ژنتیک نوین
دوره چهارم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸
صفحه۶۲-۵۵

بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای RAPD

حسین دشتی*[۱]، محمدرضا نقوی[۲]، علی‌اکبر شاه‌نجات بوشهری[۳]، حسین شیرانی[۴]

۱و۴- استادیار دانشگاه ولی عصر(عج) رفسنجان
۲و۳- دانشیار دانشگاه تهران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: dashti@mail.vru.ac.ir

(تاریخ دریافت: - تاریخ پذیرش:)

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

چکیده

اطلاع کافی از تشابه‌های ژنومیکی، به برنامه‌ریزی و استراتژی‌های اصلاحی در حفاظت از ژرم‌پلاسم و انتقال ژن‌ها از گونه‌ای به گونه‌ی دیگر کمک می‌نماید. به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم، ۳۰ نمونه از گندم‌های هگزاپلوئید (نان)، تتراپلوئید (دوروم) و دیپلوئیدهای وحشی با ژنوم‌های (AA) و (DD) به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از ۱۱ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی مورد تجزیه RAPD قرار گرفتند. تمامی آغازگرها، مناطقی از ژنوم گندم‌های مختلف را تکثیر نمودند که در مجموع ۱۰۵ مکان ژنی تکثیر و ۹۵۳ باند تولید گردید. آغازگرهای C وE بیشترین مکان را تکثیر نمودند و آغازگر UBC64 بیشترین تعداد باند را تولید کرد. آغازگرهای مورد استفاده، توانستند تفاوت ژنتیکی موجود در نمونه‌ها را نشان دهند. آغازگر F دو باند اختصاصی در ژنوم D تولید کرد. تجزیه کلاستر بر اساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از روش UPGMA، نشان داد که میزان تشابه بین ۰/۹ برای نزدیک‌ترین افراد و ۰/۵ برای دورترین افراد تغییر می‌کند و در تشابه ۰/۷، تمامی نمونه‌ها در ٤ گروه و در تشابه ۰/٦٥.در دو قرار گرفتند. این آزمایش نشان داد که ژنوتیپ‌های تحت بررسی، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار نیستند. گروه‌بندی نمونه‌ها بر اساس دو مؤلفه اصلی حاصل از PCoA مطابقت نسبی خوبی را با تجزیه کلاستر نشان داد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی،
ژرم‌پلاسم،
گندم،
RAPD،
تجزیه کلاستر

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

مقدمه

بیش از هزاران سال است که نمونه‌های بومی گندم هگزاپلویید (AABBDD) که در طول تکامل از تلاقی گونه‌های دیپلوئیدی با ژنوم AA و DD و گونه ناشناخته با ژنوم BB حاصل شده، درمحیط‌های مختلف اقلیمی بوجود آمده‌اند و تعداد زیادی از اکوتیپ‌های سازگار شده به مکان خاصی، تولید شده‌اند (۱۴ و ۲۲). در گذشته، مطالعه تفاوت‌های اکوژئوگرافی گندم از طریق صفات زراعی و مرفولوژیکی انجام می‌شد (۱۴ و ۲۲). حفاظت و استفاده پایدار از منابع ژنتیکی جهت تامین امنیت غذائی آینده، یک ضرورت است (۹). در این بین، تکنیک‌های مولکولی توانسته‌اند حفاظت و مدیریت منابع ژنتیکی گیاهی[1] را خصوصاً در زمینه اطلاعات مربوط به تنوع ژنتیکی، بهبود بخشند (۹) و به‌طور فزاینده‌ای در شناسایی روابط فیلوژنی، مورد استفاده قرار گیرند. اطلاع کافی از تشابهات ژنومی، به برنامه‌ریزی و استراتژی‌های اصلاحی در حفاظت از ژرم‌پلاسم و انتقال ژن‌ها از گونه‌ای به گونه‌ی دیگر کمک می‌نماید (۱۵). پیشرفت‌های اخیر با استفاده از PCR، روش‌های مؤثر و سریعی را برای بررسی چندشکلی در سطح DNA فراهم نموده است. تا کنون بیش از هزار نشانگر ریزماهواره (SSR) تولید شده، نقشه آن‌ها بر روی ژنوم گندم تعیین شده است که اطلاعات به‌دست آمده از آن، می‌تواند در شناسائی ژن‌های مقاومت و نشاندار کردن و تشخیص QTL ها، انتخاب به کمک مارکر[2] و بهبود مدیریت ژرم‌پلاسم، مورد استفاده قرار گیرند (۲۰).

