروموزوم پایه X=۹ است. این گیاه دارای خویشاوندان متعددی با تعداد کروموزوم‌های 2n=54، 2n=36 و 2n=18 است که نشان‌دهنده منشاء تتراپلوئیدی ظاهری آن است (Maughan *et al.*, 2004). با توجه به خودگشن بودن کینوا، اغلب گونه‌های بومی و ارقام زراعی آن به صورت لاین‌های خالص هستند. گستره‌ای از تنوع ژنتیکی در دسترس کینوا از منابع ژنی بالقوه موجود، سایر گونه‌های جنس کنوپودیوم و از ارقام کشت شده و غیرکشت شده به‌دست آمده است (Bonifacio,1995).

حفظ تنوع زیستی یکی از نگرانی‌های کلیدی جامعه جهانی بوده و افزایش میزان انقراض گونه‌های گیاهی و جانوری برای جوامع بشری بسیار مهم و هشداردهنده محسوب می‌شود. بر این اساس وجود تنوع لازمه به‌نژادی گیاهی است و جهت پیشبرد اهداف به‌نژادی، شناسایی تنوع موجود در جوامع گیاهی ضروری است. تنوع موجود در یک ژنوتیپ می‌تواند به انتخاب ارقام برتر و استفاده در جهت بهبود خصوصیات ارقام زراعی کمک کند (Arzani, 2010). بهبود گیاهان زراعی به میزان قابل توجهی به وسعت تنوع‌پذیری ژنتیکی قابل دسترس در درون گونه وابسته بوده و تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های گیاهی، یکی از الزامات اساسی در بهبود صفات آن‌ها محسوب می‌شود (Caliskan, 2012). تحلیل روابط ژنتیکی در گونه‌های زراعی یکی از اجزای مهم برنامه‌های به‌نژادی است و اطلاعاتی را در مورد تنوع ژنتیکی فراهم می‌کند (Prasana, 2003). هدف اصلی از به‌نژادی در کینوا، تولید ارقام پرمحصول با محتوای پروتئین بالا و ساپونین پایین است (Bhargava *et al.*, 2007). به‌علاوه، سهولت در برداشت مکانیکی محصول، عدم انشعاب ساقه، ارتفاع بوته کم و زودرسی در به‌نژادی کینوا مورد نظر هستند (Repo-Carrasco *et al.*, 2003). این کار به‌دلیل ماهیت خودگرده‌افشانی کینوا امکان‌پذیر نیست، زیرا گل‌های آن بسیار کوچک هستند و به همین دلیل نر عقیمی و دورگ گیری بسیار زمان‌بر، دشوار و پرهزینه است. از این‌رو استفاده از نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزارهای دقیق برای مطالعه تنوع ژنتیکی کینوا مبتنی بر تجزیه و تحلیل تفاوت‌ها در سطح DNA، مورد توجه هستند (Solano *et al.*, 1998).

سیفتی و همکاران (Sifati *et al.*, 2015) در یک آزمایش برخی صفات مورفوفنولوژیک مرتبط با عملکرد و زودرسی را در پنج ژنوتیپ کینوا در گرگان مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که شش صفت از ۱۲ صفت اندازه‌گیری شده دارای تفاوت معنی‌داری بودند. براساس نتایج تجزیه همبستگی، بالاترین میزان همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تعداد روز تا ظهور گل‌آذین و روز تا رنگی‌شدن گل‌آذین وجود داشت. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، وزن هزار دانه و روز تا شیری شدن دانه‌ها، مهم‌ترین صفات برای اصلاح ژنوتیپ‌های زودرس و پرمحصول کینوا شناخته شدند.

ماسون و همکاران (Mason *et al.*, 2005) در یک آزمایش روی کینوا از نشانگرهای ریزماهواره جهت توالی‌یابی ۱۲۷۶ مکان ژنی که در کتابخانه ژنومی با تکرار CA، AAT و ATG شناسایی شده بودند، استفاده کرده و ضمن شناسایی ۳۹۷ مکان ژنی دریافتند که ۵۲ درصد از نشانگرها از چندشکلی بالایی برخوردار بودند. جارویس و همکاران (Jarvis *et al.*, 2008) جهت توسعه نشانگرهای ریزماهواره و تهیه نقشه لینکاژی در کینوا از ۲۱۶ نشانگر ریزماهواره استفاده کردند. ارزش هتروزیگوسیتی این نشانگرها به‌طور متوسط ۰/۵۷ محاسبه شد. در این تحقیق برای اولین بار در یک جمعیت خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) کینوا، نقشه ژنتیکی مربوطه به ۲۱۶ نشانگر ریزماهواره تهیه شد، این

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

نقشه شامل ۳۸ گروه لینکاژی به‌طول ۹۱۳ سانتی‌مورگان بود.

فوئنتس و بارگاوا (Fuentes and Bhargava, 2011) با استفاده از ۱۱۸ نشانگر ریزماهواره تنوع ژنتیکی موجود در ۳۴ ژنوتیپ کینوا کاشته شده در امریکا جنوبی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که میانگین تعداد آلل‌های موجود در هر جایگاه ژنی ۵/۹ و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده توسط این نشانگرها ۶۰ درصد بود. این نتایج نشان دهنده قابلیت چندشکلی بالای نشانگرهای استفاده شده بود. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2014) جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ برنج، ۱۶۳ نشانگر ریزماهواره را طراحی کردند و از بین آن‌ها ۳۲ نشانگر به‌صورت تصادفی انتخاب شدند که ۲۳ نشانگر قابلیت تکثیر و چندشکلی بالایی داشتند. براساس تجزیه و تحلیل داده‌های ۳۲ نشانگر انتخاب شده، ژنوتیپ‌های کینوا به دو گروه تقسیم شدند که از نظر رنگ و شکل دانه باهم ارتباط داشتند. رومرو و همکاران (Romero *et al.*, 2019) تنوع ژنتیکی ۲۶ ژنوتیپ کینوا را با استفاده از نه جفت نشانگر ریزماهواره ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که نشانگرهای استفاده شده در مجموع ۶۷ آلل را شناسایی کردند. تعداد آلل‌های موثر (۵/۳۶)، میانگین هتروزیگوسیتی (۰/۸۰) و محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۸۱ گزارش شد. ژنوتیپ‌های کینوا با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و روش UPGMA به پنج گروه با ضریب تشابه ۰/۷۷ تفکیک شدند.

