

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی گندم نیای آژیلوپس تاؤشوی با استفاده از نشانگر‌های ریزماهواره (Aegilops tauschii)

Study of genetic diversity in *Aegilops tauschii* accessions using SSR marker

کرم‌رضا اسماعیلی^{*}، علی اشرف مهرابی^۱، علیرضا اطمینان^۲، احسان عزیزان^۳، سجاد منصوری^۰،
مصطفی حسین‌آبادی^۴، محمد حیدرnezادی‌عیزان^۷

۱- کارشناس ارشد، استادیار و کارشناسان ارشد دانشگاه آزاد کرمانشاه
۲- استادیار دانشگاه ایلام

Esmaili K^{*1}, Mehrabi AA², Etminan AR³, Azizian E⁴, Mansoury S⁵, Hossein Abadi M⁶,
Haidarnezhadian M⁷

1,3,4,5,6,7. Graduate student, Assistant Professor, Graduate students, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam University.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Karamreza2008@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۳)

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ توده آژیلوپس تاؤشوی با استفاده از ۱۷ جفت نشانگر ریزماهواره، در مجموع تعداد ۷۱ آل شناسایی شد که ۶۹ آل دارای چندشکلی بودند. میانگین تعداد آل در کل لوکوس‌ها برابر ۴/۶ و میانگین محتوای چندشکلی مقدار ۶۵۴٪ بود. بیشترین میزان عدم تشابه بین دو ژنوتیپ ۳ و ۱۲ و کمترین میزان عدم تشابه بین دو ژنوتیپ ۲ و ۱۰ مشاهده شد. بیشترین و کمترین فاصله ژنتیکی به ترتیب در روش دایس مقدار ۰/۸۵ و ۰/۲۶۵ و در روش جاکارد ۰/۹۲ و ۰/۴۲ محاسبه شد. بررسی میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ-ها نشان داد که ژنوتیپ‌های ایرانی تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های خارجی دارند و در بین آن‌ها، ژنوتیپ‌های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) به ویژه ژنوتیپ‌های استان مازندران متنوع‌ترند. بنابراین ژنوتیپ‌های نواحی شمال ایران به ویژه مازندران مرکز تنوع ژنوتیپ‌ها و خاستگاه اصلی گونه آژیلوپس تاؤشوی بوده و به نظر می‌رسد این گونه از این نقاط به سایر مناطق انتقال یافته است.

واژه‌های کلیدی

آژیلوپس تاؤشوی،
تنوع ژنتیکی،
چندشکلی،
گندم،
نشانگر ریزماهواره.

مواد و روش ها

مواد گیاهی در این تحقیق از ۳۰ جمیعت آژیلوپس تائوشا از دو زیر گونه تائوشا و استرانگولاتا استفاده شد (جدول ۱). پس از کاشت بذور، ژنوتیپ ها در داخل گلدان، استخراج DNA به صورت تک گیاه از گیاهچه های ۲ تا ۳ هفته ای بر اساس روش

جدول ۱- مشخصات جمیعت های *Aegilops tauschii* مورد استفاده

شماره	زیر گونه	محل جمع آوری
1	<i>tauschii</i>	مازندران- شهرستان نوشتر
2	<i>tauschii</i>	شهر رامسر- حومه ایران خودرو
3	<i>tauschii</i>	دشت مغان
4	<i>tauschii</i>	ورودی جاده زنجان- تهران
5	<i>tauschii</i>	۳۰ کیلومتری اهر کلیبر- ۳۰ تا کلیبر
6	<i>tauschii</i>	کیلومتر ۵ جاده قدیم سرعین- اردبیل
7	<i>strangulata</i>	مازندران- آمل
8	<i>tauschii</i>	مازندران- آمل
9	<i>tauschii</i>	۴۰ کیلومتری جاده کرج- چالوس
10	<i>tauschii</i>	۴۰ کیلومتری چالوس- جاده کرج- چالوس
11	<i>tauschii</i>	جاده کرج- چالوس
12	<i>tauschii</i>	ایران
13	<i>tauschii</i>	جاده سلمان شهر- رامسر ۵ کیلومتر تا رامسر
14	<i>strangulata</i>	-
15	<i>tauschii</i>	جمهوری آذربایجان
16	<i>tauschii</i>	شهرستان رشت
17	<i>tauschii</i>	جاده اردبیل- سرعین ۱۵ کیلومتری سرعین
18	<i>tauschii</i>	جاده آستارا- اردبیل- گردنه حیران
19	<i>strangulata</i>	۳۰ کیلومتری اهر کلیبر- ۳۰ تا کلیبر
20	<i>tauschii</i>	جاده اردبیل- سرعین ۱۵ کیلومتری سرعین
21	<i>strangulata</i>	جاده گلواه بندر بهشهر ۲۰- کیلومتری بهشهر
22	<i>tauschii</i>	ارمنستان
23	<i>tauschii</i>	اردبیل- روستای حیران
24	<i>tauschii</i>	۱۰ کیلومتری جاده اهر- تبریز
25	<i>strangulata</i>	گیلان- جاده کوچصفهان- رشت
26	<i>tauschii</i>	اردبیل- روستای حیران
27	<i>tauschii</i>	شهرستان نور
28	<i>strangulata</i>	ترکمنستان
29	<i>tauschii</i>	چالوس- روپروری داشنگاه آزاد
30	<i>tauschii</i>	تائوشا- جاده تالش آستارا- ۳ کیلومتر تا آستارا

