"مجله علوم زراعی ایران"
جلد سیزدهم، شماره ۱ بهار ۱۳۹۰

# شناسایی و تمایز ارقام تجاری سویا با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و ریزماهواره
# Identification and distinction of soybean commercial cultivars using morphological and microsatellite markers

سید حسین جمالی[۱]، لیلا صادقی[۲] و سید یعقوب صادقیان مطهر[۳]

## چکیده

**جمالی، س. ح.، ل. صادقی و س. ی. صادقیان مطهر. ۱۳۹۰.** شناسایی و تمایز ارقام تجاری سویا با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و ریزماهواره. **مجله علوم زراعی ایران. ۱۳ (۱) ۱۴۵-۱۳۱.**

**به منظور شناسایی و تمایز ۱۵ رقم تجاری سویا،۱۱ صفت مورفولوژیک شامل ارتفاع بوته، زمان شروع گلدهی، زمان رسیدگی، رنگ آنتوسیانین هیپوکوتیل، تیپ رشد، رنگ کرک‌های ساقه اصلی، شکل برگچه‌های جانبی برگ، رنگ گل، شدت رنگ قهوه‌ای غلاف، رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز و رنگ ناف بذر روی ارقام مشاهده یا اندازه‌گیری شدند. این آزمایش به مدت دو سال (۸۶-۱۳۸۵) با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در کرج انجام شد. میانگین صفات کمی پس از تجزیه واریانس با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار مقایسه شدند. برای تمایز ارقام از روش پیشنهادیUPOV برای دو سال آزمایش (COYD) استفاده شد.گروه‌بندی اولیه برای صفات کیفی از جمله رنگ ناف بذر، رنگ کرک ساقه اصلی و رنگ گل صورت گرفت و ارقام در گروه‌های مشابه دسته‌بندی شدند. از صفات کیفی نیز به منظور تفکیک ارقام داخل هر گروه از طریق جداول مقایسه‌ای استفاده گردید. تجزیه واریانس صفات کمی بین ارقام تفاوت بسیار معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۱ درصد نشان داد. برای مقایسه تفاوت میانگین دو ساله ارقامی که در صفات کیفی مشابه بودند، از روش حداقل تفاوت معنی‌دار استفاده گردید. در آزمایش‌های مولکولی، از ۱۶ نشانگر ریزماهواره برای انگشت نگاری ارقام استفاده گردید. بر این اساس تمامی ارقام (بجز دو رقم) از یکدیگر متمایز شدند. به منظور پیدا کردن ترکیبی مناسب از نشانگرها که به نتیجه حاصل از استفاده تمامی نشانگرها در تفکیک ارقام منجر شود، از شاخص قدرت تمایز نشانگرها استفاده گردید که در نتیجه سه نشانگرSatt231، Satt005 و Satt274 انتخاب شدند. از این سه نشانگر که بیشترین قدرت تمایز و تعداد آلل موثر را داشتند، در محاسبه ضرایب تشابه و تجزیه خوشه‌ای ارقام استفاده شد که نتیجه آن مشابه گروه‌بندی حاصل از ۱۶ نشانگر بود. این نشانگرها به دلیل مستقل بودن از تاثیر محیط، می‌توانند به عنوان مکمل صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در شناسایی و تمایز ارقام تجاری سویا مورد استفاده قرار گیرند.**

**واژه های کلیدی: تمایز، سویا، شناسایی، صفات مورفولوژیک و نشانگرهای** SSR.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۲

۱ و ۲- کارشناس تحقیقات معاونت تحقیقات شناسایی و ثبت ارقام گیاهی، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال
۳- استاد پژوهش معاونت تحقیقات شناسایی و ثبت ارقام گیاهی، مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: sadeghian_56@yahoo.com)



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

**مقدمه**

شناسایی دقیق و صحیح ژنوتیپ‌ها، لاین‌ها و ارقام گیاهی علاوه بر اینکه در برنامه‌های به‌نژادی از اهمیت خاصی برخوردار است، در تمایز ارقام تجاری به منظور حمایت از مالکیت فکری ارقام گیاهی و اعطای حقوق به‌نژادگر به مالکین آنها نیز بسیار موثر است. در نظام حمایت از ارقام جدید گیاهی، رقمی قابل ثبت است که از نظر فنی سه ویژگی تمایز، یکنواختی و پایداری (Distinctness, Uniformity and Stability, DUS) تعیین شده توسط اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV) را دارا باشد. بدین ترتیب، یک رقم جدید باید دست‌کم در یک صفت از دیگر ارقام شناخته شده و رایج، متمایز بوده (D) و دارای یکنواختی (U) و پایداری (S) لازم در صفاتی که با آن توصیف می‌گردد، باشد. توصیف ارقام با صفات مورفولوژیک (و در بعضی موارد آیزوزایم‌ها و پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر) مندرج در دستورالعمل‌های خاص هر گونه گیاهی که توسط UPOV منتشر شده است، نیز صورت می‌پذیرد (UPOV, 1991).

سویا [*Glycine max* (L.) Merrill] گیاهی خودگشن با تنوع ژنتیکی محدود می‌باشد و ارقام اصلاح شده جدید آن نیز اغلب از روش‌هایی بدست می‌آیند که موجب کاهش مقدار تنوع ژنتیکی بین آنها می‌شود (Chung and Singh, 2008).با توجه به روند رو به رشد تعداد ارقام، شناسایی ارقام جدید تنها از طریق صفات مورفولوژیک یا مشکلاتی مواجه است (Rongwen *et al*., 1995).

محدود بودن صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی متمایز کننده غیر وابسته به عوامل محیطی و تغییرات کم حالات تظاهر بسیاری از آنها، تفکیک ارقام رو به افزایش را با مشکلاتی مواجه نموده است، بنابراین استفاده از نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزار تکمیلی در نظام ثبت ارقام گیاهی در آینده بسیار نزدیک به دلیل مزایای آنها اجتناب ناپذیر است (Tommasini *et al*., 2003). از مهم‌ترین مزایای نشانگرها می‌توان به فراوانی زیاد، چندشکلی بالا، توزیع یکنواخت در ژنوم، عدم تاثیر پذیری از عوامل محیطی، غیر وابسته بودن به مراحل رشد و قابل ارزیابی بودن در هر مرحله در آزمایشگاه اشاره نمود. نشانگر ریزماهواره (SSR) به دلیل دارا بودن مزایایی چون مقدار تنوع آللی و چند شکلی بسیار بالا و مشخص بودن محل کروموزومی آنها به عنوان ابزار تکمیلی آزمون‌های DUS ارقام برنج (Bonow *et al*., 2009; Singh *et al*., 2004)، ذرت (Gunjaca *et al*., 2008)، فلفل (Kwon *et al*., 2005)، کلزا (Tommasini *et al*., 2003) و زیتون (Rotondi *et al*., 2003) مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند.