با توجه به اهمیت ارزیابی‌های تنوع ژنتیکی و با توجه به جدید بودن گیاه کینوا و امکان توسعه کشت آن در کشور، مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های وارادتی برای تولید ارقام جدید پرمحصول، یکنواخت و بازارپسند ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف این پژوهش، بررسی میزان تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های کینوا و شناسایی نشانگرهای موثر و کاربردی جهت استفاده در مطالعات به‌نژادی بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد ارزیابی در این تحقیق شامل ۶۰ ژنوتیپ کینوا (جدول ۱) بودند که بذرهای آنها از موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی و گیاهان زراعی (IPK) آلمان دریافت شدند. بذرهای ژنوتیپ‌های کینوا در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۳۰/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر با ترکیبی از خاک و شن به نسبت ۳ به ۱ در گلخانه موسسه تحقیقات برنج کشور در سال ۱۴۰۰ کاشته شدند. میانگین دمای گلخانه ۲۲ درجه سانتی‌گراد و مدت روشنایی هشت ساعت بود. آبیاری به‌صورت دو بار در هفته انجام شد. صفات گیاهی اندازه‌گیری شده شامل تعداد روز تا سه برگی شدن، تعداد روز تا تشکیل گل‌آذین، تعداد روز تا رنگی شدن گل‌آذین، تعداد روز تا گرده افشانی، تعداد روز تا خمیری شدن دانه، تعداد روز تا شیری شدن دانه، ارتفاع بوته، طول خوشه، تعداد خوشه در بوته، وزن هزاردانه و عملکرد دانه بودند.

در این آزمایش از ۴۰ جفت نشانگر ریزماهواره شناسایی شده در آزمایش‌های پیشین استفاده شد (Mason et al., 2005; Jarvis et al., 2008) (جدول ۲). معیار انتخاب نشانگرها، توزیع مناسب روی کروموزوم و کارایی بالای آنها در ظهور چندشکلی بود تا در تمایز ژنوتیپ‌ها به نحو مؤثری عمل کنند. نمونه‌برداری از بافت برگ‌های جوان در مرحله ۴-۳ برگی انجام و استخراج دی ان آی ژنومی به روش دویل (Doyle, 1991) با اندکی تغییرات انجام شد. کیفیت دی ان آی استخراج شده با استفاده از الکتروفورز افقی روی ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. کمیت دی ان آی استخراج شده (نانوگرم بر میکرولیتر) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ (Thermo, ND-2000, USA) تعیین و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (MJ Mini Thermal Cycler, BIO-RAD, USA) به‌صورت کاهش دما (Touch down) انجام شد. واکنش

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

PCR (حجم ۱۰ میکرولیتر) حاوی آنزیم تک دی ان آ پلی‌مراز (غلظت ۰/۴ واحد)، بافرPCR (غلظت ۱۰ برابر)، کلرید منیزیوم (غلظت ۵۰ میلی‌مولار)، dNTPs (غلظت ۱۰ میلی‌مولار)، (آغازگرهای مستقیم و معکوس) (غلظت ۰/۵ میکرومولار)، آب دیونیزه استریل و دو میکرولیتر دی ان آ (غلظت ۵۰ نانوگرم) بود. الکتروفورز محصولات تکثیر شده روی ژل آگارز سه درصد انجام و برای نمونه‌هایی که چندشکلی واضحی نداشتند از الکتروفورز عمودی و ژل پلی‌آکریل‌آمید شش درصد استفاده شد. برای رنگ‌آمیزی ژل‌های آکریل‌آمید از نیترات نقره و تابش ماورای بنفش UV و دستگاه ژل داک استفاده شد.

جهت تجزیه داده‌های فنوتیپی، آماره‌های توصیفی شامل میانگین، دامنه تغییرات، واریانس فنوتیپی، واریانس ژنوتیپی، واریانس محیطی، وراثت پذیری عمومی و ضریب تغییرات فنوتیپی ـ ژنوتیپی برای هر یک از صفات اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار Minitab ver.16 استفاده شد. جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی و ارزیابی کارایی آغازگرهای مورد استفاده، نوارهای ایجاد شده براساس مکان‌های تکثیر شده جهت تشخیص هموزیگوسیتی (خالصی) و هتروزیگوسیتی (ناخالصی) نمره‌دهی شدند. به‌ازای هر عدد یک، ۱۰۰:۱۰۰ و به‌ازای هر عدد دو، ۲۰۰:۲۰۰، و به‌ازای هر فرد هتروزیگوت ۱۰۰:۲۰۰ داده شده و ماتریس داده‌ها تشکیل شد و سپس تعداد مکان‌های چند شکل، تنوع ژنی نی، شاخص تنوع شانون، محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) و تعداد آلل‌های مشاهده شده و مؤثر محاسبه شدند. جهت محاسبه شاخص‌های یاد شده از نرم‌افزارهای Popgene و Excel استفاده شد. برای رسم دندروگرام ابتدا ماتریس تشابه با استفاده از روش جاکارد تشکیل و سپس دندروگرام با استفاده از روش UPGMA با نرم‌افزار NTSYSpc 2.0 رسم شد.

برای تجزیه ساختار جمعیت، ابتدا با استفاده از مدل بیزین و با استفاده از نرم‌افزار Structure (Pritchard *et al.*, 2000)، تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی در ژنوتیپ‌های کینوا (K) تخمین زده شد. جهت مطابقت دادن نتایج با یکدیگر و اطمینان از برآورد صحیح پارامترها، هفت تکرار مستقل برای هر یک از زیرجمعیت‌ها لحاظ شد. در این آزمایش مقدار اولیه K یک تا ۱۰ در نظر گرفته شد. برای تعیین بهترین تعداد زیرجمعیت از روش ایوانو و همکاران (Evanno *et al.*, 2005) استفاده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر نشانگر با استفاده از رابطه یک محاسبه شد (Powell *et al.*, 1996).

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^{n} p_{ij}^2 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

Pi: فراوانی آلل یا نوار iام و n: تعداد آلل‌ها هستند.

تعداد آلل موثر، شاخص اطلاعات شانون و تنوع ژنی نی با استفاده از نرم‌افزار POPGEN نسخه ۱/۳۲ (Yeh and Boyle, 1997) به‌ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۲ تا ۴ محاسبه شدند (Shannon and Weaver, 1949; Nei and Li, 1979). در رابطه تعداد آلل‌های موثر، p_i: فراوانی آلل iام در یک جایگاه، در رابطه شانون، p_i: فراوانی ژنوتیپ iام و k: تعداد کل ژنوتیپ‌های مشاهده شده هستند.

$$Ne = 1/(\sum pi)^2 \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

$$I = -\sum_{i}^{k} p_i \, In \, p_i \qquad \text{(رابطه ۳)}$$

$$Nei = \sum_{k=1}^{r} H_k \Big/ r \, 1 \qquad \text{(رابطه ۴)}$$

نتایج و بحث

نتایج آماره‌های توصیفی یک دیدکلی از محدوده صفات را فراهم کرده و تفاوت و تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهند. برای بررسی اولیه و داشتن یک دید کلی از سطح تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌ها می‌توان از دامنه و محدوده تغییرات (حداقل و حداکثر) استفاده کرد. هرچند که دامنه تغییرات تحت تأثیر واحد صفات است، اما می‌توان تا حدودی از این شاخص

