

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های وحشی گندم نیای آزیلوپس تائوشی (*Aegilops tauschii*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

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

کرم رضا اسماعیلی^{۱*}، علی اشرف مهربانی^۲، علیرضا اطمینان^۳، احسان عزیزان^۴، سجاد منصوری^۵،
مصطفی حسین آبادی^۶، محمد حیدر نژاد یژیان^۷

۱-۷، ۵، ۴، ۳، ۶- کارشناس ارشد، استادیار و کارشناسان ارشد دانشگاه آزاد کرمانشاه

۲- استادیار دانشگاه ایلام

Esmaili K¹, Mehrabi AA², Etminan AR³, Azizian E⁴, Mansoury S⁵, Hossein Abadi M⁶,
Haidarnezhdian 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 آزیلوپس تائوشی با استفاده از ۱۲ جفت نشانگر ریزماهوره، در مجموع تعداد ۷۱ آلل شناسایی شد که ۶۹ آلل دارای چندشکلی بودند. میانگین تعداد آلل در کل لوکوس ها برابر ۴/۶ و میانگین محتوای چندشکلی مقدار ۶۵۴/۶ بود. بیشترین میزان عدم تشابه بین دو ژنوتیپ ۳ و ۱۲ و کمترین میزان عدم تشابه بین دو ژنوتیپ ۷ 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 ژنوتیپ های ایرانی تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ های خارجی دارند و در بین آنها، ژنوتیپ های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) به ویژه ژنوتیپ های استان مازندران متنوع ترند. بنابراین نواحی شمال ایران به ویژه مازندران مرکز تنوع ژنوتیپ ها و خاستگاه اصلی گونه آزیلوپس تائوشی بوده و به نظر می رسد این گونه از این نقاط به سایر مناطق انتقال یافته است.

واژه های کلیدی

آزیلوپس تائوشی،
تنوع ژنتیکی،
چندشکلی،
گندم،
نشانگر ریزماهوره.

مقدمه

آژیلوپس تائوشی (*Aegilops tauschii*) گونه ای دیپلوئید ($2n=2x=14, DD$) است که دهنده ژنوم D به گندم نان (*Triticum aestivum*) است (Dudnikov 2000). مرکز تنوع آن جنوب دریای خزر است که از غرب به ترکیه و از شرق به افغانستان و چین محدود می شود توزیع آن در ایران، شمال غربی، شمال، شمال شرقی و همچنین مرکز ایران می باشد (Slagere 1994). آژیلوپس تائوشی دارای دو زیرگونه تائوشی و استرانگولاتا است (Eig 1929). مشخص شده که زیرگونه استرانگولاتا نسبت به زیرگونه تائوشی 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 جمعیت آژیلوپس تائوشی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، 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 ریزماهواره، بیشترین تنوع ژنتیکی را برای آژیلوپس تائوشی نتیجه گرفتند. (Tahernezhad et al. 2010) نیز با مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۸ جمعیت ایرانی آژیلوپس تائوشی با استفاده از صفات مورفولوژیک و نشانگرهای ریزماهواره، چندشکلی زیادی را در این گونه مشاهده کردند. (Naghavi et al. 2010) با بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های آژیلوپس تائوشی شمال ایران، نشان دادند که بیشترین تنوع ژنتیکی مربوط به زیرگونه تائوشی است و فاصله ژنتیکی بین دو زیرگونه تائوشی و استرانگولاتا کم است. از جمله اهداف این تحقیق می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- ۱- برآورد تنوع ژنتیکی آژیلوپس تائوشی برای شناسایی و اهداف اصلاحی؛
- ۲- شناسایی و معرفی نشانگرهای ریزماهواره چندشکل در آژیلوپس تائوشی که قابلیت انتقال به جمعیت های اصلاحی گندم نان را داشته باشند؛
- ۳- مطالعه وضعیت و ساختار تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت های آژیلوپس تائوشی به منظور تعیین مرکز تنوع و پراکنش این گونه دیپلوئید؛
- ۴- بررسی اشتقاق ژنتیکی دو زیرگونه تائوشی و استرانگولاتا.