مقدمه

آژیلوپس تائوشا (*Aegilops tauschii*) گونه ای دیپلوبید (2n=2x=14, DD) است که دهنده ژنوم D به گندم نان (*Triticum aestivum*) (Dudnikov 2000) است. مرکز تنوع آن جنوب دریای خزر است که از غرب به ترکیه و از شرق به افغانستان و شمال محدود می شود توزیع آن در ایران، شمال غربی، شمال شرقی و همچنین مرکز ایران می باشد (Slagere 1994). آژیلوپس تائوشا دارای دو زیر گونه تائوشا و استرانگولاتا است (Eig 1929). مشخص شده که زیر گونه استرانگولاتا نسبت به زیر گونه تائوشا به گندم نان نزدیک تر است (Pestsova et al. 2000). مطالعات متعددی حاکی از تنوع ژنتیکی زیاد در این گونه است. Saeidi et al. (2006) با مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۷ جمیعت آژیلوپس تائوشا با استفاده از نشانگرهای ریز ما هواره، سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در این گونه مشاهده کردند (Naghavi et al. 2010) با بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوم D گندم زراعی و گونه های آژیلوپس دارای این ژنوم با استفاده از ۲۱ نشانگر ریز ما هواره، بیشترین تنوع ژنتیکی را برای آژیلوپس تائوشا نیزه گرفتند. Tahernezhad et al. (2010) نیز با مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۸ جمیعت ایرانی آژیلوپس تائوشا با استفاده از صفات مورفو لوژیک و نشانگرهای ریز ما هواره، چند شکل زیادی را در این گونه مشاهده کردند. Naghavi et al. (2010) با بررسی تنوع ژنتیکی جمیعت های آژیلوپس تائوشا شمال ایران، نشان دادند که بیشترین تنوع ژنتیکی مربوط به زیر گونه تائوشا است و فاصله ژنتیکی بین دو زیر گونه تائوشا و استرانگولاتا کم است. از جمله اهداف این تحقیق می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- برآورد تنوع ژنتیکی آژیلوپس تائوشا برای شناسایی و اهداف اصلاحی؛
- شناسایی و معرفی نشانگرهای ریز ما هواره چند شکل در آژیلوپس تائوشا که قابلیت انتقال به جمیعت های اصلاحی گندم نان را داشته باشند؛
- مطالعه وضعیت و ساختار تنوع ژنتیکی درون و بین جمیعت های آژیلوپس تائوشا به منظور تعیین مرکز تنوع و پراکنش این گونه دیپلوبید؛
- بررسی اشتراق ژنتیکی دو زیر گونه تائوشا و استرانگولاتا.

در بین لوکوس های دارای چندشکلی لوکوس های Xgwm111-7d و Xgwm649-6d با ۷ آلل بیشترین و لوکوس Xgwm33-1d با ۲ آلل کمترین تعداد را در میان آلل های تولیدی توسط هر آغازگر داشتند.

تعداد کل باندهای مشاهده شده (هر باند به منزله یک آلل) در ۳۰ ژنوتیپ برابر با ۵۸۹ بود. ژنوتیپ شماره ۱۱ با ۲۸ آلل بیشترین و ژنوتیپ شماره ۱ با ۱۳ آلل کمترین تعداد آلل را در گیاه در تمام جایگاهها داشتند. حداکثر پلی مورفیسم آللی در میان ۷ گروه همیولوگ در گروه های همیولوگ ۶ و ۷ حداقل پلی مورفیسم آللی در گروه همیولوگ ۱ مشاهده شد. Tahernezhad et al. (2010) با استفاده از ۱۹ مکان ریز ماهواره، ۲۰۸ آلل را در بین ۲۸ توده آژیلوپس تائوشی شناسایی کردند که متوسط آلل برای هر لوکوس ۱۰/۹۴ بدست آمد. Saeidi et al. (2006) نیز با استفاده از ۱۲ مکان ریز ماهواره، ۶۶ آلل را در بین ۵۷ توده آژیلوپس تائوشی شناسایی کردند که متوسط آلل را برای هر لوکوس ۷/۳ گزارش کردند. در مطالعه Naghavi et al. (2010) با استفاده از ۹ مکان ریز ماهواره، ۱۴۱ آلل شناسایی شد که متوسط آلل را برای هر لوکوس ۱۵/۷ بود. همچنین تعداد آلل ها برای هر لوکوس را در زیرگونه تائوشی از ۸ تا ۲۰ و برای زیرگونه استرانگولاتا از ۵ تا ۱۱ گزارش کردند. Wang et al. (2010) نیز با استفاده از ۲۱۱ مکان ریز ماهواره و ۷۸ توده از جمعیت تائوشی، ۳۰۸ آلل را شناسایی کردند که متوسط آلل را برای هر لوکوس ۸/۱۴ بود. با مطالعه تنوع ژنتیکی ۸۶ نمونه تائوشی جمع آوری شده از نواحی شمال ایران با استفاده از ۱۰ مکان ریز ماهواره، در مجموع ۱۴۰ آلل را مشخص کردند که دارای دامنه آلل بین ۹ تا ۲۵ آلل بودند و میانگین ۱۵/۵ آلل برای هر لوکوس بود.

میانگین تعداد آلل در کل لوکوسها برابر با ۴/۶ و با نتایجی که در مطالعات قبلی توسط Christiansen et al. (2002)، تعداد آللها از یک تا هفت متغیر بود و با متوسط ۳/۶ آلل برای هر نشانگر ریز- ماهواره، Stodart et al. (2005)، از ۳ تا ۲۹ آلل و به طور متوسط ۱۰ آلل و Maccaferri et al. (2003)، تعداد آلل را از ۲ تا ۱۲ و میانگین ۵/۶ (Agrama et al. 2003) با میانگین ۴/۵ گزارش داده بودند مطابقت می نمود.

CTAB با کمی تغییر انجام گرفت. همچنین تعیین کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آکارز ۰/۸ درصد، انجام شد. پس از انجام واکنش PCR (جدول ۲)، الکتروفورز DNA تکثیری بر روی ژل آکارز ۳ درصد با بافر واکنش TBE صورت گرفت و ژل را جهت رنگ آمیزی در محلول اتیدیوم بروماید قرار داده و از دستگاه ترانس لومیناتور جهت نمایان شدن باندها استفاده شد. کلیه مواد به جز DNA و آب مقطر از شرکت ژن فن آوران (نماینده شرکت COPENHAGEN TAG دانمارک) تهیه شد و انتخاب آغازگرها براساس مطالعات Roder et al. (1998) صورت گرفت.

جدول ۲- چرخه حرارتی PCR استفاده شده در این آزمایش

تعداد چرخه	زمان (دقیقه)	درجه حرارت (°C)	مرحله
۱	۵ دقیقه	۹۵	واسرشت سازی (تک رشته ای شدن) اولیه
	۳۰ ثانیه	۹۵	واسرشت سازی
۳۵	۳۰ ثانیه	۶۰.۵۵۵	اتصال آغازگر به DNA تک رشته ای
	۶۰ ثانیه	۷۲	بسط (توسعه) آغازگر
۱	۵ دقیقه	۷۲	بسط (توسعه) نهایی

* دمای سرپوش ۱۰۳°C ۱۰۳ انتخاب شد.

تجزیه و تحلیل داده ها بعد از امتیازبندی باندها به صورت صفر و یک داده های حاصله با استفاده از نرم افزارهای EXCEL، MAGA 3.1 و DARWIN، EXCEL STAT تجزیه شد.