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های کینوای مورد آزمایش

Table 1. Characteristics of the studied quinoa genotypes

ردیف No.	ژنوتیپ‌های کینوا Quinoa genotypes	شناسه Code	منشا Origin	رنگ بذر Seed color	ردیف No.	ژنوتیپ‌های کینوا Quinoa genotypes	شناسه Code	منشا Origin	رنگ بذر Seed color
1	CHEN67	D2190	Peru	Brown	31	CHEN196	D9407	Chile	Yellow
2	CHEN68	D2191	Peru	Golden-brown	32	CHEN199	D9409	Peru	Bright-white
3	CHEN71	D2196	Chile	Light brown	33	CHEN202	D9413	Peru	White
4	CHEN83	D2194	Bolivia	Bright-white	34	CHEN203	D9414	Chile	White
5	CHEN84	D2195	Bolivia	White	35	CHEN204	D9415	Chile	Golden
6	CHEN89	D5078	Bolivia	Bright	36	CHEN205	D9416	Chile	White
7	CHEN90	D5079	Chile	White	37	CHEN206	D9417	Chile	Golden
8	CHEN91	D5081	Bolivia	Golden	38	CHEN207	D9418	Chile	Bright
9	CHEN115	D9316	Bolivia	White	39	CHEN209	D9420	Chile	Bright-white
10	CHEN119	D9319	Bolivia	Whitish-yellow	40	CHEN210	D9421	Chile	White
11	CHEN121	D9336	Chile	Yellow	41	CHEN212	D9426	Chile	Golden
12	CHEN123	D9428	Peru	White	42	CHEN214	D9429	Peru	White
13	CHEN126	D9339	Peru	Bright	43	CHEN215	D9730	Peru	Bright
14	CHEN128	D9320	Chile	Whitish-yellow	44	CHEN216	D9431	Peru	White
15	CHEN133	D9361	Bolivia	Yellow	45	CHEN217	D9432	Chile	Bright
16	CHEN146	D9374	Bolivia	Bright-white	46	CHEN218	D9434	Chile	Whitish-yellow
17	CHEN151	D9382	Chile	White	47	CHEN220	D9439	Peru	Yellow
18	CHEN154	D9385	Peru	White	48	CHEN223	D9442	Chile	Bright-white
19	CHEN156	D9390	Chile	Golden	49	CHEN225	D9443	Peru	White
20	CHEN159	D9376	Bolivia	Brown	50	CHEN255	D9502	Chile	White
21	CHEN167	D9346	Chile	Yellow	51	CHEN268	D9548	Chile	Bright-white
22	CHEN171	D9350	Chile	Bright-white	52	CHEN270	D9558	Chile	Yellow
23	CHEN172	D9351	Peru	White	53	CHEN297	D9786	Chile	Bright-white
24	CHEN179	D9358	Chile	White	54	CHEN299	D9788	Chile	White
25	CHEN182	D9392	Peru	White	55	CHEN328	D9803	Peru	White
26	CHEN189	D9400	Peru	White	56	CHEN364	D9855	Chile	Whitish-yellow
27	CHEN191	D9402	Chile	Bright	57	CHEN371	D9862	Chile	Yellow
28	CHEN193	D9404	Chile	White	58	CHEN390	D9878	Peru	Bright-white
29	CHEN194	D9405	Chile	Bright	59	CHEN391	D9879	Chile	White
30	CHEN195	D9406	Peru	Whitish-yellow	60	CHEN392	D9880	Peru	White

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

جدول۲- نام و مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Names and characteristics of primers used in the experiment

ردیف No.	نشانگر Marker	توالی ابتدایی Forward sequence	توالی انتهایی Reverse sequence
1	KAAT001	tggctatatcatatgcgtaatgtg	gggctcagattgtatctcgac
2	KAAT006	tctgcaggatcggtaacctt	ttgtatctcggcttcccact
3	KAAT007	aggtacaggcgcaaggatac	cggtagcatagcacagaacg
4	KAAT023	agattgtatctcggctttcca	cacttcattgtattgcatttagga
5	KAAT024	cctaatgccacggtttccta	ccgctgaatagacacccagt
6	KAAT025	gagtgggagcccagattgta	agcaaagtaaatttcaacaaagca
7	KAAT026	cggagtcagatggttctggt	tcaagtgcagctcaatcacc
8	KAAT027	tttaaactttattgacccttggaaa	ggatgctattgcattgctga
9	KAAT030	tcaaatatgtgtggaccactctaag	ccaatttcttgtaaattgattgactt
10	KAAT031	agagaccaatgccggataga	gttcgctatagctagaggagtgg
11	KAAT033	tgccaactgacgagacaaag	gcgggagctcatatcttcac
12	KAAT036	ggcagcgatcgtgaaata	gggacccaaattgtatctcg
13	KAAT040	gcatgagtggtaatggagga	cttgaaggagcagtattattcac
14	KAAT047	tctcggttccctactaatttcttg	tttatgcagcaagggttgtaaa
15	KAAT050	tcatgcctaggatcttgcttt	tcgtatacggactaaattgtccac
16	KCAA006	ttgagcaggatgatgtggag	ttggagaaacataccttgttgg
17	KCAA014	gaatttgcatgcccttcatt	ccgccctcgctactatgat
18	KCAA015	tggttggaggcaaacatacc	tgagggtgaagaggaggatg
19	KCAA019	gtagttgggcggatgtgtct	gcgactgagctagcaggttt
20	KCAA022	ccaattgcatgctcctcatt	aatgcaaacatgggaggaga
21	KCAA106	atatggaagtcggccaacag	gcatgctcatcatttgttgc
22	KCAA107	caccagaaccctcgatctaca	tggttactgttgttgttgttaatttg
23	KGA002	aaagaacgcatccttccaat	aacctagccaacactccctaaa
24	KGA003	attgccgacaatgaacgaat	atgtaaatggcatgtcccaac
25	KGA006	aaacaaattctatcattcggttagg	gccaacgagcctgatgtaa
26	KGA041	tttggtgcaaatgttgttca	ttccaagaccaaaccctctc
27	KGA042	ttggtagtgggtaagagaacctg	ctccctccagccacataatc
28	KGA047	gcagtgcatgaatttggaca	gaagctggcaccttatacatgc
29	KGA048	acgtcgaggatggctaggt	ccaacaatcatcatcaataccc
30	KGA053	aaatttctgcctctgtgcaa	ctcaaacttctgcctcctga
31	KGA054	tgttgattgataatatgtaatggtgga	cattcataacagcgagagatgg
32	KGA055	cccaacccaccaaacttaca	gaaaggaaagtgattgcaaagaa
33	KGA056	gactaacggtgtccaaactgc	ccttctgcattacaccgtca
34	KGA059	ataaccactccgatggcaaa	cagccacctggcagttaga
35	KGA109	accttgaaccacaccgaaac	tcgctgctcatcaccatatt
36	KGA111	aatggtaaacagaccagactagca	tgggttcatttagtagaatcaagg
37	KGA114	tgttgagtgcgctttaatgg	aataggtgtagccgcgtagg
38	KGA116	ccttccttctctacgctctcc	tgggacccaaatctttcatag
39	KGA117	gctttgtagacacctgtcatgg	ccactccgatgataaagttagaatg
40	KGA118	gctgtgtttgacccatgttg	caaccacagcaaaggtgtga