تاکنون از نشانگرهای مولکولی RAPDs (Brown-Guedira *et al*., 2000)، AFLPs (Bonato *et al*., 2006; Ude *et al*., 2003)، SSRs (Fu *et al*., 2007; Narvel *et al*., 2000; Rongwen *et al*., 1995) در ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام برتر سویا استفاده شده است. نشانگرهای ریزماهواره به طور ویژه به عنوان مکمل صفات مورفولوژیکی در شناسایی ارقام مورد استفاده قرار گرفته‌اند. رونگون و همکاران (Rongwen *et al*., 1995) از هفت نشانگر ریزماهواره در شناسایی و تفکیک ۹۱ ژنوتیپ سویا استفاده نموده و تعداد ۱۱ تا ۲۶ آلل را در هر جایگاه مشاهده کردند. از میان این ژنوتیپ‌ها، تنها دو ژنوتیپ به علت شجره بسیار نزدیک، پروفیل یکسانی نشان دادند. جیانکولا و همکاران (Giancola *et al*., 2002) در شناسایی ۱۰۰ رقم سویا با استفاده از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولیRAPD، AFLP و SSR نشان دادند که ترکیبی از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای SSR می‌توانند در تفکیک دقیق ارقام به منظور حمایت از ارقام جدید



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

گیاهی و همچنین تعیین حداقل فاصله ژنتیکی مورد نیاز برای تمایز و تفکیک ارقام موثر واقع شوند. رودریگز و همکاران (Rodrigues *et al.*, 2008) فقط در یک نشانگر از مجموع ۴۲ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده، توانستند یک رقم مشتق شده سویا را از رقم اولیه آن تشخیص دهند.

هدف از این آزمایش، شناسایی ارقام تجاری سویا با استفاده از صفات مورفولوژیکی و ارزیابی کارایی نشانگرهای ریزماهواره به عنوان ابزار تکمیلی در شناسایی و تمایز این ارقام بوده است.

## مواد و روش‌ها

### الف- مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۵ رقم تجاری سویا بود که در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در منطقه کرج و به مدت دو سال (۸۶ و ۱۳۸۵) مورد ارزیابی قرار گرفتند. نام ارقام به همراه منشاء آنها در جدول یک ارائه شده است. در این دو آزمایش، هر کرت شامل پنج ردیف به طول پنج متر به فاصله ۵۰ سانتی‌متر از یکدیگر و فاصله بوته‌ها بر روی ردیف‌ها ۱۰ سانتی‌متر بود.

جدول ۱- نام و منشاء ارقام سویای مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Name and the origin of soybean varieties

| نام رقم<br>Name of variety | منشاء<br>Origin |
|---|---|
| ویلیامز<br>Williams | وارداتی<br>Introduction |
| تلار<br>Talar | گزینش تک بوته از رقم پرشینگ<br>Single seed selection from Pershing variety |
| گرگان-۳<br>Gorgan-3 | وارداتی (نام اصلی:هود)<br>Introduction (registered name: Hood) |
| سپیده<br>Sepideh | دورگ‌گیری بین ارقام<br>WilliamsA hybrid between Williams × KW506× KW506 |
| L17 | دورگ‌گیری بین ارقام<br>UnionA hybrid between Union × Elf× Elf |
| زان<br>Zan | وارداتی<br>Introduction |
| D.P.X-3589 | وارداتی<br>Introduction |
| M7 | موتانت رقم کلارک<br>A mutant of Clark |
| M9 | موتانت رقم کلارک<br>A mutant of Clark |
| M11 | موتانت رقم کلارک<br>A mutant of Clark |
| کلارک<br>Clark | وارداتی<br>Introduction |
| هود ۷۵<br>Hood 75 | وارداتی<br>Introduction |
| انترپرایز<br>Enterprise | وارداتی<br>Introduction |
| هیل<br>Hill | وارداتی<br>Introduction |
| سحر<br>Sahar | وارداتی (نام اصلی: پرشینگ)<br>Introduction (registered name: Pershing) |



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

**ب- صفات مورفولوژیک**

در این آزمایش سه صفت کمی و هشت صفت کیفی و شبه‌کیفی شامل ارتفاع بوته، زمان شروع گلدهی، زمان رسیدگی، رنگ آنتوسیانین هیپوکوتیل، تیپ رشد، رنگ کرک‌های یک‌سوم میانی ساقه اصلی، شکل برگچه‌های جانبی برگ، رنگ گل، شدت رنگ قهوه‌ای غلاف، رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز و رنگ ناف بذرروی ارقام مختلف سویا مشاهده یا اندازه‌گیری شدند. این صفات براساس دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری در سویا انتخاب شدند (SPCRI, 2007).

**ج- تجزیه مولکولی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره**

از هر رقم سویا، تعداد ۱۰ بذر در گلخانه کاشته شد و استخراج DNA ژنومی از برگ‌های گیاهچه‌های جوان در سن سه هفتگی و با اعمال تغییراتی در روش ارائه شده توسط سقایی معروف و همکاران (Saghai Maroof *et al.*, 1984) از مخلوط برگ هفت گیاه از هر رقم انجام گرفت. این تغییرات شامل دو برابر نمودن غلظت مواد مورد استفاده در بافر استخراج و جایگزینی دی‌تیوتریتول (DDT) با غلظت ۳۰ میلی‌مولار به جای مرکاپتواتانول به مقدار ۰/۲ درصد بوده است. اطلاعات مربوط به توالی ۱۶ آغازگرریزماهواره از دو پایگاه اطلاعاتی سویا که حاصل از آخرین نقشه ژنتیکی سویا با ۱۰۱۵ نشانگر ریزماهواره می‌باشند، استخراج گردید (Song *et al.*, 2004).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر و با اجزای ۵۰ نانوگرم ازDNA ژنومی، ۰/۱۵ میکرومولار ازهرآغازگر، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs و یک واحد آنزیم *Taq* Polymerase انجام گرفت. چرخه‌های حرارتی به کار رفته در هر واکنش شامل یک چرخه واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۴۶ تا ۶۰ درجه (بهینه شده ویژه هر جفت آغازگر) به مدت ۳۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه بود. محصولاتPCR بر روی ژل پلی‌اکریل آمید شش درصد الکتروفورز شدند و رنگ آمیزی نیز به روش نیترات نقره انجام گرفت (Promega, 2004).

**د- تجزیه‌های آماری**

جهت آزمون تمایز از صفات مورفولوژیکی کیفی و شبه‌کیفی در اختصاص ارقام به گروه‌های مشابه استفاده گردید. مقایسه میانگین صفات کمی ارقام با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار پس از تجزیه واریانس صورت پذیرفت. به طور کلی فرض صفر آزمون تمایز دو رقم، برابر بودن میانگین صفات متناظر آنها می‌باشد. به منظور تفکیک ارقام بر پایه صفات کمی اندازه‌گیری شده حداقل فاصله بین ارقام طوری تعیین شد که اگر جفت رقمی در مورد حداقل یک صفت مورد مقایسه تفاوت بیشتری از فاصله تعیین شده داشتند؛ به عنوان دو رقم متمایز در نظر گرفته می شدند. روش پیشنهادیUPOV برای تعیین این فاصله، شاخص تمایز چند سال (Combined-Over Years Distinctness, COYD) می‌باشد که در آن تفاوت میانگین چند سال دو رقم با LSDآنها مقایسه می‌گردد (UPOV, 1996). برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ارقام از نرم‌افزار DUST version 6.0.1 استفاده شد (Watson*et al.*, 1998).