نتایج و بحث

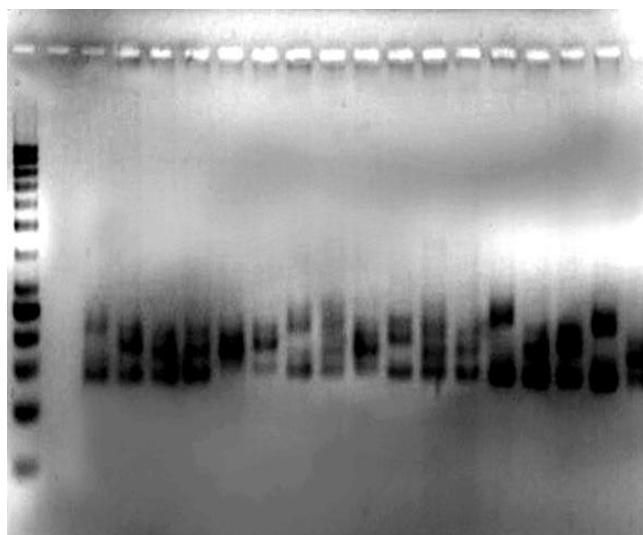
تنوع ژنتیکی ۳۰ جمعیت از دو زیرگونه گندم آژیلوپس تائوشی با استفاده از نشانگر ریز ماهواره بررسی شد. امتیازبندی باند به صورت حضور (یک) و عدم حضور (صفراً) برای هر باند انجام گرفت و سپس فاصله ژنتیکی و محتوا چندشکلی (PIC) در لوکوس های ریز ماهواره مورد استفاده در تمام ژنوتیپ های مورد آزمایش بررسی شد و از ۲۱ لوکوس مورد بررسی تعداد ۱۵ لوکوس تکثیر شده چندشکلی مناسب از خود نشان دادند (شکل ۱) البته ۲ لوکوس نیز باندهای منومرف نشان دادند و در مجموع تعداد ۷۱ آلل شناسایی شد که ۶۹ آلل آن دارای چندشکلی بودند.

لوکوس، محتوای n(GT) در نواحی تکرار شونده (Prasad et al. 2000)، و تعداد ژنوتیپ و تعداد آغازگر ریزماهواره دارد. به طوری که Roder et al. (1995) میانگین محتوای چندشکلی را در تحقیقی با ۱۸ ژنوتیپ و ۱۵ آغازگر در گندم ۰/۶۳ و همین مقدار را زمانی که تعداد ژنوتیپ‌ها را به عدد ۶ رساندند، ۰/۵۴ به دست آوردند.

ضریب عدم تشابه ژنوتیپ‌ها به روش Daice (1945) با استفاده از نرمافزار DARwin محاسبه (جدول ۴ و ۵) و تجزیه خوش‌های با الگوریتم UPGMA انجام شد (شکل ۲ و ۳). بیشترین میزان عدم تشابه در روش دایس بین ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۲ با ۸۵ درصد و کمترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۲ با ۰/۲۶۵ مشاهده گردید. در روش جاکارد بیشترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۲ با ۰/۹۲ و کمترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۰ با ۰/۴۲ مشاهده شد. ژنوتیپ‌های ۳ و ۱۲ که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی هستند هر دو جزء

جدول ۳- نام مکان ریزماهواره، تعداد آلل، دمای اتصال آغازگر و محتوای چندشکلی

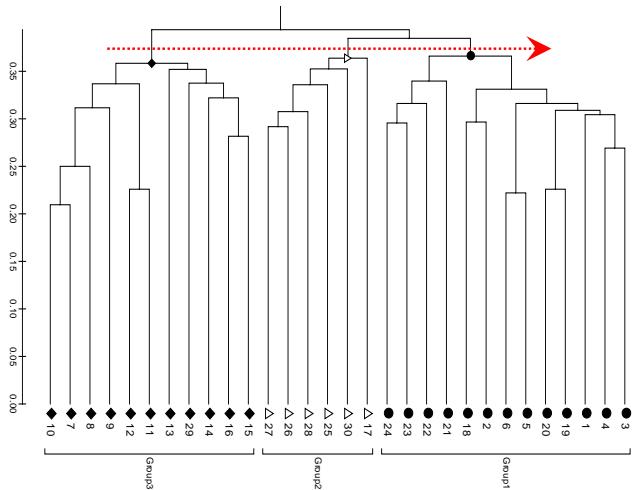
PIC-Value	دما اتصال	تعداد آلل	نام لوکوس	شماره آغازگر	ردیف
۰/۷۰۳	۵۰	۴	Xgwm16-5d	۲	۱
۰/۵۹۲	۶۰	۳	Xgwm30-2d	۳	۲
۰/۳۷۵	۶۰	۲	Xgwm33-1d	۴	۳
۰/۵۹۲	۶۰	۳	Xgwm44-7d	۵	۴
۰/۸۳۹	۵۵	۷	Xgwm111-7d	۷	۵
۰/۷۰۳	۵۰	۴	Xgwm121-7d	۸	۶
۰/۷۶۸	۶۰	۵	Xgwm271-5d	۹	۷
۰/۷۶۸	۵۵	۵	Xgwm320-2d	۱۰	۸
۰/۰۰۰	۶۰	۱	Xgwm325-6d	۱۱	۹
۰/۷۶۸	۵۵	۵	Xgwm341-3d	۱۲	۱۰
۰/۷۰۳	۶۰	۴	Xgwm383-3d	۱۳	۱۱
۰/۸۳۹	۶۰	۷	Xgwm469-6d	۱۴	۱۲
۰/۷۰۳	۶۰	۴	Xgwm539-2d	۱۵	۱۳
۰/۷۶۸	۶۰	۵	Xgwm608-4d	۱۶	۱۴
۰/۰۰۰	۶۰	۱	Xgwm642-1d	۱۸	۱۵
۰/۷۶۸	۵۵	۵	Xgwm337-1d	۲۰	۱۶
۰/۷۰۳	۵۰	۴	Xgwm624-4d	۲۱	۱۷



شکل ۱- مکان ریزماهواره تکثیر شده (لوکوس xgwm33-1d)

محتوای چندشکلی هر لوکوس ریزماهواره در تمام جمعیت‌ها محاسبه شد. در این تحقیق بیشترین محتوای چندشکلی در بین لوکوس‌های دارای چندشکلی با مقدار ۰/۸۳۹ مربوط به لوکوس-های Xgwm649-6d و Xgwm111-7d و کمترین میزان با مقدار ۰/۳۷۵ مربوط به لوکوس Xgwm33-1d می‌باشد (جدول ۳).