مواد و روش ها

مواد گیاهی در این تحقیق از ۳۰ جمعیت آژیلوپس تائوشی از دو زیر گونه تائوشی 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 جمعیت های *Aegilops tauschii* مورد استفاده

شماره	زیر گونه	محل جمع آوری
1	<i>tauschii</i>	مازندران- شهرستان نوشهر
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 کلیر- ۳۰ تا کلیر
6	<i>tauschii</i>	۵ کیلومتر 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- ۴۵ کیلومتری 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 کلیر- ۳۰ تا کلیر
20	<i>tauschii</i>	جاده اردبیل- سرعین- ۱۵ کیلومتری سرعین
21	<i>strangulata</i>	جاده گلگاه بندر به شهر- ۲۰ کیلومتری به شهر
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- روبروی دانشگاه آزاد
30	<i>tauschii</i>	تائوشی- جاده تالش آستارا- ۳ کیلومتر تا آستارا

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 و حداقل پلی مورفیسم آللی در گروه همیولوگ ۱ مشاهده شد. (Tahernezhad et al. (2010) استفاده از ۱۹ مکان ریز ماهواره، ۲۰۸ الل را در بین ۲۸ توده آزیلوپس تائوشی شناسایی کردند که متوسط الل برای هر لوکوس ۱۰/۹۴ بدست آمد. (Saeidi et al. (2006) نیز با استفاده از ۱۲ مکان ریز ماهواره، ۶۶ الل را در بین ۵۷ توده آزیلوپس تائوشی شناسایی کردند که متوسط الل را برای هر لوکوس ۷/۳ گزارش کردند. در مطالعه (Naghavi et al. (2010) با استفاده از ۹ مکان ریز ماهواره، ۱۴۱ الل شناسایی شد که متوسط الل را برای هر لوکوس ۱۵/۷ بود. همچنین تعداد الل 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 الل را شناسایی کردند که متوسط الل را برای هر لوکوس ۸/۱۴ بود (Haji Karam et al. 2011). 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 آگارز ۰/۸ درصد، انجام شد. پس از انجام واکنش PCR (جدول ۲)، الکتروفورز DNA تکثیری بر روی ژل آگارز 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

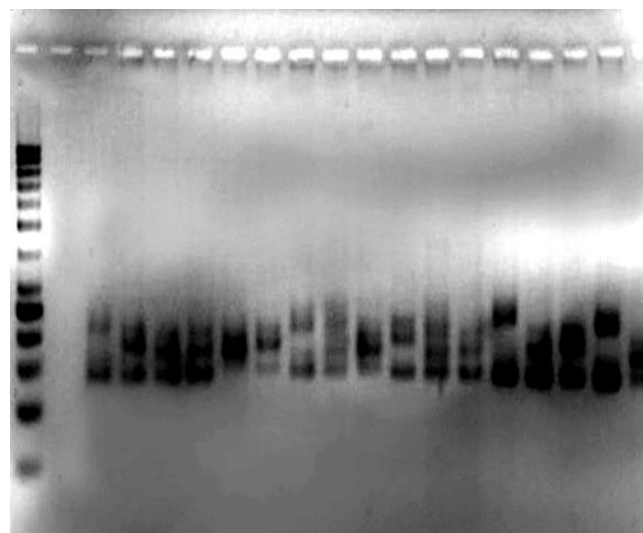
تعداد چرخه	زمان	درجه حرارت (°C)	مرحله
۱	۵ دقیقه	۹۵	واسرشت سازی (تک رشته ای شدن) اولیه
	۳۰ ثانیه	۹۵	واسرشت سازی
۳۵	۳۰ ثانیه	۶۰، ۵۵، ۵۰	اتصال آغازگر به DNA تک رشته ای
	۶۰ ثانیه	۷۲	بسط (توسعه) آغازگر
۱	۵ دقیقه	۷۲	بسط (توسعه) نهایی

*دمای سرپوش ۱۰۳°C 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، EXCEL STAT، DARWIN و MAGA 3.1 تجزیه شد.

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی ۳۰ جمعیت از دو زیرگونه گندم آزیلوپس تائوشی با استفاده از نشانگر ریز ماهواره بررسی شد. امتیازبندی باند به-صورت حضور (یک) و عدم حضور (صفر) برای هر باند انجام گرفت و سپس فاصله ژنتیکی و محتوای 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 منومورف نشان دادند و در مجموع تعداد ۷۱ آلل شناسایی شد که ۶۹ آلل آن دارای چندشکلی بودند.