نشانگرهای RAPD به‌علت مزایایی چون تولید تعداد زیادی باند، چندشکلی زیاد، عدم استفاده از مواد رادیواکتیو و عدم نیاز به وجود اطلاعاتی در مورد توالی ژنومی گیاه، همواره در بررسی تنوع ژنتیکی مخازن ژنی، مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۰ و ۲۳). تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین گونه‌های وحشی توسط نشانگرهای RAPD بررسی شده و نتایج به‌دست آمده، مشابه نتایج حاصل از مطالعات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی بوده است (۱۸). نشانگرهای RAPD رابطه خویشاوندی بین دیپلوئیدها و آمفی‌دیپلوئیدهای براسیکاها (مثلث U) را به‌خوبی نشان داده‌اند (۵). هم‌چنین این نشانگرها، توان خوبی در تشخیص چندشکلی بین بیوتیپ‌های گندم و یولاف نشان داده‌اند (۷). تنوع ژنتیکی ۷۸ نژاد بومی گندم جمع‌آوری شده از ۲۲ کشور، با استفاده از سه نوع مارکرRAPD، AFLP و SSR بررسی شد و نتایج نشان داد، هر سه مارکر می‌توانند تنوع ژنتیکی و روابط بین آن‌ها را نشان دهند (۲۰). تنوع ژنتیکی و قرابت خویشاوندی ۱۰ نمونه از گونه‌های دیپلوئید (AA) و تتراپلوئید (AABB) در انستیتو گیاه‌شناسی و منابع ژنتیکی آذربایجان ترکیه با استفاده از ۱۵ آغازگر RAPD بررسی گردید و در تجزیه کلاستر، گونه‌ها در دو گروه اصلی، گروه‌بندی شدند (۱۶). عبدالهی و همکاران (۱۳۸۲)، تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین ایرانی گندم نان را با استفاده از تجزیه RAPD مورد مطالعه قرار دادند که دامنه ضریب تشابه از ۰/۴ تا ۰/۹۱ متغیر بود و تشابه ژنتیکی زیادی بین لاین‌ها دیده شد (۲). هم‌چنین طباطبایی و بوشهری (۱۳۸۰) ۱۶ رقم از ارقام ایرانی فوق را توسط مارکر AFLP بررسی نمودند و تنوع ژنتیکی پایینی را بین آن‌ها گزارش کردند (۳). سفالیان و همکاران (۲۰۰۸)، تنوع ژنتیکی گندم‌های بومی شمال غرب ایران را با استفاده از ۳۹ نمونه و مارکر ISSR بررسی کردند، تجزیه‌ی خوشه‌ای نشان داد که تمام نمونه‌ها در فاصله ژنتیکی ۲۵ در یک گروه قرار گرفتند (۱۹). با توجه به وجود ارقام بومی گندم نان و خویشاوندان وحشی آن در ایران و اهمیت استفاده از آن‌ها در اصلاح گندم، هدف از انجام این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ نمونه از ژرم‌پلاسم گندم موجود در بانک ژن دانشکده کشاورزی کرج با استفاده از مارکر RAPD بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

۳۰ نمونه از ژرم‌پلاسم گندم، شامل گونه‌های دیپلوئید (AA: *T.boeoticum*) و (DD: *T.tauschii*)، تتراپلوئید (AABB: *T.turgidum*) و هگزاپلوئید (AABBDD: *T.aestivum*) که ازنقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده‌اند (جدول ۱)، در سال ۱۳۸۷ از کلکسیون دانشکده کشاورزی کرج دریافت و به آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر(عج)

[1] .Plant Genetic Resources (PGR).
[2] .Marker Assistant Selection(MAS)

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

منتقل و در گلدان کشت گردیدند. نمونه برگ از گیاهان هفت روزه (۰/۲ گرم از هر نمونه گیاهی) برداشت و DNA آن‌ها به روش دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۳) استخراج و کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری (اندازه‌گیری جذب در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر) با دستگاه اسپکترومتر Cintra 5 ساخت استرالیا تعیین گردید.