به منظور تبدیل حالات تظاهر صفات کیفی و شبه‌کیفی به داده‌های صفر و یک از جدولی که ردیف‌ها و ستون‌های آن را به ترتیب، ارقام و حالات تظاهر صفات تشکیل می‌دادند، استفاده گردید. بدین ترتیب تظاهر هر صفت در ارقام، به یک و عدم تظاهر آن به صفر تبدیل شد. محاسبه ضرایب تشابه بین ارقام به روش دایس یا نی و لی (Nei and Li, 1979) با استفاده ازداده‌های مولکولی ومورفولوژیکی با استفاده از رابطه



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

یک انجام گرفت.

$$GS_{NL}= [2N_{11}/(2N_{11}+N_{10}+N_{01})] \quad (۱)$$

در این رابطه، $N_{11}$ تعداد حالات تظاهر صفات یا آلل‌های مشترک بین دو رقم، $N_{10}$ و $N_{01}$ به ترتیب تعداد حالات تظاهر یا آلل‌های رقم اول و دوم می‌باشد. از ماتریس تشابه بدست آمده جهت تجزیه خوشه‌ای از طریق الگوریتم UPGMA استفاده گردید. محاسبه ضرایب تشابه، تجزیه خوشه‌ای و همبستگی بین ماتریس‌های تشابه از طریق آزمون مانتل (Mantel, 1967) و با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc version 2.02 انجام گرفت (Rohlf, 1998).

محتوای اطلاعات چندشکل (Polymorphic Information Content, PIC) هر نشانگر به صورت زیر محاسبه گردید (رابطه ۲) (Botstein *et al.*, 1980). در این رابطه $P_i$ و $P_j$ به ترتیب فراوانی آلل‌های i و j در یک جایگاه ریزماهواره می‌باشند.

$$PIC-1-\Sigma_{i=1}^{n}P_i^2-\Sigma_{i=1}^{n-1}\Sigma_{j=i+1}^{n}2P_i^2P_j^2 \quad (۲)$$

تعداد آلل‌های موثر هر نشانگر یا حالات تظاهر هر صفت مورفولوژیکی ($A_e$) بر اساس رابطه ۳ بدست آمد که در آن $Pi$ فراوانی حالت تظاهر یا آلل $i$ در هر جایگاه می‌باشد (Hartl and Clark, 1997).

$$A_e=1/\Sigma P_i^2 \quad (۳)$$

برای مقایسه کارایی صفات کیفی و نشانگرها در شناسایی ارقام از شاخص قدرت تمایز ($D$) استفاده شد. درصورتیکه $C$ احتمال یکسان بودن حالت تظاهر صفات یا الگوی باندی دو رقمی باشد که به تصادف از ۱۵ رقم مورد مطالعه انتخاب شده‌اند، آنگاه $D=1-C$ نشان‌دهنده احتمال متفاوت بودن حالت تظاهر یا الگوی باندی دو رقم انتخاب شده یعنی متمایز بودن آنها از یکدیگر می‌باشد. در رابطه زیر، $I$ تعداد حالات تظاهر صفت مورفولوژیکی یا آلل‌های نشانگر ریزماهواره $j$ام، $Pi$ فراوانی حالت تظاهر یا آلل و $N$ تعداد ارقام می‌باشند.

$$D_j=1-C_j=1-\Sigma_{i=1}^{I}P_i\frac{(NP_i-1)}{N-1} \quad (۴)$$

به طور نظری تعداد کل جفت ارقام غیر متمایز برای نشانگر $j$ از رابطه $C_j$ $x_j=(N(N-1)/2)$ بدست می‌آید. با فرض مستقل بودن نشانگرها، ازرابطه ۵ به منظور پیدا کردن ترکیب مناسبی از k نشانگرجهت تفکیک ارقام استفاده گردید (Tessier *et al.*, 1999).

$$X_k=\frac{N(N-1)}{2}\Pi_{j=1}^{k}C_j \quad (۵)$$

## نتایج و بحث

### الف- تجزیه صفات مورفولوژیکی

گروه‌بندی اولیه ارقام بر اساس صفات رنگ ناف بذر، رنگ کرک ساقه اصلی و رنگ گل (صفات گروه‌بندی کننده بر اساس دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری در سویا)، آنها را در گروه‌های مشابه خود قرار داد (جدول ۲)، بدین ترتیب که ارقام کلارک، M9، M11، M7 و DPX در گروه ارقام دارای رنگ ناف بذر سیاه، رنگ کرک گندمی و رنگ گل بنفش قرار گرفتند (گروه ۱). دو رقم گرگان-۳ و هود ۷۵ به طور مشترک دارای رنگ ناف بذر قهوه‌ای روشن، رنگ کرک خاکستری و رنگ گل بنفش بودند (گروه ۲). ارقام تلار و هیل در رنگ ناف بذر قهوه‌ای تیره، رنگ کرک گندمی و رنگ گل سفید مشترک بودند (گروه ۳) و سه رقم L17، ویلیامز و سپیده دارای رنگ ناف بذر سیاه، رنگ کرک گندمی و رنگ گل سفید بودند (گروه ۴). سه رقم زان، انترپرایز و سحر از طریق صفات مورفولوژیکی در هیچ گروهی خاصی قرار نگرفته و از سایر ارقام متمایز گردیدند.

برای تفکیک ارقام داخل هر گروه از سایر صفات کیفی (رنگیزه آنتوسیانین هیپوکوتیل، تیپ رشد، شکل برگچه‌های جانبی برگ، شدت رنگ قهوه‌ای غلاف و رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز) استفاده گردید. در گروه یک، رقم DPX از ارقام مشابه خود (کلارک، M9، M11، M7) در دو صفت



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

جدول ۲– اختصاص ارقام مشابه سویا به گروه‌های مختلف بر اساسه صفت گروه‌بندی کننده کیفی(رنگ ناف بذر، رنگ کرک ساقه اصلی و رنگ گل) و تمایز ارقام داخل هر گروه با سایر صفات. سه رقم زان، انترپرایز و سحر در هیچ گروهی قرار نگرفتند