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

لوکوس، محتوای n(GT) در نواحی تکرار شونده (Prasad et al. 2000)، و تعداد ژنوتیپ و تعداد آغازگر ریزماهوره 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 ژنوتیپ ها را به عدد ۶ رساندند، ۰/۵۴ به دست آوردند.

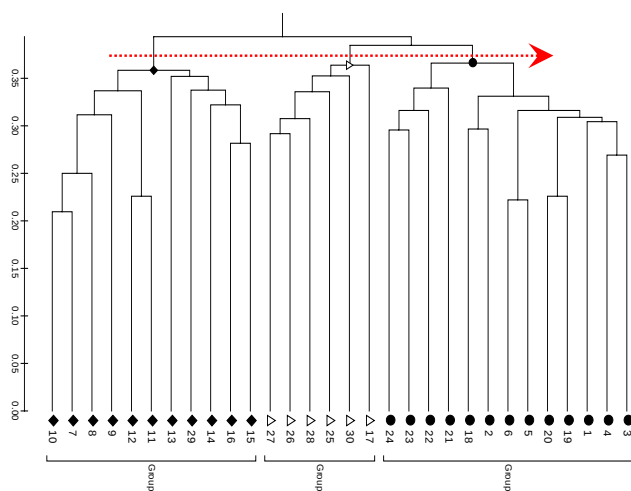
ضریب عدم تشابه ژنوتیپ ها به روش (Jacard, Daice 1945) با استفاده از نرم افزار DARwin محاسبه (جدول ۵ و ۱۹۱۲) تجزیه خوشه ای با الگوریتم UPGMA انجام شد (شکل ۳ و ۳). بیشترین میزان عدم تشابه در روش دایس بین ژنوتیپ های ۳ و ۱۲ با ۸۵ درصد و کمترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ های ۷ و ۱۰ با ۰/۲۶۵ مشاهده گردید. در روش جاکارد بیشترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ های ۳ و ۱۲ با ۰/۹۲ و کمترین میزان عدم تشابه بین ژنوتیپ های ۷ و ۱۰ با ۰/۴۲ مشاهده شد. ژنوتیپ های ۳ و ۱۲ که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی هستند هر دو جزء

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

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

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

میانگین محتوای چندشکلی مقدار ۰/۶۵۴ بود که با نتایج گزارش شده در مطالعات قبلی مکان های ریزماهوره در گندم، توسط Roder et al. (1995) با مقدار ۰/۲۳ تا ۰/۷۹ و میانگین ۰/۷۱، Plaschke et al. (1995) از ۰/۲۹ تا ۰/۷۹، Prasad et al. (2000)، Agrama et al. (2003) از ۰/۲۳ تا ۰/۸۱ و با میانگین ۰/۷۱، Tahernezahd et al. (2010) نیز میانگین محتوای چندشکلی را در این گونه ۰/۲۶۷ بدست آوردند و تعداد کل باندهای چندشکلی را از ۵ تا ۱۷ گزارش کردند. در مطالعه Saeidi et al. (2006) میانگین محتوای چندشکلی ۰/۶۵۹۱ و تعداد کل باندها نیز از ۴ تا ۱۲ متغیر بودند. Li Jun et al. (2007) با بررسی تنوع ژنتیکی ۸۵ توده از این گونه با استفاده از ۲۲ مکان ریز مهوره، 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