نشانگرهای مورد استفاده از شرکت Cinagen ایران تهیه شدند

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

برای مقایسه اولیه بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی استفاده کرد. نتایج نشان داد که صفات ارتفاع بوته و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک به‌ترتیب با ۱۰۴ سانتی‌متر و ۶۷/۳ روز بالاترین و صفات وزن هزار دانه و روز تا سه برگی به‌ترتیب با ۲/۵۵ گرم و ۳/۶ درصد کم‌ترین دامنه تغییرات را داشتند. بررسی ضریب تغییرات صفات نیز نشان داد که صفات عملکرد دانه در بوته و تعداد خوشه در بوته به‌ترتیب با ۴۱/۲ و ۳۵/۴ درصد دارای بیش‌ترین و روز تا سه برگی و روز تا خمیری شدن دانه به‌ترتیب با ۶/۶ و ۷/۲ درصد دارای کم‌ترین ضریب تغییرات ژنوتیپی بودند. بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی نیز به‌ترتیب در صفات عملکرد دانه در بوته (۴۲/۸ گرم در بوته) و روز تا خمیری شدن دانه (۸/۱ روز) مشاهده شد. لازم به توضیح است که ضریب تغییرات به‌دلیل این‌که یک شاخص آماری استاندارد بوده و واحد اندازه‌گیری ندارد، شاخص معتبرتری نسبت به سایر شاخص‌های تنوع از جمله دامنه تغییرات بوده و طبیعتاً از دقت و اهمیّت بیش‌تری برخوردار است. نتایج نشان داد که وراثت‌پذیری اکثر صفات در ژنوتیپ‌های کینوا بالا بود و در این میان صفات وزن هزار دانه و روز تا رسیدگی فیزیولوژیک به‌ترتیب با ۹۹/۴ و ۴۷/۲ درصد دارای بیشترین و کمترین وراثت‌پذیری عمومی بودند.

نتایج نشان داد که اگرچه در کل ضرایب تغییرات فنوتیپی بزرگ‌تر از تغییرات ژنوتیپی هستند، لیکن برای بیش‌تر صفات تفاوت زیادی بین ضرایب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی مشاهده نشد که این موضوع نشان‌دهنده توجیه بخش کمی از تغییرات صفات مطالعه شده توسط محیط و به‌عبارتی عدم تأثیرپذیری شدید این صفات از تغییرات محیطی می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که انتخاب ژنوتیپ‌های کینوا براساس این صفات و از نظر فنوتیپی می‌تواند معیار مناسبی برای گزینش باشد. بارگاوا و همکاران (Bhargava, *et al.*, 2007) نیز این موضوع را گزارش کرده‌اند. براساس نتایج حاصله (جدول ۳) می‌توان اظهار کرد که ژنوتیپ‌های کینوای مورد ارزیابی از نظر صفات بررسی شده از تنوع بالایی برخوردار بوده و قابلیت استفاده در پژوهش‌های به‌نژادی از طریق انتخاب را دارا هستند.

نتایج ارزیابی تنوع ژنتیکی نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره استفاده شده برای ژنوتیپ‌های کینوا دارای الگوهای نواری واضح با کیفیت تفکیک بالا و چندشکلی مناسب بودند (جدول ۴). یک نمونه از الگوی نواری تشکیل شده مربوط به نشانگر KGA042 در شکل ۱ ارائه شده است.

نتایج نشان داد که در مجموع ۱۴۰ آلل توسط نشانگرهای استفاده شده تکثیر شدند که از این تعداد، ۱۳۶ آلل (۹۷/۱۴ درصد) چندشکل بودند. نشانگرهای KAAT027، KAAT036، KAAT040، KCAA014، KGA042، KGA055 و KGA059 نیز با پنج آلل، بیش ترین تعداد آلل چندشکل را داشتند (جدول ۴). میانگین تعداد آلل‌های مؤثر نشانگرهای ریز ماهواره در ژنوتیپ‌های کینوا ۱/۸۱ آلل بود که از ۱/۰۸ (نشانگر KAAT006) تا ۳/۷۵ (نشانگر KAAT027) آلل متغیر بود (جدول ۴). با توجه به اینکه یکی از معیارهای مهم در انتخاب نشانگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل‌های مؤثر است (Zhu *et al.*, 1998)، می‌توان از نشانگرهای با تعداد آلل مؤثر بیش‌تر مانند KAAT027، KAAT036 و KAAT040 (هر سه با بیش از سه آلل موثر) برای بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های کینوا در پژوهش‌های آتی استفاده کرد.

نتایج حاصل از بررسی محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) نیز نشان داد که نشانگرهای استفاده شده دارای PIC متغیر از ۰/۲۳ (نشانگر KAAT007) تا ۰/۸۹ (نشانگر KAAT023) با میانگین ۰/۶۰ بودند (جدول ۴). در مجموع مقدار PIC برای اکثر نشانگرها مقدار مناسبی بود که این موضوع نشان دهنده انتخاب درست و کارایی بالای نشانگرهای انتخاب شده در این آزمایش

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

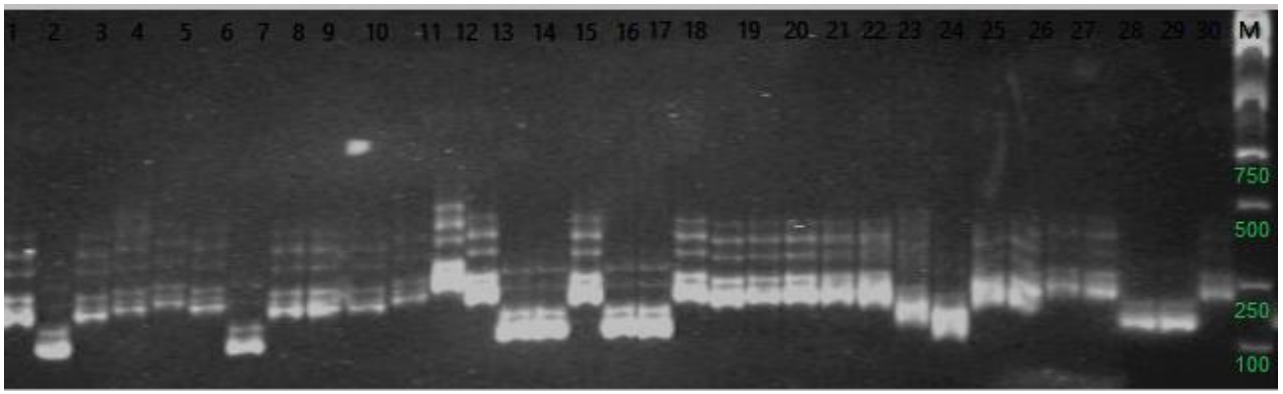
جدول ۳- آمار توصیفی مربوط به صفات گیاهی ژنوتیپ‌های کینوا