میانگین محتوای چندشکلی مقدار ۰/۶۵۴ بود که با نتایج گزارش شده در مطالعات قبلی مکان‌های ریزماهواره در گندم، توسط Roder et al. (1995) با مقدار ۰/۲۳ تا ۰/۷۹ و میانگین ۰/۷۱، Prasad et al. (2000) از Plaschke et al. (1995)، با میانگین ۰/۷۱ از Agrama et al. (2003) از ۰/۲۳ تا ۰/۸۱ و با Tahernezhad et al. (2010) نیز میانگین ۰/۶۲ گزارش شده مطابقت داشت. میانگین ۰/۶۲ گزارش کردند. در مطالعه Saeidi et al. (2006) میانگین محتوای چندشکلی ۰/۵۹۱ و تعداد کل باندهای چندشکلی را از ۵ تا ۱۷ بدست آوردند و تعداد کل باندهای چندشکلی را از ۰/۲۶۷ تا ۰/۶۷۱ گزارش کردند. در مطالعه Li Jun et al. (2007) با بررسی تنوع ژنتیکی ۸۵ توده از این گونه با استفاده از ۲۲ مکان ریز ماهواره، نتیجه گرفت که دامنه محتوای چندشکلی این مارکرها از ۰/۳۳۸۵ تا ۰/۸۱۲۹ است. در مطالعه Haji Karam et al. (2011) دامنه محتوای چندشکلی از ۰/۱۶ تا ۰/۳۸ بود. نتایج مطالعات انجام شده در این مورد و همچنین این تحقیق بیانگر این است که محتوای چندشکلی همبستگی مثبتی با عواملی مثل تعداد آلل تولیدی توسط هر



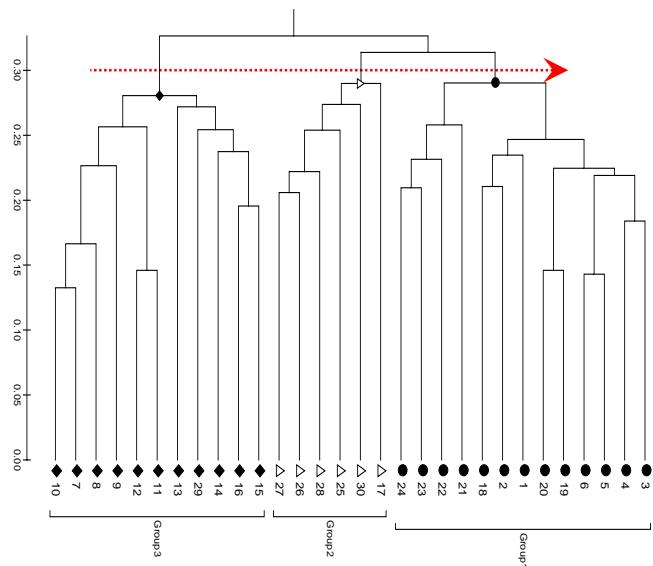
شکل ۳- گروه بندی ۳۰ ژنوتیپ گندم نیای تائوشی، با استفاده از ۶۹ باند نمره‌دهی شده از ۱۷ مکان نشانگرهای ریزماهواره (الگوریتم UPGMA براساس ماتریس عدم تشابه جاکارد).

خط برش دندروگرام‌های حاصل جایی قرار گرفت که تنوع درون گروه‌ها کمتر از تنوع بین آنها باشد، در نتیجه کلیه ژنوتیپ‌ها در سه گروه مستقل قرار گرفتند. در روش دایس بیشترین متوسط فاصله بین گروه‌های ۱ و ۲ با 0.654 ± 0.023 و کمترین فاصله بین دو گروه ۱ و ۳ با 0.537 ± 0.023 مشاهده شد. در این روش بیشترین متوسط فاصله درون گروهی با 0.507 ± 0.010 در گروه دوم و کمترین متوسط فاصله درون گروهی با 0.400 ± 0.007 در گروه اول مشاهده شد.

محاسبه متوسط فاصله خالص میان گروه‌ها جهت برآورد میزان نزدیکی گروه‌ها به همدیگر نشان داد که دو گروه ۱ و ۳ با 0.106 ± 0.012 دارای کمترین فاصله (بیشترین قربان) و گروه‌های ۱ و ۲ با 0.132 ± 0.010 دارای قربان کمتری هستند. بیشترین فاصله در گروه اول براساس روش دایس بین ژنوتیپ‌های ۱۸ و ۲۱ و 0.286 ± 0.072 مشاهده شد، در روش جاکارد نیز همین ژنوتیپ‌ها به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فاصله به میزان 0.84 ± 0.44 و 0.44 ± 0.04 بودند. در گروه دوم براساس روش دایس ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۳۰ با 0.688 ± 0.020 دارای بیشترین فاصله و ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۲۶ و 0.27 ± 0.01 دارای کمترین فاصله با 0.412 ± 0.010 بودند اما در روش جاکارد ژنوتیپ‌های ۲۸ و ۱۷ و 0.58 ± 0.010 بیشترین فاصله را با 0.81 ± 0.010 و ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۲۶ و 0.58 ± 0.010 کمترین فاصله را با 0.412 ± 0.010 نشان دادند. در گروه سوم

ژنوتیپ‌های داخل کشور می‌باشند. در مطالعه Tahernezhad et al. (2010) دامنه ضرایب جاکارد بین ۰/۲۳ تا ۰/۷۳ بود.

در بین ژنوتیپ‌های خارج از کشور (۱۴، ۱۵، ۲۲ و ۲۸) در روش دایس و جاکارد بیشترین فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ ۱۴ و ۱۵ و کمترین فاصله مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۱۵ می‌باشد که فاصله ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۲۸ در روش دایس 0.789 ± 0.088 و در روش دایس 0.450 ± 0.088 می‌باشد. کمترین فاصله در روش دایس 0.480 ± 0.062 بوده که در بین ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۱۵ مشاهده شد. گروه‌بندی ۳۰ ژنوتیپ گندم آژیلوپس با استفاده از دندروگرام تهیه شده با 0.69 ± 0.069 آلل تولید شده از ۱۷ مکان نشانگرهای ریزماهواره انجام شد (شکل‌های ۲ و ۳). فاصله ژنتیکی محاسبه شده با ضرایب دایس در مطالعه Naghavi et al. (2009) بین 0.48 ± 0.24 بود که نتیجه گرفتند که فاصله ژنتیکی بین زیرگونه استرانگولاتا و گندم نان کمتر از زیرگونه تائوشی است. Haji Karam et al. (2011) با استفاده از ضرایب دایس، بیشترین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌ها (0.88 ± 0.01) را مربوط به استان‌های قزوین و گیلان و کمترین شباهت ژنتیکی (صفرا) را در تعدادی از نمونه‌ها مشاهده کردند. میانگین شباهت ژنتیکی هم 0.101 ± 0.001 بودست آمد.



شکل ۲- گروه بندی ۳۰ ژنوتیپ گندم نیای تائوشی، با استفاده از ۶۹ باند نمره‌دهی شده از ۱۷ مکان نشانگرهای ریزماهواره (الگوریتم UPGMA براساس ماتریس عدم تشابه دایس).