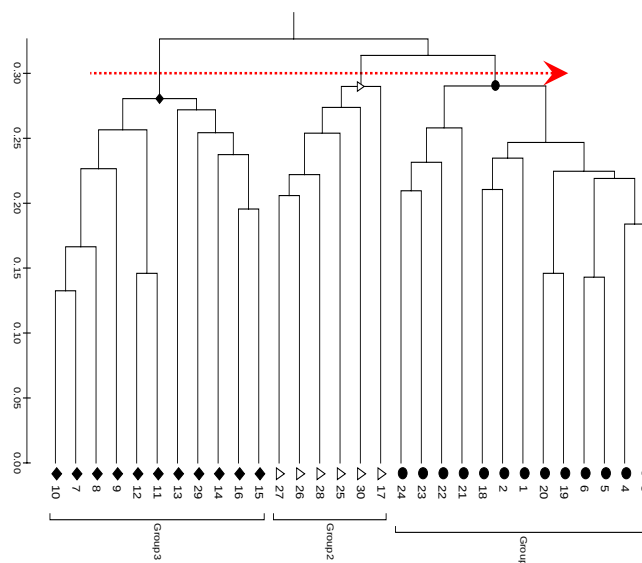


شکل ۳- گروه بندی ۳۰ ژنوتیپ گندم نیای تائوشی، با استفاده از ۶۹ باند نمره‌دهی شده از ۱۷ مکان نشانگرهای ریزماهوره (الگوریتم UPGMA براساس ماتریس عدم تشابه جاکارد).

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 ۰/۶۵۴ و کمترین فاصله بین دو گروه ۱ و ۳ با ۰/۶۲۳ مشاهده شد. در این روش بیشترین متوسط فاصله درون گروهی با ۰/۵۳۷ در گروه دوم و کمترین متوسط فاصله درون گروهی با ۰/۵۰۷ 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 ۰/۱۰۶ دارای کمترین فاصله (بیشترین قرابت) و گروه‌های ۱ و ۲ با ۰/۱۳۲ دارای قرابت کمتری هستند. بیشترین فاصله در گروه اول براساس روش دایس بین ژنوتیپ‌های ۱۸ و ۲۱-۱۸ و ۲۲ با ۰/۷۲۲ و کمترین فاصله بین دو ژنوتیپ ۵ و ۶ با ۰/۲۸۶ مشاهده شد، در روش جاکارد نیز همین ژنوتیپ‌ها به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فاصله به میزان ۰/۸۴ و ۰/۴۴ بودند. در گروه دوم براساس روش دایس ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۳۰ با ۰/۶۸۸ دارای بیشترین فاصله و ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۲۶-۲۶ و ۲۷ دارای کمترین فاصله با ۰/۴۱۲ بودند اما در روش جاکارد ژنوتیپ‌های ۲۸ و ۱۷-۳۰ و ۱۷ بیشترین فاصله را با ۰/۸۱ و ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۲۶-۲۶ و ۲۷ کمترین فاصله را با ۰/۵۸ 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 ۲۸ و کمترین فاصله مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۱۵ می‌باشد که فاصله ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۲۸ در روش دایس ۰/۷۸۹ و در روش جاکارد ۰/۸۸ می‌باشد. کمترین فاصله در روش دایس ۰/۴۵۰ و در روش جاکارد ۰/۶۲ بوده که در بین ژنوتیپ‌های ۱۴ و ۱۵ مشاهده شد. گروه‌بندی ۳۰ ژنوتیپ گندم آژیلوپس با استفاده از دندروگرام تهیه شده با ۶۹ آل تولید شده از ۱۷ مکان نشانگرهای ریزماهوره انجام شد (شکل‌های ۲ و ۳). فاصله ژنتیکی محاسبه شده با ضرایب دایس در مطالعه Naghavi et al. (2009) بین ۰/۴۸ تا ۱/۲۴ بود که نتیجه گرفتند که فاصله ژنتیکی بین زیرگونه استرانگولانا و گندم نان کمتر از زیرگونه تائوشی است. Haji Karam et al. (2011) با استفاده از ضرایب دایس، بیشترین شباهت ژنتیکی بین نمونه‌ها (۰/۸۸) را مربوط به استان‌های قزوین و گیلان و کمترین شباهت ژنتیکی (صفر) را در تعدادی از نمونه‌ها مشاهده کردند. میانگین شباهت ژنتیکی هم ۰/۱۰۱ بدست آمد.



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

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 ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۲۹ در گروه سوم و ژنوتیپ ۲۷ در گروه دوم و ۳ ژنوتیپ ۱، 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 ژنوتیپ‌های استان اردبیل بیشترین فاصله را ژنوتیپ های ۱۸ و ۲۶ با ۰/۷۰۶ و کمترین فاصله را ژنوتیپ‌های ۱۷ و ۲۶ با ۰/۴۱۲ نشان دادند در روش جاکارد همین ژنوتیپ‌ها به ترتیب بیشترین و کمترین فاصله را با ۰/۸۳ و ۰/۵۸ نشان دادند. در روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های استان مازندران در بین ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۲ با ۰/۷۷۱ و کمترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۰ با ۰/۲۶۵ مشاهده شد.