تجزیه RAPD

یازده آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی که پلی‌مورفیسم قابل توجهی را نشان دادند، از بین ۳۰ آغازگر انتخاب شد (جدول۲). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱/۹ میلی‌مول $MgCl_2$، ۶/. میلی‌مول dNTP، ۱ واحد آنزیم تک پلی‌مراز و بافر PCR با غلظت 1X (از شرکت سدیمان آزما)، آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی با غلظت ۰/۵ میکرومول و ۲۵ نانوگرم DNA الگو به‌علاوه آب دوبار تقطیر با اضافه نمودن ۲۵ میکرولیتر روغن معدنی تهیه شد. سپس PCR با برنامه حرارتی ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و برای ۴۵ سیکل: ۱ دقیقه در ۹۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در ۳۵ یا ۳۶ درجه سانتی‌گراد (با توجه به آغازگر) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، و در نهایت جهت بسط تکمیلی ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۲۴). PCR توسط دستگاه ترموسایکلر (ساخت CORBET RESEARCH استرالیا) انجام شد. محصول واکنش همراه با نشانگر لدر در ژل آگاروز ۱/۵درصد و بافر TAE به‌مدت ۲/۵ ساعت با ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شد و سپس ژل موجود در محلول اتیدیم بروماید به‌مدت ۳۰ دقیقه رنگ‌آمیزی و با استفاده از Gel doc (ساخت UVITEC انگلستان) عکس‌برداری گردید. تصاویر حاصل از ژل‌ها با استفاده از نرم‌افزار UVIDocMW تجزیه و تحلیل و باندها بر اساس حضور و عدم حضور، به کد صفر و یک تبدیل شد و پس از انتقال داده‌ها به برنامه Excel، ماتریس تشابه توسط نرم‌افزار NTSYS ,Ver.2.02e (۱۷) بر اساس ضریب تشابه جاکارد محاسبه و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از زیرمنوی SAHN به روش میانگین حسابی غیر وزنی (UPGMA[3]) انجام و دندروگرام رسم گردید. به‌منظور استخراج حداکثر اطلاعات از داده‌های مارکری، می‌توان همراه با تجزیه کلاستر از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و یا (PCoA[4]) به‌ویژه زمانی که دو یا سه مؤلفه اول بیش از ۲۵٪ از کل واریانس را توجیه می‌نمایند، استفاده کرد (۱۱). لذا گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از PCoA نیز انجام شد.

[3] Un weighted pair-group method for the arithmetic average
[4] Principle Coordinate Analysis

جدول ۱- نمونه گندم‌های مورد مطالعه.(* شماره داخل پرانتز، کد نمونه در کلکسیون است)

محل جمع‌آوری	گونه	شماره ردیف	محل جمع	گونه	شماره ردیف
ایران	durum(59)*	۱۶	کاشان	T.aestivum(7654-1)	۱
ایران	durum(106)	۱۷	محلات	T.aestivum(6546-3)	۲
ایران	durum(23)	۱۸	قزوین	T.aestivum(2780-3)	۳
ترکمنستان	Ae.tauschii(64)	۱۹	ساوه	T.aestivum(6853-2.2)	۴
ایران	Ae.tauschii(51)	۲۰	تهران	T.aestivum(500-5.2)	۵
ترکیه	Ae.tauschii(15)	۲۱	فومن	T.aestivum(6834-1.1)	۶
آذربایجان	Ae.tauschii(19)	۲۲	اراک	T.aestivum(6548-4.1)	۷
ایران	Ae.tauschii(35)	۲۳	گرگان	T.aestivum(7141-4.1)	۸
تاجیکستان	Ae.tauschii(17)	۲۴	ایران	durum(51)	۹
تاجکیستان	Ae.tauschii(44)	۲۵	ایران	durum(18)	۱۰
تَخرَک	T.boeoticum(3)	۲۶	ایران	durum (27)	۱۱
فیروزاباد	T.boeoticum(5)	۲۷	ایران	durum(31)	۱۲
آذربایجان(سقز)	T.boeoticum(48)	۲۸	ایران	durum(34)	۱۳
الشتر	T.boeoticum(14)	۲۹	ایران	durum(40)	۱۴
کامیاران	T.boeticum(2)	۳۰	ایران	durum(47)	۱۵

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده و نتایج تجزیه RAPD.