ژنوتیپ های ۱ و ۱۶، ۸ و ۲۵ با ۰/۷۸۹ و کمترین فاصله بین دو ژنوتیپ ۷ و ۱۰ با ۰/۲۶۵ مشاهده شد. روش جاکارد نیز بیشترین فاصله را در بین ژنوتیپ های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) در بین ژنوتیپ های ۱۶ و ۸ با ۰/۸۸ و کمترین فاصله را بین دو ژنوتیپ ۷ و ۱۰ با ۰/۴۲ نشان داد. همچنین در بین ژنوتیپ های نواحی شمال غرب (اردبیل و آذربایجان شرقی) براساس روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ های ۲۶ و ۲۶ با ۰/۷۰۶ و کمترین فاصله بین ژنوتیپ های ۵ و ۶ با ۰/۲۸۶ مشاهده شد. روش جاکارد نیز بیشترین و کمترین فاصله را بین همین ژنوتیپ ها به ترتیب با ۰/۸۳ و ۰/۴۴ نشان داد. به طور کلی ژنوتیپ های جمع آوری شده در نواحی شمالی (مازندران و گیلان) تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ های جمع آوری شده نواحی شمال غرب (اردبیل و آذربایجان شرقی) نشان دادند. در بین ژنوتیپ های استان مازندران دارای تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ های استان گیلان بودند و نمونه های این استان در هر سه گروه قرار داشتند. بنابراین نواحی شمالی به ویژه استان مازندران مرکز تنوع و خاستگاه اصلی آژیلوپس تائوشی می باشد و این گونه از این نقاط به سایر مناطق انتقال یافته است که لزوم توجه به ژرم پلاسم این مناطق را ایجاب می نماید. که با نتایج تحقیقات قبلی که مرکز تکامل واهلي شدن گندم را غرب ایران و شرق عراق بیان کرده اند مطابقت دارد. Saeidi et al. (2006) نیز با بررسی ۵۶ توده آژیلوپس تائوشی توسط نشانگر مولکولی میکرو ساتلایت بیشترین تنوع ژنتیکی را ناحیه شمال ایران بیان کرده اند. همچنین سطح بالای تنوع ژنتیکی آژیلوپس تائوشی در ایران توسط (Dvorak et al. 1991) (Lubbers et al. 1998) و Pestsova et al. 2000) نیز گزارش شده است. تجزیه کلاستر براساس هر دو روش دایس و جاکارد نشان داد که به طور مشخص نمی توان بین این دو زیر گونه تفکیک خاصی در نظر گرفت و ژنوتیپ های هر دو زیر گونه در داخل هر سه گروه قرار گرفتند. به عبارت دیگر با استفاده از این آغازگرها در جمعیت مورد بررسی هیچ گونه اشتراقی بین دو زیر گونه تائوشی و استرانگولاتا حاصل نشده که دلیل آن می تواند ناکافی بودن تعداد آغازگرها باشد.

بیشترین فاصله بین دو ژنوتیپ ۸ و ۱۴ در هر دو روش دایس و جاکارد به ترتیب با ۰/۷۳۷ و ۰/۸۵ و کمترین فاصله بین ژنوتیپ های ۷ و ۱۰ در هر دو روش دایس و جاکارد به ترتیب با ۰/۲۶۵ و ۰/۴۲ مشاهده شد.

بر اساس تجزیه کلاستر از ۷ ژنوتیپ مورد بررسی استان اردبیل ۵ ژنوتیپ ۳، ۶، ۱۸، ۲۰ و ۲۳ در گروه اول و دو ژنوتیپ ۱۷ و ۲۶ در گروه دوم قرار گرفتند، همچنین براین اساس از ۱۲ ژنوتیپ مورد بررسی استان مازندران ۸ ژنوتیپ ۲۹ و ۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۹، ۸، ۷ و ۶ در گروه سوم و ژنوتیپ ۲۷ در گروه دوم و ۳ ژنوتیپ ۲۱، ۲ و ۲۱ در گروه اول قرار گرفتند. تجزیه کلاستر از ۳ ژنوتیپ استان گیلان ژنوتیپ ۱۶ را در گروه سوم و ۲ ژنوتیپ ۲۵ و ۳۰ را در گروه دوم قرار داد. هر ۳ ژنوتیپ ۵، ۱۹ و ۲۴ استان آذربایجان شرقی در گروه اول قرار گرفتند. ژنوتیپ ۱۵ از جمهوری آذربایجان و ۱۴ از سوئد در گروه سوم، ژنوتیپ ۲۸ از ترکمنستان در گروه دوم و ژنوتیپ ۲۲ از ارمنستان در گروه اول جای گرفتند. براساس روش دایس بین ژنوتیپ های استان اردبیل بیشترین فاصله را ژنوتیپ های ۱۸ و ۲۶ با ۰/۷۰۶ و کمترین فاصله را ژنوتیپ های ۱۷ و ۲۶ با ۰/۴۱۲ نشان دادند در روش جاکارد همین ژنوتیپ ها به ترتیب بیشترین و کمترین فاصله را با ۰/۸۳ و ۰/۵۸ نشان دادند. در روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ های استان مازندران در بین ژنوتیپ های ۱۳ و ۱۳ با ۰/۷۷۱ و کمترین فاصله بین ژنوتیپ های ۷ و ۱۰ با ۰/۲۶۵ مشاهده شد.