روش جاکارد بیشترین فاصله را بین دو ژنوتیپ ۱۳ و ۲ با ۰/۸۷ و کمترین فاصله را بین ژنوتیپ‌های ۷ و ۱۰ با ۰/۴۲ نشان داد. در روش دایس بیشترین فاصله در بین ژنوتیپ‌های استان گیلان مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۶ و ۳۰ با ۰/۷۴۴ و کمترین فاصله مربوط به دو ژنوتیپ ۲۵ و ۳۰ با ۰/۶۳۶ می‌باشد. در روش جاکارد همین ژنوتیپ‌ها به ترتیب دارای بیشترین و کمترین فاصله با ۰/۸۵ و ۰/۷۸ می‌باشند. بین ژنوتیپ‌های استان آذربایجان شرقی براساس روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۲۴ و ۵ با ۰/۵۲۶ و 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 ژنوتیپ‌ها با ۰/۶۹ و ۰/۵۹ نشان داد. براساس روش دایس در بین ژنوتیپ‌های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) بیشترین فاصله بین

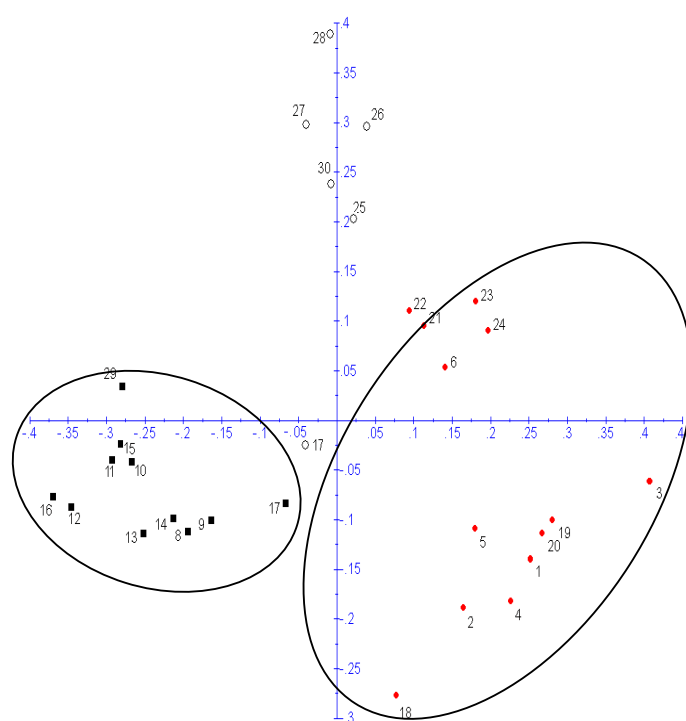
ژنوتیپ‌های ۱ و ۱۶، ۸ و ۲۵ با ۰/۷۸۹ و کمترین فاصله بین دو ژنوتیپ ۷ و ۱۰ با ۰/۲۶۵ مشاهده شد. روش جاکارد نیز بیشترین فاصله را در بین ژنوتیپ‌های نواحی شمالی (مازندران و گیلان) در بین ژنوتیپ‌های ۱۶ و ۸، ۲۵ و ۰/۸۸ و کمترین فاصله را بین دو ژنوتیپ ۷ و ۱۰ با ۰/۴۲ نشان داد. همچنین در بین ژنوتیپ‌های نواحی شمال غرب (اردبیل و آذربایجان شرقی) براساس روش دایس بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۱۸ و ۲۶ با ۰/۷۰۶ و کمترین فاصله بین ژنوتیپ‌های ۵ و ۶ با ۰/۲۸۶ مشاهده شد. روش جاکارد نیز بیشترین و کمترین فاصله را بین همین ژنوتیپ‌ها به ترتیب با ۰/۸۳ و ۰/۴۴ نشان داد. به‌طور کلی ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده در نواحی شمالی (مازندران و گیلان) تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده نواحی شمال غرب (اردبیل و آذربایجان شرقی) نشان دادند. در بین ژنوتیپ‌های نواحی شمالی نیز ژنوتیپ‌های استان مازندران دارای تنوع بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های استان گیلان بودند و نمونه‌های این استان در هر سه گروه قرار داشتند. بنابراین نواحی شمالی به‌ویژه استان مازندران مرکز تنوع و خاستگاه اصلی آژیلوپس تائوشی می‌باشد و این گونه از این نقاط به سایر مناطق انتقال یافته است که لزوم توجه به ژرم‌پلاسم این مناطق را ایجاب می‌نماید. که با نتایج تحقیقات قبلی که مرکز تکامل و اهلی شدن گندم را غرب ایران و شرق عراق بیان کرده اند مطابقت دارد. (Saeidi et al. 2006) نیز بابررسی ۵۶ توده آژیلوپس تائوشی توسط نشانگر مولکولی میکرو سالتایت بیشترین تنوع ژنتیکی را ناحیه شمال ایران بیان کرده اند. همچنین سطح بالای تنوع ژنتیکی آژیلوپس تائوشی در ایران توسط (Lubbers et al. 1991). (Dvorak et al. 1998) و (Pestsova et al. 2000) نیز گزارش شده است. تجزیه کلاستر براساس هر دو روش دایس و جاکارد نشان داد که به‌طور مشخص نمی‌توان بین این دو زیرگونه تفکیک خاصی در نظر گرفت و ژنوتیپ‌های هر دو زیرگونه درداخل هر سه گروه قرار گرفتند. به عبارت دیگر با استفاده از این آغازگرها در جمعیت مورد بررسی هیچگونه اشتقاقی بین دو زیرگونه تائوشی و استرانگولاتا حاصل نشده که دلیل آن می‌تواند ناکافی بودن تعداد آغازگرها باشد.