نام *	توالی	تعداد کل باند تولید شده	تعداد مکان تکثیر شده	متوسط باند در مکان
A	5′-GGTCTCCTAG-3′	۵۹	۷	۸/۴
B	5′-GCGTCACAAG-3′	۵۸	۸	۷/۲۵
C	5′-CCGGCATAGA-3′	۸۳	۱۲	۶/۹
D	5′-TGGGCTCGCT-3′	۶۹	۱۱	۶/۲۷
E	5′-ACTTGTGCGG-3′	۷۴	۱۲	۶/۱۶
G	5′-CTGAGGAGTG-3′	۵۸	۱۰	۵/۸
H	5′-GGTCAACCCT-3′	۷۷	۹	۸/۵
I	5′-GCGGGAGACC-3′	۶۲	۱۱	۵/۶
J	5′-CCTCACCTGT-3′	۷۲	۸	۹
F	5′-CCCACTGACG-3′	۱۲۸	۶	۲۱/۳
UBC64	5′-GAGGGCGGGA-3′	۲۱۲	۱۱	۱۹/۲۷
	جمع کل	۹۵۳	۱۰۵	۹

*- آغازگرهای A-F ساخت شرکت سیناژن و آغازگر UBC64 ساخت (British Columbia Univercity)

نتایج و بحث

آغازگرهای مورد استفاده در کل ۳۰ نمونه (ژنوتیپ)، ۹۵۳ باند تولید کردند که از ۱۰۵ مکان ژنی تکثیر شدند (جدول ۲). ۹۸ مکان از ۱۰۵ مکان دارای چندشکلی بودند (۹۳٪ از مکان‌ها چندشکلی نشان دادند) و محدوده اندازه باندهای به‌دست آمده بین ۲۹۰ تا ۲۱۰۰ جفت باز بود. آغازگر UBC64 بیشترین تعداد باند را تولید نمود و آغازگرهای A، B و G دارای کمترین باند بودند. به‌طور متوسط هر آغازگر ۹/۵ مکان را شناسایی و تکثیر نمود که آغازگرهای C و E تعداد مکان (آلل) بیشتری را نسبت به بقیه آغازگرها تکثیر کردند که نشان‌دهنده محتوای چندشکلی[5] (PIC) و قدرت تفکیک ژنوتیپ‌ها توسط آن‌ها می‌باشد (۱). چون بین تعداد آلل، PIC و قدرت تفکیک، رابطه مستقیم وجود دارد (۱)، بنابراین می‌توان گفت آغازگرهای C، D، E، I و UBC64 بیشترین قابلیت تفکیک و بیان چندشکلی را در بین گونه‌ها و درون گونه‌های خویشاوند گندم داشته‌اند. تعداد باند در هر مکان در قدرت تفکیک و جداسازی افراد نیز مؤثر است، زیرا تعداد باند در هر مکان نشان می‌دهد که یک مکان در چه تعداد از افراد تحت مطالعه تکثیر شده است. از بین باندهای تولید شده توسط آغازگرهای مختلف، دو باند اختصاصی با اوزان ۵۰۰bp و ۹۰۰bp دیده شد که فقط در نمونه‌های گونه(DD) *Ae.Tauschii* و توسط آغازگرF تولید شده‌اند (شکل ۱). تجزیه خوشه‌ای به‌روش UPGMA و براساس ماتریس تشابه جاکارد انجام و محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک[6] (r_{coph} = ۰/۸۲۱ > ۰/۹) نشان داد، الگوریتم UPGMA دارای کارایی بالا در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بوده و تطابق خوبی با ماتریس تشابه دارد (۱۱ و ۱۷). تجزیه خوشه‌ای نشان داد که میزان تشابه بین ۰/۹ برای نزدیک‌ترین افراد (دوروم ۱۸ و دوروم ۳۴) و ۰/۵ برای دورترین افراد (گندم نان "ساوه" و بوئتیکم "کامیاران") تغییر می‌نماید (شکل ۲) و این بیانگر تنوع ژنتیکی کم در بین گونه‌ها و درون گونه‌های گندم نان و خویشاوندان آن می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای، گندم‌های مختلف را در تشابه ۰/۷ در چهار گروه قرار داد، بوئتیکوم‌های متعلق به مناطق سقز، الشتر و کامیاران در گروه ۱، اجیلوپس‌ها و دو نمونه