Table 2. Allocation of similar soybean varieties into different groups using three qualitative grouping characteristics (hilum color of seed, color of hairs of main stem and flower color) and distinctness of within group varieties by other characteristics. The three varieties vis. Zan, Enterprise and Sahar didn't classified in any group

| | | Plant characteristics صفات گیاهی | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ارقام سویا<br>Soybean varieties | رنگ ناف بذر<br>Hilum color | رنگ کرک ساقه اصلی<br>Color of hairs of main stem | رنگ گل<br>Flower color | رنگیزه آنتوسیانین هیپوکوتیل<br>Anthocyanin coloration of hypocotyl | تیپ رشد<br>Plant growth type | شکل برگچه‌های جانبی برگ<br>Shape of lateral leaflets of leaf | شدت رنگ قهوه‌ای غلاف<br>Intensity of brown color of pod | رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز<br>Coloration due to peroxidase activity in seed coat |
| گروه ۱ Group 1 | کلارک<br>Clark | سیاه<br>Black | گندمی<br>Tawny | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد نامحدود<br>Indeterminate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | تیره<br>Dark | ندارد<br>Absent |
| | M11 | سیاه<br>Black | گندمی<br>Tawny | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد نامحدود<br>Indeterminate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | تیره<br>Dark | ندارد<br>Absent |
| | M7 | سیاه<br>Black | گندمی<br>Tawny | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد نامحدود<br>Indeterminate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | تیره<br>Dark | ندارد<br>Absent |
| | M9 | سیاه<br>Black | گندمی<br>Tawny | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد نامحدود<br>Indeterminate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | تیره<br>Dark | ندارد<br>Absent |
| | DPX | سیاه<br>Black | گندمی<br>Tawny | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | نیمه رشد محدود<br>Semi-determinate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | متوسط<br>Medium | ندارد<br>Absent |
| گروه ۲ Group 2 | گرگان-۳<br>Gorgan-3 | قهوه‌ای روشن<br>Light Brown | خاکستری<br>Grey | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد محدود<br>Determinate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | روشن<br>Light | دارد<br>Present |
| | هود ۷۵<br>Hood 75 | قهوه‌ای روشن<br>Light Brown | خاکستری<br>Grey | بنفش<br>Violet | دارد<br>Present | رشد محدود<br>Determinate | تخم مرغی تیز<br>Pointed ovate | روشن<br>Light | دارد<br>Present |



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

## جدول ۲– ادامه

Table 2. Continued

| | | Plant characteristics صفات گیاهی | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ارقام Varieties | رنگ ناف بذر Hilum color of seed | رنگ کرک ساقه اصلی Color of hairs of main stem | رنگ گل Flower color | رنگیزه آنتوسیانین هیپوکوتیل Anthocyanin coloration of hypocotyl | تیپ رشد Plant growth type | شکل برگچه‌های جانبی برگ Shape of lateral leaflets of leaf | شدت رنگ قهوه‌ای غلاف Intensity of brown color of pod | رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز Coloration due to peroxidase activity in seed coat |
| گروه ۳ Group 3 | تلار Talar | قهوه‌ای تیره Dark Brown | گندمی Tawny | سفید White | ندارد Absent | رشد محدود Determinate | مثلثی Triangular | روشن Light | ندارد Absent |
| | هیل Hill | قهوه‌ای تیره Dark Brown | گندمی Tawny | سفید White | ندارد Absent | رشد محدود Determinate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | روشن Light | ندارد Absent |
| گروه ۴ Group 4 | L17 | سیاه Black | گندمی Tawny | سفید White | ندارد Absent | رشد نامحدود Indeterminate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | روشن Light | ندارد Absent |
| | ویلیامز Williams | سیاه Black | گندمی Tawny | سفید White | ندارد Absent | رشد نامحدود Indeterminate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | روشن Light | دارد Present |
| | سپیده Sepideh | سیاه Black | گندمی Tawny | سفید White | ندارد Absent | رشد نامحدود Indeterminate | مثلثی Triangular | متوسط Medium | دارد Present |
| | زان Zan | قهوه‌ای تیره Dark Brown | خاکستری Grey | بنفش Violet | دارد Present | رشد نامحدود Indeterminate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | روشن Light | دارد Present |
| | انترپرایز Enterprise | قهوه‌ای روشن Light Brown | گندمی Tawny | بنفش Violet | دارد Present | رشد نامحدود Indeterminate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | متوسط Medium | دارد Present |
| | سحر Sahar | قهوه‌ای تیره Dark Brown | خاکستری Grey | سفید White | ندارد Absent | رشد محدود Determinate | تخم مرغی تیز Pointed ovate | روشن Light | ندارد Absent |



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

تیپ رشد و شدت رنگ قهوه‌ای غلاف متمایز گردید. چهار رقم باقیمانده در این گروه در دیگر صفات کیفی نیز با یکدیگر مشابه بودند. علت این موضوع روش اصلاحی سه رقم M9، M11، M7 می باشد که در اثر جهش (موتاسیون) از رقم کلارک بدست آمده‌اند. این روش اصلاحی نتوانسته است در این صفات کیفی مورد بررسی تفاوتی ایجاد نماید. بررسی‌های مربوط به عملکرد و سازگاری این ارقام جهش یافته تنها اشاره به زودرس بودن آنها در مقایسه با رقم کلارک دارد. طبق تعریف UPOV، روش اصلاحی موتاسیون منجر به ایجاد ارقام مشتق شده (Essentially Derived Varieties, EDVs) گردیده و اخذ مجوز از مالک رقم اولیه مورد حمایت جهت تجاری سازی آنها الزامی می‌باشد (UPOV, 1991). دو رقم هود ۷۵ و گرگان-۳ (از گروه ۲) نیز در دیگر صفات کیفی با یکدیگر مشابه بودند که علت آن وارداتی بودن رقم گرگان-۳ (که نام اصلی آن هود است) می‌باشد. در گروه سه، رقم تلار از رقم مشابه خود (هیل) در صفت شکل برگچه‌های جانبی برگ متمایز گردید. در گروه چهار، رقم اصلاح شده L17 در صفت رنگ پذیری پوسته بذر در اثر فعالیت پراکسیداز از دو رقم سپیده و ویلیامز متفاوت بود. دو رقم باقیمانده (ویلیامز و سپیده) نیز در دو صفت شکل برگچه‌های جانبی برگ و شدت رنگ قهوه‌ای غلاف از یکدیگر متمایز شدند.

تجزیه واریانس بر اساس داده‌های دو سال سه صفت کمی ارتفاع بوته، زمان شروع گلدهی و زمان رسیدگی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد بین ارقام وجود داشت. میانگین ارقام در این سه صفت با حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) آزمون گردید. به طور کلی از ۱۰۵ جفت مقایسه دو به دوی ارقام به ترتیب ۱۹، ۸۰ و یک جفت رقم با این

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات ارتفاع بوته و زمان رسیدگی ارقام سویا به روش حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱ درصد

Table 3. Mean comparison of plant height and time of maturity of soybean varieties through least significance difference (LSD) at 0.01% level probability level

| صفات گیاهی Plant characteristics | ارتفاع بوته Plant height (cm) | | | زمان رسیدگی (روز) Time of maturity (day) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Gorgan-3 | 126.65 | | M7 | 109 | |
| | | | | M11 | 109.5 | |
| | | | | M9 | 110 | |
| | DPX | 139.27 | *ND* | Gorgan-3 | 146 | *D* |
| | Sepideh | 124.35 | *ND* | Hood 75 | 143.5 | *D* |
| | Clark | 121 | *ND* | Hill | 143.5 | *D* |
| | M9 | 108.8 | *D* | DPX | 141 | *D* |
| | L17 | 103.23 | *D* | Talar | 139.5 | *D* |
| ارقام سویا Soybean varieties | Williams | 103 | *D* | Sahar | 133 | *D* |
| | Hood **75** | 102.47 | *D* | Clark | 126 | *D* |
| | M7 | 102.47 | *D* | Williams | 119.5 | *D* |
| | Sahar | 100.55 | *D* | L17 | 116.5 | *ND* |
| | Hill | 98.53 | *D* | Sepideh | 115.5 | *ND* |
| | M11 | 96.43 | *D* | Zan | 115.5 | *ND* |
| | Zan | 79.79 | *D* | Enterprise | 101.5 | *ND* |
| | Enterprise | 79.2 | *D* | | | |
| | Talar | 72.62 | *D* | | | |
| LSD 0.01% | | 14.54 | | | 7.69 | |