Table 3. Descriptive statistics related to plant traits of quinoa genotypes

صفات گیاهی[a] Traits[a]	میانگین Mean	دامنه تغییرات Range	واریانس فنوتیپی Phenotypic variance	واریانس ژنوتیپی Genotypic variance	واریانس محیطی Environmental variance	ضریب تغییرات فنوتیپی Phenotypic variation coefficient	ضریب تغییرات ژنتیکی Genotypic variation coefficient	وراثت‌پذیری عمومی Broad sense heritability
DPM (day)	125.21	67.33	197.37	93.22	312.46	11.22	7.71	47.23
DL (day)	11.32	3.67	0.96	0.56	1.21	8.67	6.63	58.34
DC (day)	60.06	32.00	42.71	37.73	14.94	10.88	10.23	88.34
DI (day)	51.55	34.00	46.51	40.18	18.99	13.23	12.30	86.39
DP (day)	69.88	34.33	60.29	51.34	26.85	11.11	10.25	85.16
NPP	24.67	32.67	80.44	76.29	12.46	36.36	35.41	94.84
DD (day)	104.79	29.67	72.81	57.35	46.38	8.14	7.23	78.76
DM (day)	95.67	30.67	82.23	68.42	41.42	9.48	8.65	83.21
PH (cm)	76.21	104.33	535.62	513.19	67.29	30.37	29.73	95.81
PL (cm)	21.58	9.00	5.92	5.54	1.14	11.27	10.90	93.57
TSW (g)	2.54	2.55	0.63	0.62	0.01	31.17	31.09	99.46
SY (g.plant^{-1})	33.46	54.52	205.45	190.23	45.65	42.84	41.22	92.59

DPM، DL، DC، DI، DP، NPP، DD، DM، PH، PL، TSW و SY: به‌ترتیب روز تا رسیدگی فیزیولوژیک، روز تا سه برگی شدن، روز تا رنگی شدن گل‌آذین، روز تا تشکیل گل‌آذین، روز تا گرده‌افشانی، تعداد خوشه در بوته، روز تا خمیری شدن دانه، روز تا شیری شدن دانه، ارتفاع بوته، طول خوشه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه

DPM, DL, DC, DI, DP, NPP, DD, DM, PH, PL, TSW and SY: Days to physiological maturity, Days to 3 leaves stage, Days to inflorescence coloring, Days to inflorescence formation, Days to pollination, Number of panicles per plant, Days to dough stage, Days to milk stage, Plant height, Panicle length, 1000-Seed weight and Seed yield, respectively



شکل ۱- الگوی نواری مربوط به نشانگر ریزماهواره KGA042 در ژنوتیپ‌های کینوا

Fig. 1. The band pattern of KGA042 microsatellite marker in quinoa genotypes

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

می‌باشد. شاخص اطلاعات شانون با متوسط ۰/۵۴ دارای تنوع نسبتاً بالایی در نشانگرهای استفاده شده بود و دامنه‌ای از حداقل ۰/۱۵ (نشانگر KAAT007) تا ۰/۸۲ (نشانگر KAAT027) داشت. میانگین شاخص تنوع ژنی نی در جمعیت کینوا ۰/۴۴ بود و نشانگرهای KAAT027 و KAAT007 به‌ترتیب با ۰/۸۰ و ۰/۰۹ بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار شاخص تنوع ژنی نی را داشتند.

مقادیر بالای محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) و پلی‌مورفیسم در سایر منابع نیز گزارش شده است. مگان و همکاران (Maughan *et al.*, 2007). از نشانگرهای ریزماهواره برای ارزیابی ژرم‌پلاسم کینوا استفاده کردند که در مجموع ۱۲۷۶ مکان ژنی در کتابخانه ژنومی با تکرارهای ATG, ATT, CA توالی‌یابی شدند و برای ۳۹۷ مکان ژنی، نشانگر ریزماهواره طراحی شد. در هر مکان ژنی بین ۲ تا ۱۳ آلل مشاهده شد، یعنی به‌طور متوسط در هر مکان ژنی چهار آلل وجود داشت و میزان هتروزیگوسیتی نشانگرها به‌طور متوسط ۵۷ درصد بود. جارویس و همکاران (Jarvis *et al.*, 2008) از ۲۱۶ نشانگر ریزماهواره برای تهیه نقشه لینکاژی در ژنوتیپ‌های کینوا استفاده کردند. ارزش هتروزیگوسیتی این نشانگرها به‌طور متوسط ۰/۵۷ محاسبه شد. در این پژوهش برای اولین بار در یک جمعیت از لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs) کینوا، نقشه ژنتیکی مربوطه به ۲۱۶ نشانگر ریزماهواره تهیه شد، این نقشه شامل ۳۸ گروه لینکاژی به طول ۹۱۳ سانتی‌مورگان بود. تفاوت نتایج پژوهش حاضر با نتایج سایر محققان را می‌توان به عواملی مانند تنوع در نمونه‌ها، روش آشکارسازی و اندازه نمونه‌ها نسبت داد.

براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، برش دندروگرام بر اساس تغییر زیاد در فاصله ادغام گروه‌ها از ناحیه ۲۶ واحد انجام و بر این اساس دو گروه تشکیل شدند. گروه اول شامل ۲۲ ژنوتیپ با منشاء پرو و گروه دوم شامل ترکیبی از ۳۸ ژنوتیپ با منشاء شیلی و بولیوی بودند (شکل ۲).

سپهوند و همکاران (Sepahvand *et al.*, 2015) تنوع ژنتیکی ۴۵ مورفوتیپ کینوا را با استفاده از ۱۱ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای مورفوتیپ‌های کینوا به سه گروه تقسیم شدند که گروه اول و دوم مخلوطی از مورفوتیپ‌های دو توده Sajama و Santamaria و گروه سوم مربوط به مورفوتیپ توده Santamaria بوده و سایر مورفوتیپ‌های گروه سوم مشتق شده از توده Sajama بودند. در یک آزمایش سطح چندشکلی، روابط ژنتیکی و میزان تفاوت‌ها وتشابهات مولکولی ۲۰ ژنوتیپ کینوا با استفاده از ۲۰ صفت مورفولوژیک و نشانگرهای AFLP مورد ارزیابی قرار گرفت و مشاهده شد که نتایج حاصل از نشانگرهای AFLP با نتایج حاصل از صفات مورفولوژیک مانند رنگ دانه، رنگ خوشه، فنولوژی و توزیع جغرافیایی ژنوتیپ‌ها همبستگی بالایی داشتند. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های کینوا در سه گروه دسته‌بندی شدند که هر گروه متعلق به منطقه جغرافیایی خاصی بودند (Rodriguez and Isla., 2009).