[5] Polymorphism Infomation Content

[6] Cophenetic correlation

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

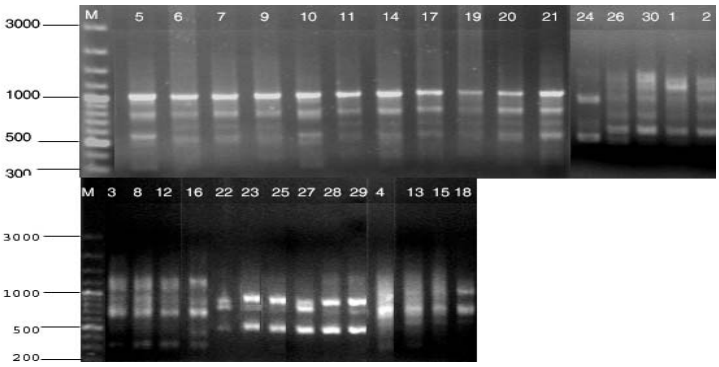
از بوئتیکم (تَحرَک و فیروزآباد) در گروه ۲، دوروم‌ها با شماره‌های ۱۸، ۳۴، ۲۷، ۳۱، ۵۱، ۱۰۶، ۴۰ و ۵۹ در گروه ۳ و گندم‌های نان و دوروم‌های ۲۳ و ۴۷ در گروه ۴، قرار گرفتند. با توجه به زیرگروه‌های مربوط به چهار گروه فوق، میزان تشابه گندم‌های نان از ۰/۸۷ تا ۰/۷۰ متغیر بود که نشان‌دهنده پایه ضعیف تنوع ژنتیکی در گندم‌های نان ایران است که با نتایج عبدالهی و همکاران (۱۳۸۲)، طباطبائی و بوشهری (۱۳۸۰) و سفالیان و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد (۲، ۳ و ۱۹). دوروم‌های ۱۸ و ۳۴ دارای ۹۰٪ تشابه می‌باشند که احتمالاً یک نوع می‌باشند. تجزیه خوشه‌ای، تنوع موجود در داخل گونه‌ها را به‌خوبی نشان می‌دهد. قرار گرفتن دوروم‌های ۴۷ و ۲۳ در گروه گندم نان، می‌تواند به‌دلیل وجود ژنوم‌های مشترک (A و B) در آن‌ها باشد و احتمالاً گندم‌های نان در ایران، ژنوم‌های A و B را از جد وحشی دوروم‌ها (*T. dicoccoids*) گرفته‌اند. چون توزیع جغرافیایی جد وحشی دوروم در جنوب شرق ترکیه، ایران و عراق گسترده است (۱۳)، بوئتیکم‌ها در تشابه بیش از ۰/۶۷ در دو گروه قرار گرفتند. دندروگرام نشان می‌دهد که بوئتیکم‌های سقز، الشتر و کامیاران شباهت ژنتیکی زیادی دارند و با تَحرَک و فیروزآباد متفاوتند که این نتیجه با نتایج نقوی و همکاران (۲۰۰۸) در خصوص تنوع ژنتیکی بوئتیکم‌های ایران با استفاده از مارکر SSR مطابقت دارد (۱۲). قرار گرفتن بوئتیکم‌های تَحرَک و فیروزآباد در گروه آجیلوپس‌ها با ژنوم (DD) نشان‌دهنده‌ی شباهت ژنتیکی ژنوم A و D در اثر وقوع موتاسیون‌های یکسان و احتمالاً تبادل ماده ژنتیکی بین آن‌ها از طریق اینتروگرسیون و همیولگ[7] بودن آن‌ها می‌باشد (۴ و ۱۰). به‌طور کلی دندروگرام نشان می‌دهد که در مطالعه حاضر، تنوع ژنتیکی اعم از بین گونه‌ای و درون گونه‌ای پایین است. البته در خصوص تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای هگزاپلویید در مطالعه لاین‌ها و ارقام تجاری و بومی ایران، نتایج مشابهی توسط سایر محققان نیز گزارش شده (۲، ۳ و ۱۹) که نشان‌دهنده‌ی پایه ژنتیکی باریک در هگزاپلوئیدهای ایران است. بنابراین به‌نظر می‌رسد گسترش و توسعه پایه ژنتیکی گندم نان ضروری است. هم‌چنین در سطح تشابه ۰/۶۵ تمام ۳۰ نمونه در دو گروه قرار می‌گیرند که یک گروه شامل گندم‌های نان و دو عدد دوروم ۲۳ و۴۷ بوده و بقیه در گروه دیگر قرار دارند و در تشابه کمتر از ۵۰٪ در یک گروه قرار می‌گیرند که حاکی از آن است که در درون و بین سایر گونه‌های خویشاوند گندم که در این پژوهش مطالعه شده‌اند، تنوع قابل توجهی مشاهده نشده است. از آنجا که ایران از مراکز تنوع گندم به‌شمار می‌رود (۱۳، ۲۲، ۸ و۲۱)، انتظار می‌رفت که تنوع بین گونه‌ای بیشتری حاصل شود. شاید تنوع پایین به‌علت تعداد کم ژنوتیپ و آغازگر مورد استفاده باشد، لذا لازم است نمونه‌های بیشتری از گونه‌های وحشی خویشاوند گندم، مورد ارزیابی قرار گیرند.