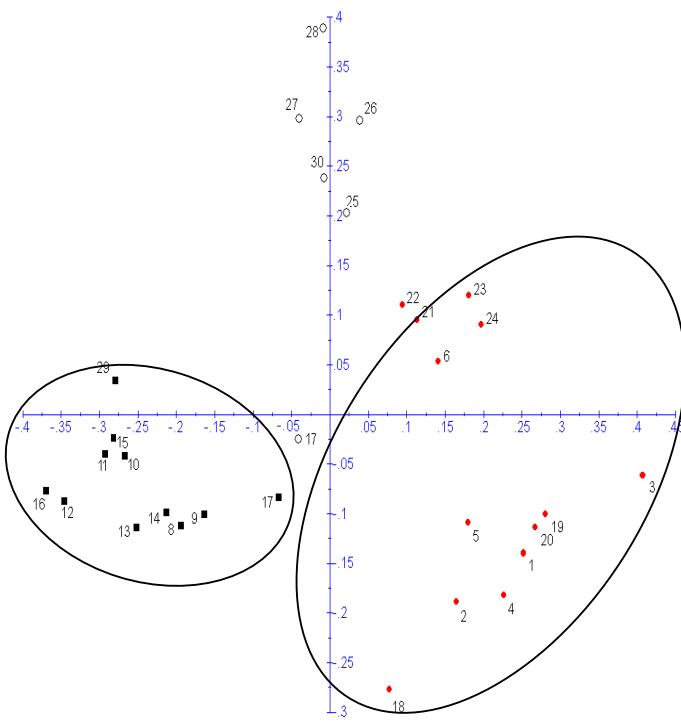
روش جاکارد بیشترین فاصله را بین دو ژنوتیپ ۲ و ۱۳ با ۰/۸۷ و کمترین فاصله را بین ژنوتیپ های ۱۰ و ۷ با ۰/۴۲ نشان داد. در روش دایس بیشترین فاصله در بین ژنوتیپ های استان گیلان مربوط به ژنوتیپ های ۱۶ و ۳۰ با ۰/۷۴۴ و ۰/۷۴۴ و کمترین فاصله مربوط به دو ژنوتیپ ۲۵ و ۳۰ با ۰/۶۳۶ می باشد. در روش جاکارد همین ژنوتیپ ها به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فاصله با ۰/۸۵ و ۰/۷۸ می باشند. بین ژنوتیپ های استان آذربایجان شرقی براساس روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ ۵ و ۲۴ با ۰/۵۲۶ و ۰/۵۲۶ کمترین فاصله بین دو ژنوتیپ ۵ و ۱۹ با ۰/۴۲۲ مشاهده شد. اما روش جاکارد بیشترین و کمترین فاصله را به ترتیب بین همین ژنوتیپ های با ۰/۶۹ و ۰/۵۹ نشان داد. براساس روش دایس در بین ژنوتیپ های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) بیشترین فاصله بین

جدول ۴- ضرایب عدم تشابه میان ۳۰ ژنوتیپ گندم‌نیای تائوشی، محاسبه شده با روش دایس (نی)

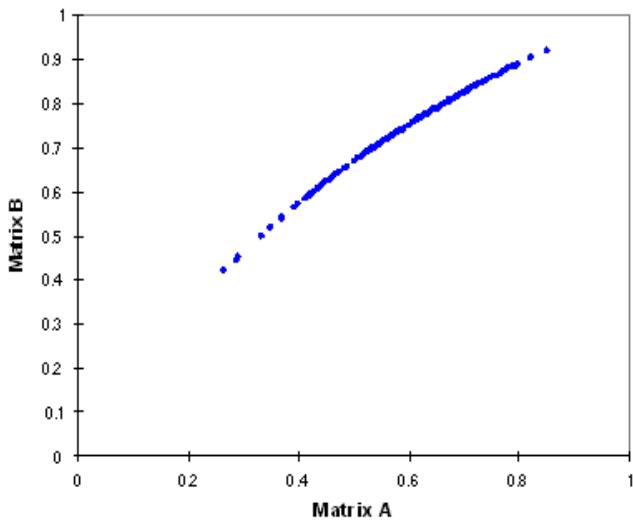
Dice	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
2	0.455																												
3	0.394	0.450																											
4	0.484	0.421	0.368																										
5	0.543	0.429	0.429	0.400																									
6	0.515	0.600	0.450	0.474	0.286																								
7	0.611	0.488	0.628	0.561	0.467	0.488																							
8	0.750	0.487	0.744	0.622	0.561	0.641	0.333																						
9	0.571	0.600	0.771	0.515	0.514	0.486	0.474	0.471																					
10	0.744	0.565	0.739	0.636	0.542	0.609	0.265	0.333	0.415																				
11	0.707	0.625	0.750	0.696	0.560	0.500	0.529	0.489	0.442	0.370																			
12	0.697	0.600	0.850	0.684	0.714	0.700	0.674	0.436	0.600	0.565	0.292																		
13	0.571	0.771	0.771	0.758	0.730	0.714	0.526	0.588	0.533	0.610	0.535	0.543																	
14	0.688	0.641	0.744	0.784	0.659	0.590	0.619	0.737	0.529	0.600	0.447	0.590	0.588																
15	0.706	0.707	0.756	0.692	0.721	0.659	0.500	0.600	0.667	0.617	0.673	0.610	0.500	0.450															
16	0.789	0.689	0.822	0.674	0.660	0.733	0.542	0.591	0.650	0.529	0.509	0.422	0.500	0.500	0.391														
17	0.677	0.579	0.526	0.556	0.550	0.579	0.659	0.622	0.515	0.636	0.522	0.632	0.636	0.568	0.590	0.535													
18	0.484	0.421	0.526	0.611	0.450	0.632	0.561	0.568	0.697	0.591	0.696	0.684	0.636	0.622	0.590	0.628	0.556												
19	0.500	0.488	0.349	0.512	0.422	0.488	0.565	0.619	0.737	0.633	0.608	0.767	0.684	0.714	0.682	0.792	0.610	0.512											
20	0.421	0.467	0.422	0.488	0.447	0.467	0.500	0.636	0.650	0.608	0.585	0.733	0.650	0.682	0.652	0.800	0.628	0.442	0.292										
21	0.613	0.474	0.579	0.611	0.600	0.632	0.415	0.622	0.697	0.591	0.652	0.684	0.636	0.730	0.641	0.721	0.722	0.610	0.442										
22	0.548	0.579	0.632	0.611	0.700	0.684	0.561	0.622	0.697	0.682	0.609	0.684	0.636	0.730	0.641	0.628	0.667	0.722	0.561	0.581	0.500								
23	0.643	0.600	0.600	0.576	0.568	0.543	0.632	0.765	0.733	0.707	0.581	0.771	0.733	0.529	0.667	0.700	0.636	0.697	0.526	0.500	0.576	0.455							
24	0.586	0.556	0.500	0.471	0.526	0.556	0.538	0.657	0.613	0.667	0.591	0.778	0.742	0.657	0.622	0.707	0.588	0.647	0.436	0.463	0.471	0.471	0.419						
25	0.625	0.641	0.692	0.730	0.610	0.487	0.714	0.789	0.647	0.733	0.617	0.641	0.706	0.579	0.650	0.682	0.622	0.622	0.667	0.545	0.730	0.622	0.588	0.657					
26	0.655	0.556	0.611	0.647	0.632	0.500	0.590	0.657	0.613	0.571	0.636	0.722	0.742	0.714	0.676	0.659	0.412	0.706	0.692	0.659	0.529	0.647	0.548	0.563	0.429				
27	0.742	0.632	0.579	0.667	0.600	0.579	0.561	0.622	0.697	0.500	0.652	0.684	0.636	0.784	0.590	0.628	0.500	0.722	0.610	0.721	0.611	0.611	0.636	0.588	0.568	0.412			
28	0.688	0.744	0.692	0.784	0.610	0.538	0.571	0.526	0.647	0.511	0.617	0.692	0.765	0.789	0.700	0.773	0.676	0.730	0.667	0.636	0.568	0.568	0.588	0.543	0.526	0.429	0.459		
29	0.750	0.641	0.795	0.676	0.659	0.590	0.476	0.526	0.529	0.511	0.532	0.487	0.588	0.526	0.500	0.500	0.568	0.622	0.667	0.682	0.676	0.784	0.765	0.600	0.632	0.657	0.514	0.526	
30	0.556	0.706	0.647	0.688	0.556	0.529	0.676	0.697	0.655	0.650	0.619	0.647	0.655	0.636	0.600	0.744	0.688	0.750	0.676	0.641	0.563	0.625	0.724	0.600	0.636	0.600	0.500	0.455	0.576