D: متمایز (معنی دار در سطح احتمال ۰/۱ درصد)؛ ND : غیرمتمایز (غیر معنی‌دار)

D: Distinct (Significant at 0.01% level); ND: Not-distinct (non significant)



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

صفات در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار و از یکدیگر متمایز گردیدند. بدین ترتیب رقم گرگان-۳ که از نظر صفات مورفولوژیکی مشابه رقم هود می‌باشد، ارتفاع بیشتری نسبت به رقم هود داشته و سه رقم مشتق شده M7، M9، M11 از رقم اولیه خود (کلارک) زودرس‌تر بودند (جدول ۳).

**ب- تجزیه مولکولی نشانگرهای ریزماهواره**

۱۶ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده در این آزمایش در مجموع ۶۱ آلل با میانگین ۳/۸ آلل در هر جایگاه ایجاد نمودند. همبستگی بین تعداد آلل‌ها و آلل‌های موثر موجود در نشانگرها نسبتا بالا بود ($R^2$=0.65) و با افزایش تعداد آلل‌ها میزان آلل موثر جایگاه‌ها افزایش یافت، اگرچه چند نشانگر با تعداد آلل یکسان دارای تعداد آلل موثر متفاوتی بودند. از میان این نشانگرها، جایگاه Satt005 با ۷ آلل دارای بیشترین تنوع و جایگاه Satt231 بیشترین آلل موثر به میزان ۴/۷ را دارا بود. دامنه محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) از ۰/۳۰ تا ۰/۷۵ (با میانگین ۰/۵۰) برآورد شد. بیشترین قدرت تمایز (*D*) مربوط به نشانگر Satt231 و کمترین آن متعلق به نشانگر Satt002 با میانگین ۰/۶۱ بود که کمی بیشتر از مقدار آن برای صفات مورفولوژیکی (به میزان ۰/۵) بود (جدول ۴).

جدول ۴- تعداد آلل‌ها، میزان اطلاعات چند شکل (PIC) و قدرت تمایز ۱۶ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده
Table 4. Number of alleles, Polymorphic Information Content (PIC) and discriminative power of 16 microsatellite markers

| ردیف No | نام جایگاه نشانگر Locus name | گروه لینکاژ و شماره کروموزوم Linkage group and chromosome number | | تعداد آلل No. of alleles | تعداد آلل موثر Effective No. of alleles | میزان اطلاعات چند شکل PIC | قدرت تمایز Discriminative Power |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Satt042 | A1 | 5 | 3 | 2.5 | 0.52 | 0.64 |
| 2 | Satt177 | A2 | 8 | 3 | 2.2 | 0.48 | 0.59 |
| 3 | Satt197 | B1 | 11 | 6 | 2.9 | 0.62 | 0.70 |
| 4 | Satt066 | B2 | 14 | 4 | 2.5 | 0.52 | 0.63 |
| 5 | Satt294 | C1 | 4 | 3 | 2.4 | 0.49 | 0.62 |
| 6 | Satt357 | C2 | 6 | 3 | 1.5 | 0.30 | 0.36 |
| 7 | Satt365 | C2 | 6 | 2 | 2.0 | 0.37 | 0.53 |
| 8 | Satt184 | D1a | 1 | 4 | 2.5 | 0.52 | 0.63 |
| 9 | Satt172 | D1b | 2 | 3 | 2.2 | 0.45 | 0.59 |
| 10 | Satt005 | D1b | 2 | 7 | 4.4 | 0.74 | 0.82 |
| 11 | Satt274 | D1b | 2 | 4 | 3.5 | 0.66 | 0.76 |
| 12 | Satt002 | D2 | 17 | 3 | 1.5 | 0.30 | 0.36 |
| 13 | Satt231 | E | 15 | 6 | 4.7 | 0.75 | 0.84 |
| 14 | Satt124 | K | 9 | 4 | 2.8 | 0.59 | 0.68 |
| 15 | Satt337 | K | 9 | 4 | 1.8 | 0.40 | 0.46 |
| 16 | Satt567 | M | 7 | 2 | 2.0 | 0.37 | 0.53 |
| Average | میانگین | | | 3.8 | 2.58 | 0.51 | 0.61 |

کمترین ضریب تشابه مولکولی بین دو رقم سپیده و DPX (معادل صفر) و بیشترین آن برای ارقام کلارک و M11 (معادل یک) بود. میانگین ضرایب تشابه مولکولی بین افراد ۰/۳۹ بوده که کمتر از ضرایب تشابه مورفولوژیکی کیفی (معادل ۰/۵۵) بود.

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی ارقام با استفاده از الگوریتم UPGMA و مبتنی بر ضرایب تشابه دایس توانست کلیه ارقام بجز دو رقم کلارک و M11 را از یکدیگر تفکیک نماید. جفت رقم هود ۷۵ و گرگان-۳ که با استفاده از هشت صفت مورفولوژیکی کیفی از یکدیگر متمایز نشده بودند، با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره تفکیک شدند.



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

همچنین ارقام موتانت M9، M7 و M11 از یکدیگر و نیز ازرقم اولیه خود (کلارک) به خوبی قابل تشخیص بودند، اگرچه تمایز دو رقم کلارک و M11 از این طریق میسرنگردید (شکل ۱). مطالعات گذشته نیز بر توانایی نشانگرهای ریزماهواره در تفکیک ارقام سویا مشابه از نظر صفات مورفولوژیکی تاکید دارد (Diwan and Cregan, 1997).