گروه‌بندی نمونه‌ها بر اساس دو مؤلفه حاصل از تجزیه PCoA که دارای مقادیر ویژه بیش از یک بودند و در مجموع ۴۸/۵٪ از واریانس کل را توجیه کردند، انجام گرفت و نتایج به‌دست آمده مطابقت نسبی خوبی با نتایج تجزیه خوشه‌ای داشت (شکل ۴). فراوانی باند تولید شده در هر ژنوتیپ (شکل ۳)، همبستگی معنی‌داری با مؤلفه‌های اول و دوم حاصل از PCoA نشان داد و بیانگر این است که تعداد باند تولید شده در هر ژنوتیپ توسط آغازگرهای مختلف، در تفکیک و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مؤثر است (جدول ۳).

در نهایت، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که با توجه به ضرایب تشابه در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای و درون گونه‌ای قابل توجهی در گندم‌های بومی ایران و خویشاوندان وحشی آن‌ها به‌دست نیامد و گونه‌های گندم نان و دوروم از تنوع درون گونه‌ای پائین‌تر از بقیه برخوردار بودند. تنوع کم به‌دست آمده احتمالاً به‌علت کم بودن تعداد نمونه و تعداد آغازگر مورد استفاده در این بررسی می‌باشد. لذا اظهار نظر قطعی در این زمینه، نیازمند بررسی تعداد نمونه بیشتری از هر گونه، استفاده تعداد آغازگر بیشتر و هم‌چنین استفاده از نشانگرهای دیگری مثل SSR که توان بیشتری در بروز تنوع ژنتیکی گندم دارد، می‌باشد (۲۰). چون ایران از مراکز تنوع گندم است (۱۳، ۲۲، ۸ و۲۱) و انتظارمی‌رود تنوع بیشتراز آنچه که در این پژوهش به‌دست آمده، در ژرم پلاسم گندم نان ایران وجود داشته باشد.

[7] Homeologue

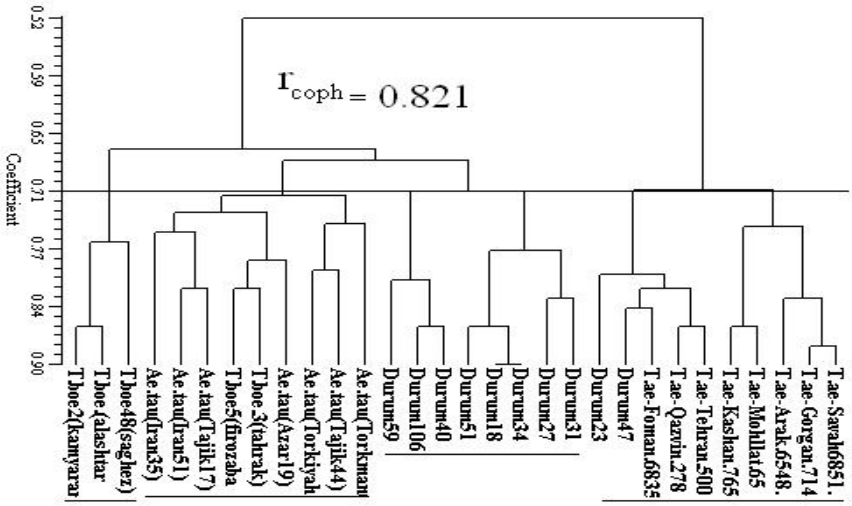
Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021



شکل ۱- الگوی باندی نمونه‌های مورد مطالعه برای آغازگر F. شماره‌های ۲۲، ۲۳، ۲۵، ۲۷، ۲۸ و ۲۹ دیپلوییدهای دارای ژنوم (DD) می‌باشند که باندهای ۵۰۰bp و ۹۰۰bp را نشان داده‌اند.