جدول ۵- ضرایب عدم تشابه میان ۳۰ ژنوتیپ گندم نیای تاثرشنی، محاسبه شده با روش جاکارد

Jac	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
2	0.63																												
3	0.57	0.62																											
4	0.65	0.59	0.54																										
5	0.7	0.6	0.6	0.57																									
6	0.68	0.75	0.62	0.64	0.44																								
7	0.76	0.66	0.77	0.72	0.64	0.66																							
8	0.86	0.66	0.85	0.77	0.72	0.78	0.5																						
9	0.73	0.75	0.87	0.68	0.68	0.65	0.64	0.64																					
10	0.85	0.72	0.85	0.78	0.7	0.76	0.42	0.5	0.59																				
11	0.83	0.77	0.86	0.82	0.72	0.67	0.69	0.66	0.61	0.54																			
12	0.82	0.75	0.92	0.81	0.83	0.82	0.81	0.61	0.75	0.72	0.45																		
13	0.73	0.87	0.87	0.86	0.84	0.83	0.69	0.74	0.7	0.76	0.7	0.7																	
14	0.81	0.78	0.85	0.88	0.79	0.74	0.76	0.85	0.69	0.75	0.62	0.74	0.74																
15	0.83	0.83	0.86	0.82	0.84	0.79	0.67	0.75	0.8	0.76	0.8	0.76	0.67	0.62															
16	0.88	0.82	0.9	0.81	0.79	0.85	0.7	0.74	0.79	0.69	0.68	0.59	0.59	0.67	0.67	0.56													
17	0.81	0.73	0.69	0.71	0.71	0.73	0.79	0.77	0.68	0.78	0.69	0.77	0.78	0.72	0.74	0.7													
18	0.65	0.59	0.69	0.76	0.62	0.77	0.72	0.72	0.82	0.74	0.82	0.81	0.78	0.77	0.74	0.77	0.71												
19	0.67	0.66	0.52	0.68	0.59	0.66	0.72	0.76	0.85	0.78	0.76	0.87	0.81	0.83	0.81	0.88	0.76	0.68											
20	0.59	0.64	0.59	0.66	0.62	0.64	0.67	0.78	0.79	0.76	0.74	0.85	0.79	0.81	0.79	0.89	0.77	0.61	0.45										
21	0.76	0.64	0.73	0.76	0.75	0.77	0.59	0.77	0.82	0.74	0.79	0.81	0.78	0.84	0.78	0.84	0.84	0.84	0.76	0.61									
22	0.71	0.73	0.77	0.76	0.82	0.81	0.72	0.77	0.82	0.81	0.76	0.81	0.78	0.84	0.78	0.77	0.8	0.84	0.72	0.74	0.67								
23	0.78	0.75	0.75	0.73	0.72	0.7	0.77	0.87	0.85	0.83	0.74	0.87	0.85	0.69	0.8	0.82	0.78	0.82	0.69	0.67	0.73	0.63							
24	0.74	0.71	0.67	0.64	0.69	0.71	0.7	0.79	0.76	0.8	0.74	0.88	0.85	0.79	0.77	0.83	0.74	0.79	0.61	0.63	0.64	0.64	0.59						
25	0.77	0.78	0.82	0.84	0.76	0.66	0.83	0.88	0.79	0.85	0.76	0.78	0.83	0.73	0.79	0.81	0.77	0.77	0.8	0.71	0.84	0.77	0.74	0.79					
26	0.79	0.71	0.76	0.79	0.77	0.67	0.74	0.79	0.76	0.73	0.78	0.84	0.85	0.83	0.81	0.79	0.58	0.83	0.82	0.79	0.69	0.79	0.71	0.72	0.6				
27	0.85	0.77	0.73	0.8	0.75	0.73	0.72	0.77	0.82	0.67	0.79	0.81	0.78	0.88	0.74	0.77	0.67	0.84	0.76	0.76	0.76	0.78	0.74	0.72	0.58				
28	0.81	0.85	0.82	0.88	0.76	0.7	0.73	0.69	0.79	0.68	0.76	0.82	0.87	0.88	0.82	0.87	0.81	0.84	0.8	0.78	0.72	0.72	0.74	0.7	0.69	0.6	0.63		
29	0.86	0.78	0.89	0.81	0.79	0.74	0.65	0.69	0.69	0.68	0.69	0.66	0.74	0.69	0.67	0.67	0.72	0.77	0.8	0.81	0.81	0.88	0.87	0.75	0.77	0.79	0.68	0.69	
30	0.71	0.83	0.79	0.81	0.71	0.69	0.81	0.82	0.79	0.79	0.76	0.79	0.79	0.78	0.75	0.85	0.81	0.86	0.81	0.78	0.72	0.77	0.84	0.75	0.78	0.75	0.67	0.63	0.73



شکل ۴- بای پلات ۳۰ ژنوتیپ مورد بررسی با استفاده از اطلاعات دو محور مختصات اصلی اول و دوم



شکل ۵- میزان همبستگی دو ماتریس ضرایب عدم تشابه دایس و جاکارد با استفاده از آزمون دو دامنه مانتل