در این پژوهش از روش گروه‌بندی پریچارد و همکاران (Pritchard *et al.*, 2000) که مبتنی بر آماره‌های بیزین برای داده‌های ژنوتیپی چند مکانی شامل نشانگرهای غیر پیوسته است، استفاده شد. از مزایای این روش می‌توان به تجزیه مؤثر ساختار جمعیت، گروه‌بندی دقیق و نسبت دادن افراد به جمعیت‌های مناسب آن‌ها و شناسایی افراد مهاجر و ترکیب شده اشاره کرد. با استفاده از این روش، نسبت ژنوم یک فرد در یک جمعیت خاص با ماتریس پس زمینه ژنتیکی یا ماتریس ساختار جمعیت (Q) قابل پیش‌بینی است. در مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت که برای توضیح روابط افراد در درون و بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود، چشم‌اندازی از روابط تکاملی افراد در یک جمعیت را ارائه می‌دهد. نتایج حاصل از این روش، تعداد زیر جمعیت‌ها (**K**) و میزان تغییرات آن‌ها

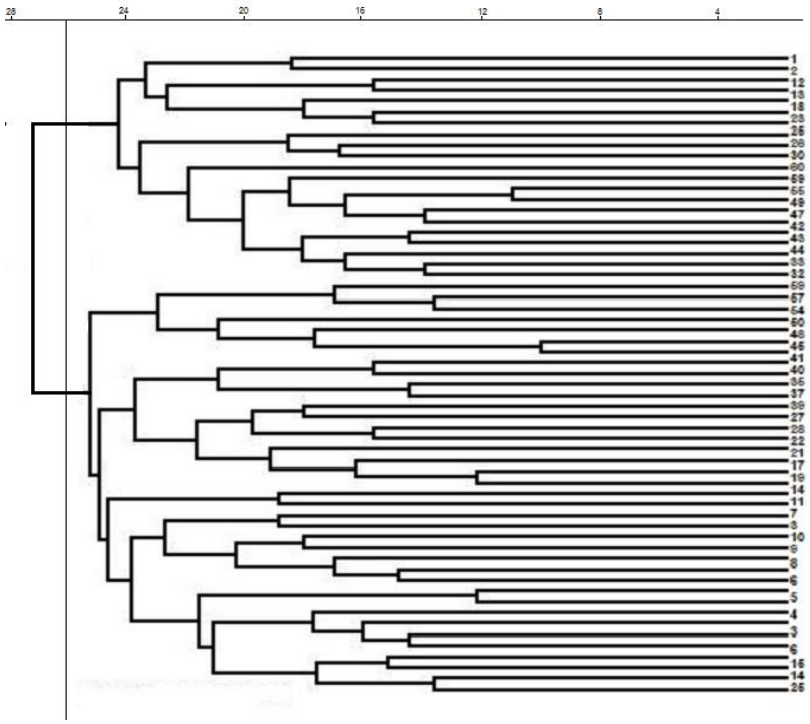
[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

جدول ۴- شاخص‌های تنوع نشانگرهای SSR برای صفات مرتبط با عملکرد و اجزای عملکرد در ژنوتیپ‌های کینوا

Table 4. Indices of diversity of SSR markers for yield-related traits and yield components in quinoa genotypes

ردیف No.	نشانگر Marker	تعداد آلل مشاهده شده Observed alleles	آلل‌های چندشکل Polymorphism alleles	آلل مؤثر Effective alleles	محتوای اطلاعات چندشکل Polymorphic information content (PIC)	شاخص شانون Shannon index	تنوع ژنی نی Nei's genetic diversity
1	KAAT001	4	4	2.16	0.56	0.58	0.45
2	KAAT006	2	2	1.08	0.32	0.21	0.14
3	KAAT007	2	2	1.15	0.23	0.15	0.09
4	KAAT023	3	3	2.33	0.89	0.74	0.7
5	KAAT024	3	3	1.62	0.76	0.63	0.58
6	KAAT025	3	3	2.12	0.72	0.69	0.65
7	KAAT026	4	4	2.35	0.46	0.35	0.29
8	KAAT027	5	5	2.37	0.85	0.82	0.8
9	KAAT030	2	2	1.11	0.81	0.65	0.59
10	KAAT031	3	3	1.59	0.76	0.61	0.57
11	KAAT033	2	2	1.13	0.73	0.65	0.6
12	KAAT036	5	5	3.72	0.85	0.78	0.75
13	KAAT040	5	4	3.13	0.77	0.63	0.59
14	KAAT047	4	4	2.33	0.43	0.35	0.29
15	KAAT050	2	2	1.13	0.79	0.69	0.62
16	KCAA006	2	2	1.18	0.85	0.74	0.68
17	KCAA014	5	5	2.64	0.88	0.79	0.74
18	KCAA015	2	2	1.24	0.83	0.67	0.63
19	KCAA019	2	2	1.12	0.79	0.69	0.65
20	KCAA022	3	3	1.38	0.59	0.46	0.32
21	KCAA106	4	4	1.61	0.78	0.38	0.35
22	KCAA107	3	3	1.73	0.58	0.54	0.46
23	KGA002	3	2	1.23	0.49	0.4	0.28
24	KGA003	4	4	1.51	0.56	0.43	0.37
25	KGA006	3	3	1.29	0.64	0.35	0.28
26	KGA041	4	4	2.16	0.62	0.55	0.46
27	KGA042	5	5	1.95	0.33	0.63	0.41
28	KGA047	4	4	1.32	0.48	0.37	0.27
29	KGA048	3	3	1.71	0.44	0.43	0.36
30	KGA053	4	4	1.81	0.59	0.59	0.51
31	KGA054	4	3	1.64	0.61	0.59	0.53
32	KGA055	5	5	2.35	0.68	0.71	0.55
33	KGA056	3	3	1.69	0.39	0.33	0.3
34	KGA059	5	5	1.61	0.51	0.57	0.42
35	KGA109	4	4	1.51	0.55	0.36	0.23
36	KGA111	3	2	1.33	0.44	0.47	0.37
37	KGA114	5	5	2.48	0.61	0.65	0.51
38	KGA116	3	3	1.57	0.46	0.48	0.38
39	KGA117	4	4	1.55	0.54	0.46	0.38
40	KGA118	4	4	1.39	0.39	0.44	0.35