به منظور پیدا کردن ترکیبی مناسب از نشانگرها که به نتیجه حاصل از استفاده تمام نشانگرها در تفکیک ارقام منجر شود، ابتدا نشانگرها یکی پس از دیگری به نحوی انتخاب گردیدند که در هر مرحله $X_k$، یعنی تعداد جفت ارقام غیر متمایز برای هر ترکیب پرایمری (رابطه ۵) به حداقل برسد. در مرحله اول، نشانگرSatt231 که بیشترین جفت ارقام را از میان $N(N-1)/2$ جفت رقم از یکدیگر متمایز و میزان $D$ را حداکثر می‌نمود (رابطه ۴)، انتخاب شد. در مرحله دوم، ترکیب هر یک از n-1 نشانگر باقیمانده با نشانگر انتخاب شده در مرحله قبل مورد آزمون قرار گرفت تا کاراترین ترکیب که مقدار $X_k$ را به حداقل می‌رساند، تعیین شود. در این مرحله ترکیب نشانگر Satt005 با نشانگر قبلی کمترین تعداد جفت ارقام غیر متمایز را باقی گذاشت. در مراحل بعدی، همین رویه برای نگهداشتن یا حذف سایر نشانگرها بکار گرفته شد. در نهایت، افزودن نشانگر Satt274 به دو نشانگر قبلی توانست مقدار مورد انتظار تعداد جفت ارقام غیرمتمایز را از نظر محاسباتی از ۱۵/۷۵ به ۰/۶۳ کاهش دهد که در عمل می‌باید به یک جفت رقم می‌رسید (جدول ۵). این جفت رقم، دو رقم کلارک و M11 بوده که در تجزیه ۱۶ نشانگر ریزماهواره الگوی نواری یکسانی داشته و از یکدیگر تفکیک نشدند (شکل ۱).با بکارگیری نشانگر Satt231،که بیشترین قدرت تمایز (۰/۸۴) را بین نشانگرها دارا بود، در محاسبه ضرایب تشابه بین ارقام و سپس تجزیه خوشه‌ای ارقام، ۱۴ جفت رقم از یکدیگر غیرمتمایز باقی ماندند. با افزودن نشانگرهای متعاقب از نظر میزان قدرت تمایز (به ترتیب Satt005 و Satt274) به این نشانگر، مقدار جفت ارقام غیر متمایز به دو و در نهایت به یک کاهش یافت (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه ترکیب نشانگرها در دو حالت واقعی و تئوری با فرض استقلال نشانگرها

Table 5. Comparison of combination of markers in the actual and theoretical states with consideration of independence of markers

| نام جایگاه نشانگر Locus name | تعداد جفت ارقام غیرمتمایز Number of indistinguishable pairs | |
|---|---|---|
| | مشاهده شده از آزمایش Experimentally observed | مورد انتظار با فرض مستقل بودن نشانگرها Expected with consideration of independence |
| Satt231 | 14 | 15.75 |
| Satt231+Satt005 | 2 | 2.68 |
| Satt231+Satt005+Satt274 | 1 | 0.63 |

با استفاده از این سه نشانگر، میانگین ضرایب تشابه بین ارقام کمتر (۰/۱۹) از ضرایب تشابه ۱۶ نشانگر (۰/۳۹) و همبستگی بین این ضرایب ۰/۷۴ بود. همبستگی بین ماتریس‌های کوفنتیک (حاصل از سه و ۱۶ نشانگر) نیز با استفاده از آزمون انطباق مانتل، ۰/۷۱ محاسبه شد. با وجود همبستگی نسبتا بالای بین این دو دندروگرام، توانائی این سه نشانگر در تفکیک ارقام سویابا نتایج استفاده از ۱۶ نشانگر مشابه بوده است.

تجزیه خوشه‌ای نشانگرها بر اساس شاخص قدرت تمایز($D$) و تعداد آلل موثر ($A_e$)، منجر به قرار گرفتن سه نشانگرSatt231، Satt005 و Satt274 در یک گروه متمایز از سایر نشانگرها گردید (نتایج ارائه نشده‌اند) که انتخاب آنها را در مراحل محاسباتی ترکیب نشانگرها تایید می‌نماید . از آنجا که مقدار قدرت تمایز نشانگرها

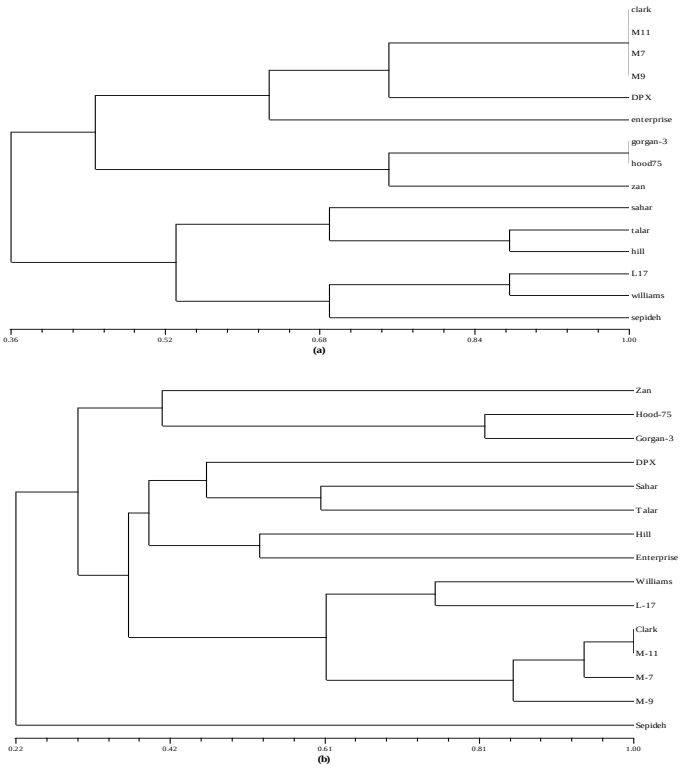


[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

به تعداد و فراوانی آلل‌ها بستگی دارد، هرچه تعداد آلل‌ها بیشتر و فراوانی آنها بین افراد بینابین باشد، مقدار $D$ بیشتر خواهد بود (Tessier *et al.*, 1999). در این آزمایش، با وجوداینکه نشانگر Satt197 با شش آلل، تعداد آلل بیشتری از نشانگر Satt274 با چهار آلل ایجاد نمود (جدول۴ و شکل ۲)، لیکن قدرت تمایز و تعداد آلل موثر آن کمتر بود؛ از این رو تعداد آلل‌ها ملاک مقایسه نشانگرها قرار نگرفت. میزان همبستگی بیشتر قدرت تمایز نشانگرها با تعداد آلل موثر آنها ($R^2$=0.85) در مقایسه با ارتباط آن با تعداد آلل ایجاد شده ($R^2$=0.5) نیز موید همین مطلب می‌باشد (شکل ۲). پنج نشانگرSatt274، Satt124، Satt006، Satt184 و Satt337 نیز با وجود دارا بودن چهار آلل، دارای قدرت تمایز متفاوتی بودند که از بین آنها نشانگر Satt274 توانست با داشتن قدرت تمایز بیشتر جزء سه نشانگر انتخابی متمایز کننده ارقام قرار گیرد. به دلیل همبستگی بسیار بالای بین PIC و ($R^2$=0.94)$D$، می‌توان از آنها به طور جایگزین در مقایسه نشانگرها استفاده نمود، اگرچه در این آزمایش تنها از شاخص $D$ در انتخاب ترکیب مناسبی از نشانگرها جهت تفکیک ارقام، استفاده گردید.

پس از ترکیب داده‌های مورفولوژیکی (صفر و یک) با داده‌های این سه نشانگر و انجام تجزیه خوشه‌ای، دندروگرام تقریبا مشابهی با دندروگرام حاصل از سه نشانگر بدست آمد (نتایج ارائه نشده است) که همبستگی بین ماتریس‌های کوفنتیک آنها از طریق آزمون مانتل،۰/۵۸بود.




شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۵ رقم سویا با استفاده از الگوریتم UPGMA و مبتنی بر ضرایب تشابه دایس محاسبه شده از ۸ صفت مورفولوژیکی (a) و ۱۶ نشانگر ریزماهواره (b)

Fig.1. Dendrogram of 15 soybean varieties based on UPGMA cluster analysis of Dice similarity matrix calculated from 8 morphological characteristics (a) and 16 microsatellite markers (b)



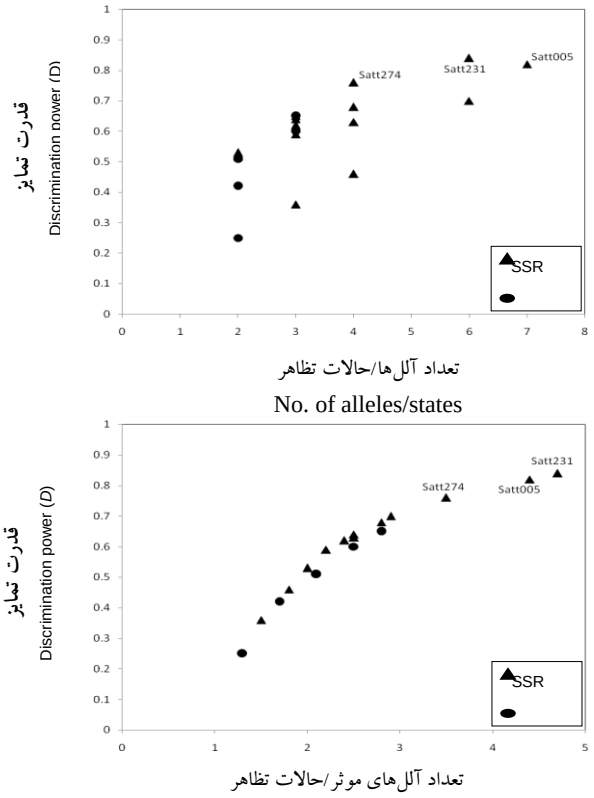
[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

جیانکولا و همکاران (Giancola *et al*., 2002) نیز پس از ترکیب داده‌های مورفولوژیکی و ریزماهواره، دندروگرام تقریبا مشابهی با دندروگرام حاصل از داده‌های نشانگرهای ریزماهواره بدست آوردند.

محدود بودن صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و مقدار تنوع آللی پایین آنها، شناسائی و تفکیک دقیق ارقام رو به افزایش در گونه های زراعی را با مشکل روبرو ساخته است و به همین دلیل استفاده از نشانگرهای مولکولی به عنوان اطلاعات مکمل شاخص‌های فنی ثبت ارقام گیاهی با توجه به مزایای آنها در مواردی اجتناب ناپذیر می‌باشد (Giancola *et al*., 2002; Rongwen *et al*., 1995).در این آزمایش نیز مشاهده شد که نشانگرهای ریزماهواره توانستند در تمایز ارقام مشتق شده از رقم اولیه خود موثر واقع شوند. نتایج تجزیه مولکولی این آزمایش نشان داد که به طور متوسط تعداد آلل‌ها، آلل‌های موثر و قدرت تمایز بیشتری در ۱۶ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی در مقایسه با هشت صفت مورفولوژیکی کیفی وجود داشته‌است (شکل ۲).نتایج سایر محققان نیز حاکی از بیشتر بودن چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره در مقایسه با صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای RFLP، RAPD و AFLP در ارقام و ژنوتیپ‌های سویا دارد (Giancola *et al*.2002; Powell *et al*. 1996).

نشانگرهای مولکولی ریزماهواره علاوه بر برخورداربودن از مزایایی چون فراوانی زیاد و چندشکلی بالا، دارای توزیع یکنواختی بر روی




شکل ۲- ارتباط بین قدرت تمایز(D)نشانگرهای ریزماهواره (SSR) و صفات مورفولوژیکی(.Morph)با تعداد آلل یا حالت تظاهر (بالا) و تعداد آلل موثر یا حالت تظاهر موثر(Ae)آنها (پایین). سه نشانگر SSR انتخاب شده در مراحل ترکیب نشانگرها با نام مشخص شده‌اند

Fig. 2. Correlation between discriminative power (*D*) of microsatellite (SSR) and morphological markers (Morph.) with their number of alleles or states (up) and number of effective alleles or states (Ae) (down). Three SSR markers which were selected in stepsof combination of markers are indicated with their name



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

ژنوم بوده و جایگاه کروموزومی آنها بر روی نقشه‌های ژنتیکی مشخص گردیده است. تاکنون ۱۰۱۵ جایگاه ریزماهواره بر روی نقشه ۲۰ گروه لینکاژ گونه سویا مشخص گردیده و تعداد آن به تدریج رو به افزایش است (Song *et al*., 2004). با توجه به عدم تاثیر پذیری این نشانگرها از عوامل محیطی، می‌توان بدون توجه به مراحل رشد گیاه، آنها را در هر مرحله از رشد در آزمایشگاه بررسی نمود. با توجه به حساسیت زیاد سویا به عوامل محیطی و روز کوتاه بودن آن، اهمیت استفاده از نشانگرهای مولکولی را دو چندان می‌نماید.

## سپاسگزاری

این مقاله از نتایج طرح تحقیقاتی به شماره ۸۶۰۰۵-۰۰۰۰-۰۲-۲۸۰۰۰۰-۱۱۰-۲ استخراج شده است. از آقایان دکتر حمیدرضا بابایی و مهندس رامین اوجانی، محققین بخش دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، به خاطر تهیه مواد آزمایشی و همکاری در اجرای سال اول آزمایش تشکر می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

## References

**Bonato, A. L. V., E. S. Calvo, I. O. Geraldi and C. A. A. Arias. 2006.** Genetic similarity among soybean (*Glycine max* (L) Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP markers. Genet. Mol. Biol. 29: 692-704.

**Bonow, S., E. V. R. Von Pinho, M. G. C. Vieira and B .Vosman. 2009.** Microsatellite markers in and around rice genes: Applications in variety identification and DUS testing. Crop Sci. 49: 880-886.

**Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick and R.W. Davis. 1980.** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314-331.

**Brown-Guedira, G. L., J. A. Thompson, R. L. Nelson and M. L. Warburton.** 2000. Evaluation of genetic diversity of soybean introductions and north American ancestors using RAPD and SSR markers. Crop Sci. 40: 815-823.

**Chung, G. and R. J. Singh. 2008.** Broadening the genetic base of soybean: A multidisciplinary approach. Critical Rev. in Plant Sci. 27: 295-341.

**Diwan, N. and P. B. Cregan. 1997.** Automated sizing of fluorescent-labeled Simple Sequence Repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. Theor. Appl. Genet. 95: 723-733.

**Fu, Y. B., G. W. Peterson and M. J. Morrison. 2007.** Genetic diversity of Canadian soybean cultivars and exotic germplasm revealed by simple sequence repeat markers. Crop Sci. 47: 1947-1954.