به منظور ارزیابی اطلاعات حاصل از لوکوس‌های ریزماهواره بررسی شده اطلاعات حاصل از نوارهای نمره‌بندی شده این ۱۷ نشانگر ریزماهواره چندشکل با روش تجزیه به مختصات اصلی موردن بررسی تکمیلی قرار گرفت. نتایج این تجزیه آماری (جدول ۶) نشان می‌دهد که محورهای اصلی اول و دوم به ترتیب ۱۸/۶۲ و ۱۰/۹۹ درصد از اطلاعات را در بر داشتند. در مجموع ۸ محور قادر به تبیین بیش از دو سوم از اطلاعات نشانگرها بود. این نتایج بیانگر توزیع مناسب مکان‌های ریزماهواره انتخاب شده در میان ژنوم افراد بررسی شده است. البته در انتخاب آغازگرها این موضوع از قبل مد نظر بود و تلاش شد آغازگرهای مورد استفاده مربوط به نشانگرهایی از ۷ کرموزوم ژنوم D گندم معمولی باشد (Roder et al. 1995) ترسیم بای پلات با دو محور مختصات اصلی اول و دوم که در مجموع ۲۹/۶۱ درصد اطلاعات باندهای نمره دهی شده را در بر داشت، نشان داد که ژنوتیپ‌ها به خوبی از هم تمیز داده شده‌اند (شکل ۴). در مطالعه Hajji Karam et al. (2011) تجزیه به مختصات اصلی نمونه‌های تائوشی، هر دو بعد در مجموع ۱۲ درصد از تغییرات را توجیه می‌کرد که ۶/۵ درصد آن توسط بعد اول و ۵/۵ درصد آن توسط بعد دوم توجیه گردید. چنین استنباط می‌شود که تعداد اندکی نشانگر ریزماهواره اگر پراکنش مناسبی در ژنوم D داشته باشند به خوبی در تفکیک گونه‌های آژیلوپس تائوشی موفق عمل می‌کنند و همچنین برای اختلافات درون‌گونه‌ای، این نشانگر بسیار کاراست. البته جمعیت‌های گندم آژیلوپس استفاده شده وحشی بوده و شاید کفایت این تعداد از نشانگرها در این مورد مربوط به تنوع زیاد موجود در میان ژنوتیپ‌های بررسی شده در این تحقیق باشد. آزمون دودامنه مانتل جهت محاسبه میزان همبستگی دو ماتریس ضرایب عدم تشابه دایس و جاکارد با استفاده از نرم‌افزار XLstat انجام شد و ضریب همبستگی دو ماتریس ۰/۹۹۶ محاسبه شد (شکل ۵).

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از کلیه اساتید و کارکنان دانشگاه ایلام و همچنین دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه تقدير و تشکر نماییم.

منابع

- Agrama Ha Tuinstra Mr (2003) Phylogenetic diversity relationship among sorghum accessions using SSRs RAPDs. African Journal of biotechnology 2: 334-340.
- Ahmad M (2000) Molecular marker-assisted selection of HMW glutenin alleles related to wheat bread quality by PCR-generated DNA markers. Theor Appl Genet 101:892-896.
- Christiansen MJ, Andersen SB, Ortiz R (2002) Diversity changes in an intensively bread wheat germplasm during the 20th century. Molecular Breeding 9: 1-11.
- Dudnikov AJ (2000) Multivariate analysis of genetic variation in *Aegilops tauschii* from the world germplasm collection. Genetic Resources Crop Evolution 47:185-190.
- Dvorak JMC, Luo ZL, Yang HB, Zhang (1998) The structure of *Aegilops tauschii* genepool the ravalotion of hexaploid wheat. Theor Appl Genet 97:657-670.
- Eig A (1929) Monographisch-kritisch Ubersicht der Gattung *Aegilops* Verlag des Repertoriuns, Dahlem bei Berlin.
- Fazeli Nasab B (2004) Evaluation of Molecular Diversity of Wheat Cultivars by SSR Marker. MSc Thesis Tehran University (In Farsi).
- Haji Karam M, Naghavi MR, Taleei AR, Aghaei MJ (2011) Evaluation of Genetic Diversity of *Aegilops tauschii* from Northern Area of Iran Using SSR Markers. Iranian Journal of Biology 24: 390-399 (In Farsi).
- Lubbers EL, Gill KS, Cox TS, Gill BS (1991) Variation of molecular markers among geographically diverse accessions of *Triticum tauschii*. Genome 34: 354-361.
- Maccaferri M, Sanguineti MC, Donini P, Tuberosa R (2003) Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. Theor Appl Genet 107: 783-797.
- Mehrabi A (2007) Evaluation of Genetic Diversity Wild Wheats of IRAN by Diversity Arrays Technology (DART) PhD Thesis Tehran University (In Farsi).
- Naghavi MR, Aghaei MJ, Taleei AR, Omidi M, Mozafari J, Hassani ME (2009) Genetic diversity of the D-genome in *T. aestivum* *Aegilops* species using SSR markers. Genet Resour Crop Evol 56:499-506 (In Farsi).
- Naghavi MR, Hajikram M, Taleei AR, Aghaei MJ (2010) Microsatellite analysis of genetic diversity population genetic structure of *Aegilops tauschii* Coss in Northern Iran. Genet Resour Crop Evol 57:423-430. (In Farsi).
- Pestsova E, Korzun V, Gncharov NP, Hammer K, Ganal MW, Roder MS (2000) Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. Theor Appl Genet 101:100-106.
- Plaschke J, Ganal MW, Roder MS (1995) Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. Theoretical Applied Genetics. 91:1001-1007.
- Prasad M, Varsheny RK, roy JK, Balyan HS, Gupta PK (2000) The use of microsatellite for detection DNA polymorphism· genotype identification genetic diversity in wheat. Theoretical Applied Genetics 100:584-592.
- Röder MS, Korzun V, Wendehake K, Plaschke J, Tixier MH Leroy, P Ganal MW (1998) A Microsatellite Map of Wheat. Genetics 149: 2007-2023.
- Röder MS, Plaschke J, Konig SU, Borner A, Sorrells ME (1995) Abundance, variability chromosomal location of microsatellites in wheat. Mol Gen Genet 246:327-333.
- Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Heslop-Harison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss In Iran measured using microsatellites. Genet Resour Crop Evol 53:1477-1484 (In Farsi).
- Slageren MN Van (1994) Wild wheats: A monograph of *Aegilops* Land Amblyopyrom (Jaub.Spac) Eig Agricultural University, Wageningen the Netherlands.
- Stodart BJ, Machay MH Raman (2005) AFLP SSR analysis of genetic diversity among landraces of bread wheat (*Triticum aestivum* L em Thell) different geographic regions. Australian Journal of Agricultural Research 56: 691-697.
- Tahernezhad Z, Zamani MJ, Solouki M, Zahraei M, Imamjomeh AA, Aghaei MJ, Bihamta MR (2010) Genetic diversity of Iranian *Aegilops tauschii* Coss using microsatellite molecular markers morphological traits. Mol Biol Rep 37:3413-3420 (In Farsi).
- Wang Y Wang Ch, Liu X, Ji W (2010) Genetic diversity of *Aegilops tauschii* based on SSR marker. Journal of Agricultural Biotechnology 18: 493-500.
- Wei H, Li J, Hu X, Peng Z, Yang W (2007) Genetic diversity of *Aegilops tauschii* revealed by SSR markers. Southwest China Journal of Agricultural Sciences 20: 270-274.