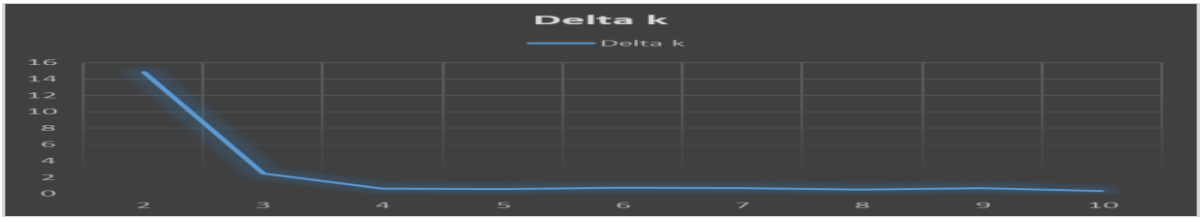
[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]



شکل۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای برای گروه بندی ۶۰ ژنوتیپ کینوا با استفاده از ۴۰ نشانگر ریزماهواره

Fig. 2. Dendrogram of cluster analysis for grouping 60 quinoa genotypes using 40 SSR markers

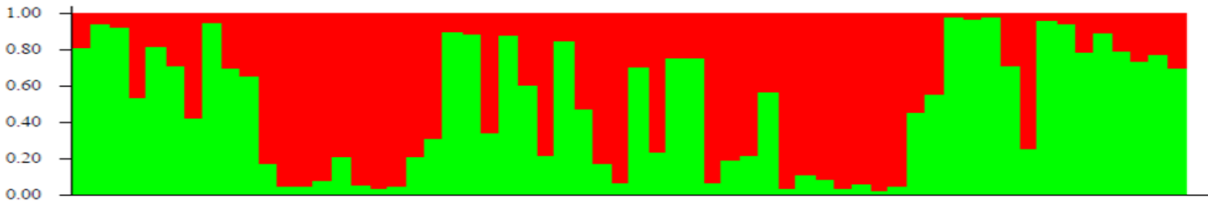
با استفاده از شبیه‌سازی‌های انجام شده در نرم افزار (ΔK) استخراج و نمودار دو طرفه آن در شکل ۳ ارائه شده است. بر این اساس، دو زیرجمعیت احتمالی (K=2) در ژنوتیپ‌های کینوا شناسایی شد که به‌عنوان K مطلوب در برآورد ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر خوشه (ماتریس Q) در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج بدست آمده، از ۶۰ ژنوتیپ کینوا، ۲۹ ژنوتیپ (۴۸ درصد) به ساختار اول، ۲۳ ژنوتیپ (۳۸ درصد) به ساختار دوم تعلق داشته و هشت ژنوتیپ (۱۳درصد) ساختار مخلوط داشتند (شکل ۴). ال هارتی و همکاران (El-Harty *et al.*, 2021) در ارزیابی ساختار ۳۲ ژنوتیپ کینوا، دو زیرجمعیت احتمالی (K=2) شناسایی کردند. که ۳۲ ژنوتیپ در دو خوشه اصلی و مخلوط به صورت؛ خوشه اول شامل ۱۳ ژنوتیپ (۴۱ درصد)، خوشه دوم شامل هشت ژنوتیپ (۲۵ درصد) بوده و ۱۱ ژنوتیپ (۳۴ درصد) ساختار مخلوط داشتند.



شکل ۳- نمودار دوسویه برای شناسایی تعداد مناسب زیرجمعیت در ژنوتیپ‌های کینوا (K=2) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

Fig. 3. Bilateral chart to determine the number of sub-populations in the quinoa genotypes (K=2) using microsatellite markers

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]



شکل۴- نتایج تجزیه ساختار جمعیت مبتنی بر مدل بیزین برای ۶۰ ژنوتیپ کینوا با استفاده از ۴۰ نشانگر ریزماهواره (K=2)
هر رنگ یک زیرجمعیت یا خوشه را نشان می‌دهد. محورعمودی ضریب تعلق هر فرد به هر خوشه را نشان می‌دهد

Fig. 4. Barplot of structure analysis of the 60 quinoa genotypes using 40 microsatellite markers based on Bayesian model

Each color indicate one supopulation or cluster (K=2). Vertical axis shows membership coefficient of each genotype to each cluster

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی قابل توجه و بالایی را در بین ژنوتیپ‌های کینوا نشان داد. نتایج حاصل از ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌های کینوا نیز تنوع نسبتا بالایی برای اکثر نشانگرهای مورد مطالعه نشان داد که نشان دهنده انتخاب مناسب و کارایی بالای نشانگرهای ریزماهواره انتخاب شده بود. بر این اساس می‌توان از این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان منابع ژنتیکی مناسب در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. به‌علاوه نشانگرهای KAAT023، KAAT027، KAAT036 و KAAT014 که بالاترین مقادیر را برای اکثر شاخص‌های تنوع داشتند، نشانگرهای مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در کینوا شناخته شدند. به نظر می‌رسد که این نوع نشانگرها دارای اطلاعات مفیدی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در کینوا و تمایز بین ژنوتیپ‌ها باشند. این نشانگرها در برنامه‌های تجزیه ارتباطی، نقشه‌یابی ژنتیکی و نقشه‌یابی QTL سودمند بوده و می‌توان از آنها به‌عنوان نشانگرهای پیوسته یا مرتبط با صفات مهم گیاهی کینوا استفاده کرد و از این جهت استفاده از آن‌ها در تحقیقات آتی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از اعتبار پژوهانه نگارنده دوم با شماره مصوب ۱۶۳۵۲۳۷۱۵۴ مورخ ۱۴۰۰/۸/۴ اجرا شده است. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه و همکاران محترم آزمایشگاه‌های مرکزی و ژنومیکس دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان سپاسگزاری می‌شود.

بخشی از مقاله مستخرج از رساله دکتری نگارنده اول و بخش دیگر مستخرج از طرح پژوهشی نگارنده دوم است.

منابع مورد استفاده

References

Arzani. A. 2010. Breeding Field Crops. Publication of Isfahan University of Technology. (In Persian).

Bhargava, A., S. Shukla and D. Ohri. 2007. Genetic variability and interrelationship among various morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.). Field Crops Res. 101(1): 104-116.

Bonifacio, A. 1995. Interspecific and intergeneric hybridization in Chenopod species. MSc Thesis. Brigham Young University. Provo. UT. USA.

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

Caliskan, M. 2012. Genetic Diversity in Plants. InTechOpen. ISBN-13: 978-953-51-0185-7.

Doyle, J. 1991. DNA protocols for plants. In Molecular Techniques in Taxonomy. Springer. Berlin. Heidelberg.