**Giancola, S., S. M. Poltri, P. Lacaze and H. E. Hopp. 2002.** Feasibility of integration of molecular markers and morphological descriptors in a real case study of a plant variety protection system for soybean. Euphytica 127: 95-113.

**Gunjaca, J., I. Buhinicek, M. Jukic, H. Sarcevic, A. Vragolovic, Z. Kozic, A. Jambrovic and I. Pejic. 2008.** Discriminating maize inbred linesusing molecular and DUS data. Euphytica, 161: 165-172.

**Hartl, D. L. and A. G. Clark. 1997.** Principles of population genetics. 3ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 542 pp.

**Kwon, Y. S., J. M. Lee, G. B. Yi, S. I. Yi, K. M. Kim, E. H. Soh, K. M. Bae, E. K. Park, I. H. Song and B. D. Kim. 2005.** Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Molecules and Cells 19: 428-435.

**Mantel, N. 1967.** The detection of disease clustering and a generalised regression approach. Cancer Res. 27: 209-220.

**Narvel, J. M., W. R. Fehr, W. C. Chu, D. Grant and R. C. Shoemaker. 2000.** Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes. Crop Sci. 40: 1452-1458.

**Nei, M. and W. Li. 1979.** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 5269-5273.

**Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996.** The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol. Breed. 2: 225-238.

**Promega. 2004.** SILVER SEQUENCE™, DNA Sequencing System. Technical manual No. 023. www.promega.com.

**Rodrigues, D. H., F. A. Neto and I. Schuster. 2008.** Identification of essentially derived soybean cultivars using microsatellite markers .Crop Breed. Appl. Biotech. 8: 74-78.

**Rohlf, F. J. 1998.** NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.02. Exeter Software, New York.

**Rongwen, J., M. S. Akkaya, A. A. Bhagwat, U. Lavi and P. B. Cregan. 1995.** The use of microsatellite DNA markers for soybean genotype identification. Theor. Appl. Genet. 90: 43-48.

**Rotondi, A., M. Magli, C. Ricciolini and L. Baldoni. 2003.** Morphological and molecular analyses for the characterization of a group of Italian olive cultivars. Euphytica, 132: 129-137.

**Saghai Maroof, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen and R. W. Allard. 1984.** Ribosomal DNA Spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 8014-8018.

**Singh, R. K., R. K. Sharma, A. K. Singh, V. P. Singh, N. K. Singh, S. P. Tiwari and T. Mohapatra. 2004.** Suitability of mapped sequence tagged microsatellite site markers for establishing distinctness, uniformity and stability in aromatic rice. Euphytica, 135: 135-143.

**Song, Q. J., L. F. Marek, R. C. Shoemaker, K. G. Lark, V. C. Concibido, X. Delannay, J. E. Specht and P. B. Cregan. 2004.** A new integrated genetic linkage map of the soybean. Theor. Appl. Genet. 109: 122-128.

**SPCRI (Seed and Plant Certification and Registration Institute). 2007.** National Guidelines for the Conductof Test for Distinctness, Uniformity and Stability in Soybean. GLYCI_MAX/253/86/124. SPCRI, Karaj. (In Persian)

**Tessier, C., J. David, P. This, J. M. Boursiquot and A. Charrier. 1999.** Optimization of the choice of molecular markers for varietalidentification in *Vitis vinifera* L. Theor. Appl. Genet. 98: 171-177.

**Tommasini, L., J. Batley, G. M. Arnold, R. J. Cooke, P. Donini, D. Lee, J. R. Law, C. Lowe, C. Moule, M. Trick and K. J. Edwards. 2003.** The development of multiplex simple sequence repeat (SSR) markers to complement distinctness, uniformity and stability testing of rape (*Brassica napus* L.) varieties. Theor. Appl. Genet. 106: 1091-1101.

**Ude, G. N., W. J. Kenworthy, J. M. Costa, P. B. Cregan and J. Alvernaz. 2003.** Genetic diversity of soybean cultivars from China, Japan, North America, and North American ancestral lines determined by amplified fragment length polymorphism. Symposium on Transgenic Pest-Resistant Crops held at the Annual ASA-CSSA-SSA Meeting: 1858-1867.

**UPOV (International Union for the Protection of new Varieties of Plants). 1991.** International convention for the protection of new varieties of plants, Publication No. 221 (E), March 19, Geneva.

**UPOV (International Union for the Protection of new Varieties of Plants). 1996.** Combined-Over-Years Distinctness and Uniformity Criterion. TC/33/7. Geneva, Switzerland.

**Watson, S., J. Ward and S. T. C. Weatherup. 1998.** DUST, Distinctness, Uniformity and Stability Analysis System, Version 6.1.0. Department of Agriculture for Northern Ireland.



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]

# Identification and distinction of soybean commercial cultivars using morphological and microsatellite markers

**Jamali, S. H.[1], L. Sadeghi[2] and S. Y. Sadeghin-Motahhar[3]**

## ABSTRACT

**Jamali, S. H., L. Sadghi and S. Y. Sadeghin-Motahhar. 2011.** Identification and distinction of soybean commercial cultivars using morphological and microsatellite markers**. Iranian Journal of Crop Sciences. 13 (1) 131-145. (In Persian).**

To identify and discriminate 15 soybean commercial cultivars, 11 morphological characteristics viz. plant height, timing of beginning of flowering, timing of maturity, anthocyanin of hypocotyl, growth type, color of hairs on main stem, shape of lateral leaflets, flower color, intensity of brown color of pod, seed coat color due to peroxidase activity, and seed hilum color were assessed and measured. This experiment was conducted during 2007-08 growing seasons using randomized complete block design with three replications in Karaj. Distinctness of cultivars was determined using UPOV's recommended method for two growing seasons (COYD). Considering seed hilum color, color of hairs on main stem, and flower color soybean cultivars were grouped in similar group. Pair-wise tables were used for discriminating within-group cultivars by other qualitative traits. Analysis of variance for quantitative traits showed very high significant differences ($p<0.001$) between cultivars. Molecular tests, 16 microsatellite markers were used in cultivars fingerprinting. These markers could distinguish between cultivars except two of them. To determine optimum combination of markers, all markers were used which led to selection of three SSR loci; Satt231, Satt005, and Satt274. These three microsatellite loci with the most discriminative power and effective number of alleles were used in cluster analysis and led to the same distinction results using 16 markers. Since these markers are not influenced by environmental conditions, therefore, could be utilized as complementary traits to morphological and physiological characteristics in identification of soybean cultivars.

**Keywords:** Distinction, Identification, Morphological characteristics, Soybean and SSR Markers.

**Received: September, 2009 Accepted: June, 2010**
1& 2- Researcher, Seed and Plant Certification Research Institute, Karaj, Iran
3-Professor, Seed and Plant Certification Research Institute, Karaj, Iran (Corresponding author)
(Email: sadeghian_56@yahoo.com)



[ Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17 ]

[ DOR: 20.1001.1.15625540.1390.13.1.10.4 ]