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

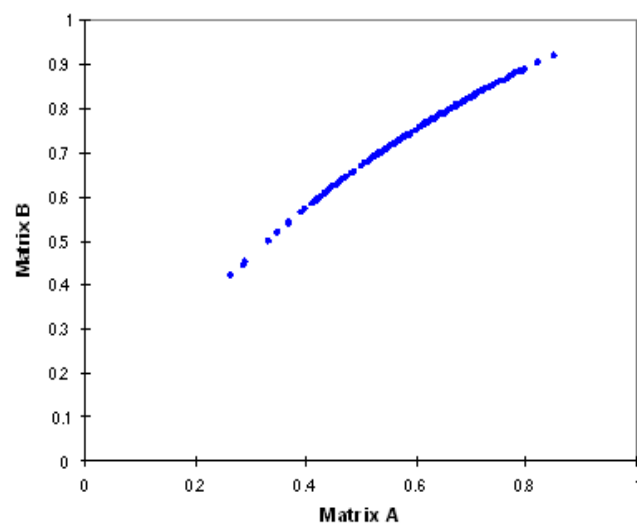
Dice	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
2	0.455																												
3	0.394	0.450																											
4	0.484	0.421	0.368																										
5	0.543	0.429	0.429	0.400																									
6	0.515	0.600	0.450	0.474	0.286																								
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	0.722	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 تائوشی، 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	0.67	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	0.84	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 مورد بررسی تکمیلی قرار گرفت. نتایج این تجزیه آماری (جدول ۶) نشان می‌دهد که محورها 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 دوسوم 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 کروموزوم 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 Haji Karam et al. (2011) تجزیه به مختصات اصلی نمونه های تائوشی، هر دو بعد در مجموع ۱۲ درصد از تغییرات را توجیه می کرد 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 آزیلوپس تائوشی موفق عمل می‌کنند و همچنین برای اختلافات درون‌گونه‌ای، این نشانگر بسیار کاراست. البته جمعیت‌های گندم آزیلوپس 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 تقدیر 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* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. Theor Appl Genet 97:657-670.
- Eig A (1929) Monographisch-kritisch Übersicht der Gattung *Aegilops* Verlag des Repertoriums, 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, Taleii AR, Aghaai 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, Ganai MW, Roder MS (2000) Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. Theor Appl Genet 101:100-106.
- Plaschke J, Ganai 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 Ganai MW (1998) A Microsatellite Map of Wheat. Genetics 149: 2007-2023.
- Röder MS, Plaschke J, König SU, Börner 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-Harrison 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.Spach) 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, Zahravi M, Imamjomeh AA, Aghaei MJ, Bihanta 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.