EL-Harty, E. H., A. Ghazy, T. K. Alateeq, S. A. Al-Faifi, M. A. Khan, M. Afzal, S. S. Alghamdi and H. M. Migdadi. 2021. Morphological and molecular characterization of quinoa genotypes. Agriculture. 11(4): 286.

Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol. Ecol. 14(8): 2611-2620.

Fuentes, F. F. and A. Bhargava. 2011. Morphological analysis of quinoa germplasm grown under lowland desert conditions. J. Agron. Crop Sci. 197(2): 124-134.

Jacobsen, S. E., C. Monteros, J. L. Christiansen, L. A. Bravo, L. J. Corcuera and A. Mujica. 2005. Plant responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to frost at various phenological stages. Eur. J. Agron. 22(2): 131-139.

Jarvis, D. E., O. R. Kopo, E. N. Jellen, M. A. Mallory, J. Pattee, A. Bonifacio, C.E. Coleman, M.R. Stevens, D. J. Fairbanks and P. J. Maughan. 2008. Simple sequence repeat marker development and genetic mapping in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). J. Genet. 87(1): 39-51.

Mason, S. L., M. R. Stevens, E. N. Jellen, A. Bonifacio, D. J. Fairbanks, C. E. Coleman, R. R. Mc Carty, A. G. Rasmussen and P. J. Maughan. 2005. Development and use of microsatellite markers for germplasm characterization in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Crop Sci. 45(4): 1618-1630.

Maughan, P. J., A. Bonifacio, C. E. Coleman, E. N. Jellen, M. R. Stevens and D. J. Fairbanks. 2007. Quinoa (*Chenopodium quinoa*). p. 147–158. *In:* Kole, C. (Ed.) Pulses, Sugar and Tuber Crops. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Vol. 3. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34516-9_9.

Maughan, P. J., A. Bonifacio, E. N. Jellen, M. R. Stevens, C. E. Coleman and M. Ricks. 2004. A genetic linkage map of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) based on AFLP, RAPD, and SSR markers. Theor. Appl. Genet. 109(6):1188-1195.

Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Proceed. Nat. Acad. Sci. 76(10): 5269-5273.

Powell, W. W., K. W. Koput and L. Smith-Doerr. 1996. Interorganizational collaboration and the locus of innovation: Networks of learning in biotechnology. Admin. Sci. Quarter. 41(1):116-145.

Prasana, M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. Crop Sci. 43: 1235-1248.

Pritchard, J. K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 155: 945-959.

Repo-Carrasco, R., C. Espinoza and S. E. Jacobsen, 2003. Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). Food Rev. Int. 19 (1-2): 179-189.

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

Rodriguez, L. A. and M. T. Isla. 2009. Comparative analysis ofgenetic and morphologic diversity among quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) accessions of south Chilleand high land accessions. Plant Breed. Crop Sci. 1(5): 210-216.

Romero, M., A. M. M. Sanchez, E. Pineda, Y. Ccamapaza and N. Zavalla. 2019. Genetic identity based on simple sequence repeat (SSR) markers for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Ciencia e Investigación Agraria: Revista Latinoamericana de Ciencias de la Agricultura. 46(2): 166-168.

Sepahvand, N. A., M. Sarhangi, R. Mehrabi and Kh. Mostafavi. 2015. Study on genetic diversity of quinoa morphotypes using microsatellite molecular markers. Modern Genet. J. 10(1): 115-122. (In Persian with English abstract).

Solano, R., A. Stepanova, Q. Chao and J. R. Ecker. 1998. Nuclear events in ethylene signaling: a transcriptional cascade mediated by *Ethylene-Insensitive3* and *Ethylene-Response-Factor1*. Gene. Dev. 12(23): 3703-3714.

Shannon, C. E. and W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana, IL, USA.

Sifati, E. S. Ramezanpour, H. Soltanloo and M. Salehi. 2015. Study on some morphophenological traits related to yield and early maturity in quinoa cultivars (*Chenopodium quinoa*, Wild.). J. Crop Prod. 8(2): 153-169. (In Persian with English abstract).

Yeh, F. C. and T. J. B. Boyle. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian J. Bot. 129: 157.

Zhang, P., X. Liu, H. Tong, Y. Lu and J. Li. 2014. Association mapping for important agronomic traits in core collection of rice (*Oryza sativa* L.) with SSR markers. PLoS One. 9(10): 111508-111517.

Zhu, J., M. D. Gale, S. Quarrie, M. T. Jackson and G. J. Bryan. 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. Theor. Appl. Genet. 96(5): 602-611.

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]

Assessment of genetic diversity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes using microsatellite markers

Souri Laki, E.[1], B. Rabiei[2], V. Jokarfard[3] and H. Marashi[4]

ABSTRACT

Souri Laki, E., B. Rabiei, V. Jokarfard and H. Marashi. 2022. Assessment of genetic diversity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes using microsatellite markers**. Iranian Journal of Crop Sciences. 24(4): 375-389. (In Persian).**

To evaluate the genetic diversity in quinoa genotypes for future studies, 60 imported quinoa genotypes were studied using microsatellite markers (SSR) at the faculty of agricultural sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, in 2022. The results of the phenotypic evaluation of the quinoa genotypes showed that there was a relatively high diversity among them. Among the studied traits, seed yield plant^{-1} (42.8) and days to seed dough stage (8.14) had the highest and lowest phenotypic coefficient of variation, respectively. Evaluating the molecular diversity of genotypes using 40 microsatellite markers produced 136 polymorphic bands, and the average number of effective alleles (1.81), polymorphic information content (0.60), Shannon's index (0.54) and Nei's genetic diversity (0.44), confirmed the existence of high diversity among the quinoa genotypes. The markers KAAT027, KAAT036, KAAT040, KCAA014, KGA042, KGA055 and KGA059 with five polymorphic alleles had the highest number of polymorphic alleles among the used markers in this experiment. The average number of effective alleles of microsatellite markers in the studied quinoa genotypes was 1.81 alleles, and markers KAAT027 and KAAT006 with 3.75 and 1.08 alleles showed the highest and lowest number of alleles, respectively. Cluster analysis using UPGMA method grouped 60 quinoa genotypes into two subpopulations with 38 and 22 genotypes. Since one of the important criteria to choose suitable and useful markers is the number of effective alleles, therefore, markers with more effective alleles such as KAAT027, KAAT036 and KAAT040 (all with more than three effective alleles) can be used to investigate the genetic diversity of quinoa genotypes in the future researches.

Key words: Cluster analysis, Microsatellite markers, Polymorphic information content, Population structure and Quinoa

Received: November, 2022 Accepted: February, 2023

1. PhD Graduate, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Professor, University of Guilan, Rasht, Iran (Corresponding author) (Email: rabiei@guilan.ac.ir)
3. PhD Student, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Professor, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

[DOR: 20.1001.1.15625540.1401.24.4.4.1]