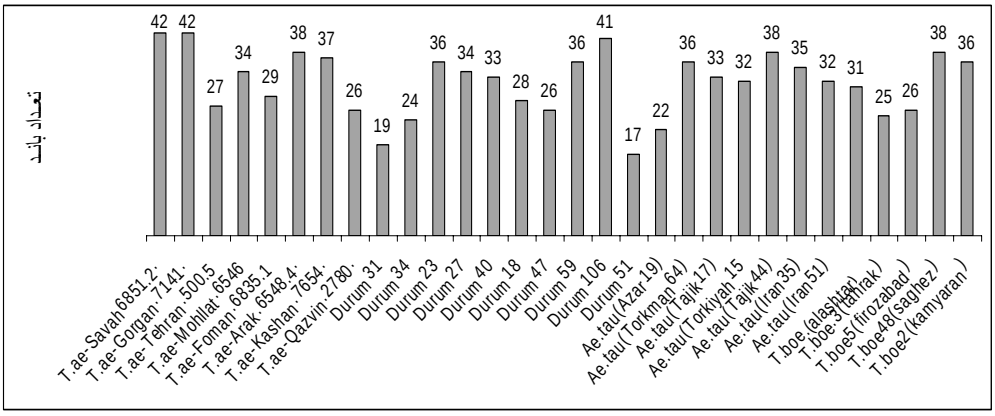
مؤلفه / صفت	PC_1	PC_2
تعداد باند در هر ژنوتیپ	۰/۴۲۷*	۰/۳۷۹*

جدول ۳- همبستگی بین تعداد باند حاصل از تجزیه RAPD و مؤلفه‌های اصلی

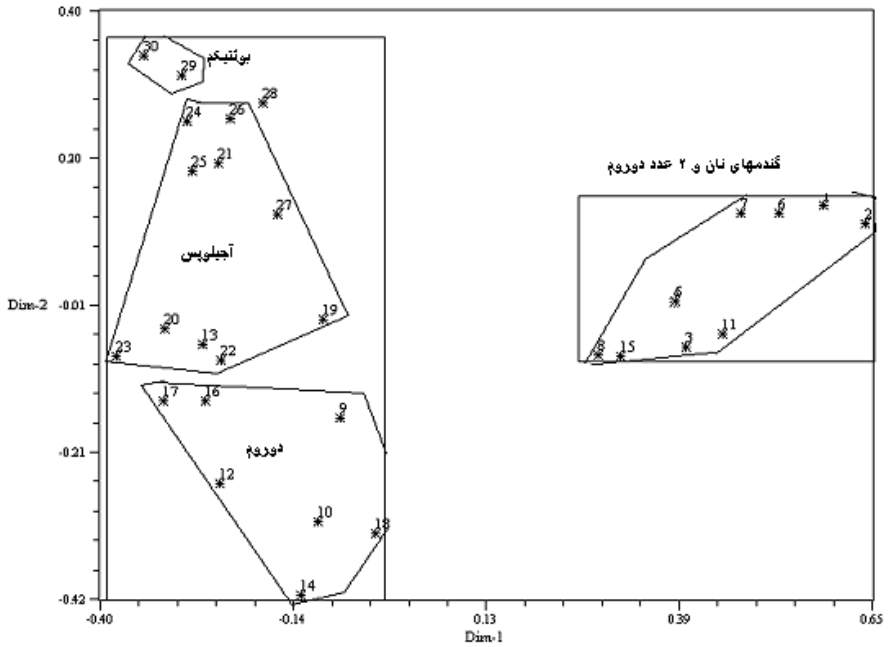


شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۳۰ ژنوتیپ به‌روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد.

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021



شکل ۳- تعداد کل باندهای تولید شده در هر ژنوتیپ توسط ۱۱ آغازگر.



شکل ۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس ۲ مؤلفه در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCoA). چند ضلعی‌ها نشان‌دهنده چهارگروه در تشابه ۰/۷ و مربع مستطیل‌ها نشان‌دهنده دو گروه در تشابه ۰/۶۵ می‌باشد که با گروه‌بندی حاصل از تجزیه کلاستر تقریباً مطابقت می‌کند. شماره‌های نمونه‌ها براساس جدول ۱ می‌باشد.

Downloaded from mg.genetics.ir at 6:57 +0430 on Friday June 18th 2021

سپاسگذاری

هزینه انجام این پژوهش از طریق پژوهانه اختصاص یافته توسط معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ولی عصر(عج) تامین گردید که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- رمضانی ا، حداد ر، و مردی م (۱۳۸۶) تعیین تنوع ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های انگور ایرانی با استفاده از نشانگر ریزماهواره، ژنتیک نوین، ش ۴ :۳۸-۳۱.

۲- عبدالهی مندولکانی ب،طباطبائی ب، بوشهری ع، قنادها م، و امیدی م (۱۳۸۲) مطالعه روابط خویشاوندی و تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های گندم (*T.aestivum*) با نشانگرRAPD.علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۴. ش ۲ : ۴۵۴-۴۴۷

۳- طباطبایی ب، و بوشهری ع (۱۳۸۰) ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف گندم با نشانگرهایAFLP ، علوم کشاورزی ایران ،جلد ۳۲، ش ۲ : ۶۱۴-۶۰۷

4-Babcock EB (2001) Genetics and plant breeding, Agrobios (India). New Delhli, pp 478.

5-Demeke T, Adams RP and chibbar R (1992) Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA (RAPD):a case study in Brassica Thor.Appl.Genet: 84.990-994

6 -Dellaporta SL,Wood J,Hicks JB (1983) A plant DNA mini-preparation: Plant Molecular Biology Reporter 1:19

7-Hanif Z, Zahoor AS , Imtiaz Kh, Marwat KB,Sabz A and Ishfaq khan M (2008) RAPD and SSR analysis of wild oats(Avena Species).from North west frontier province of Pakistan. African journal of plant science .Vol 2(11)133-139

8-Harlan JR and Zohary D (1966) Distribution of wild wheats and barley. Sci, 153:1074-1080

9-Kameswara Rao N (2004) Plant genetics resources: Advancing conservation and use through biotechnology.African Journal of Biotechnology. vol 3(2)136-145

10-Loupton FGH (1987) Wheat breeding, Chapman and Hall.London.

11-Mohammadi SA and Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants-Silent statistical tools and considerations, Crop.Science, 43:1235-1248

12-Naghavi MR,Maleki M and Tabatabaei, SF (2008) Efficiency of floristic and molecular markers to determine diversity in Iranian populations of *T. boeoticum*. International Journal of Biological and Life Sciences 1:71-73.

13-Ozkan H,Brandolini A,Pozzi C,Effgen S,Wunder J and Salamini F (2005) A reconsideration of the domestication of tetraploid wheats.Theor Appl Genet 110: 1052-1060.

14-Palmova EF (1935). Introduction in wheats ecology.(Ogiz Selkhozgiz, Leningrad and Moscow). (In Russian).

15-Ramantha Rao V, Riley R (1994) The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Genet Resour News 97:3-20

16-Ramiz Tagi A,Mehraj AA,Alamdar CM (2007) Genetic identification of diploid and tetraploid wheat species with RAPD markers.Turk J Biol 31;173-180

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

18-Santos Sm,Cruz L (1997) A rapid and sensitive detection of clavibacter michiganesis subsp michiganesis in tomato seed by polymerase chain reaction .Seed Sci.Technol.25;581-584

19-Sofalian O, Chaparzadeh N, Javanmard A and Hejazi MS (2008) study the genetic diversity of wheat landraces from Northwest of Iran based on ISSR molecular markers. International Journal of Agriculture & biology, Vol.10, no.3:466-468

20-Strelchenko P, Street K, Mitrofanova O, Mackay M, Chabane K, Valkoun J (2003) The genetic relationships between hexaploid wheat landraces from different geographical origin. In 'Proc 10th Int Wheat Gen Symp.September 1-6, 2003, Paestum, Italy: vol 2, pp. 637-640

21-Vavilov NI (1926) Studies on the origin of cultivated plants.Inst.Appl.Bot.Plant Breed, Leningrad.

22-Vavilov NI (1964) World resources of cereals, legumes, flax cultivars and their utilization in breeding Wheat. (Nauka, Moskow and Leningrad). (In Russian).

23-Vornom B and Gebhardt K (1999) Application of cp DNA-and RAPD-markers in characterization of Clone Collections of wild Cherries and performance of micro propagated plus trees.In:Espinel S and Ritter E (eds).Congress Application of biotechnology to forest genetics.Vitoria-Gasteiz,pp 51-71

.24-Williams JG, Kubelik AE, Livak KJ, Rafalski JA and Tingey SC (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research.18; 6531-6535