Archiv

Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Evaluation of genetic variation in einkorn wheat originated from west Iran using microsatellite markers

Mohammad Mehdi Poursiahbidi

PhD Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. Email: m.siahbidi@gmail.com

Kianoosh Cheghamirza

* Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. Tel: +989188311085 Email: cheghamirza@yandex.ru

Sohbat Bahraminejad

Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran. Email: sohbah72@gmail.com

Ahmad Arzani

Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. Email: a_arzani@cc.iut.ac.ir

Ali Ashraf Mehrabi

Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran. Email: alia.mehrabi@yahoo.com

Abstract

Objective

Genetic diversity in field crops and their wild ancestors plays important role in breeding programs. The aim of this study was to investigate the genetic diversity of einkorn (Triticum monococcum L. ssp. boeoticum) wheat genotypes collected from western parts of Iran using SSR markers.

Material and methods

In this study, genetic variation of 163 genotypes from 34 populations of einkorn wheat collected from western parts of Iran was investigated using 19 SSR loci developed in the A genome of hexaploid wheat.

www.SID.ir

Archive of SID

Results

In the investigation of 163 einkorn genotypes using 19 microsatellite loci were generated 151 polymorphic alleles with an average of 7.94 per locus. The content of polymorphic information content (PIC) in the studied einkorn genotypes ranged from 0.64 for Xgwm*480-3A* locus to 0.89 for *Xgwm4-4A* locus. The mean content of polymorphic information in the studied genotypes was 0.77. According to the results, Xgwm4-4A, Xgwm610-4A and Xgwm282-7A loci were identified as the most suitable primers for studying genetic diversity and differentiation of einkorn wheat genotypes. The mean of Shannon coefficient of 0.16 indicated moderate variation in genotypes under study. The average percentage of polymorphic gene loci in the 34 studied populations was 36.74 and the average heterozygosity was 0.114. Based on analysis of molecular variance for 34 populations, the variations between and within populations were calculated as 7% and 93%, respectively. Cluster analysis based on Jaccard coefficients and UPGMA algorithm classified the einkorn genotypes into 10 distinct groups. The results of the principal coordinate analysis revealed that the two primary vectors explained 29.33% and 24.01% of the total molecular genetic variance, respectively.

Conclusion

The results indicated the usefulness of microsatellite markers in identifying and grouping einkorn wheat genotypes, so that the obtained information could be used in breeding projects, germplasm conservation planning and collection of einkorn wheat populations.

Keyword: Einkorn wheat, Microsatellite markers, Triticum monococcum L. ssp. boeticum, West of Iran

Citation: Poursiahbidi MM, Cheghamirza K, Bahraminejad S, Arzani A, Mehrabi AA (2020) Evaluation of genetic variation in einkorn wheat originated from west Iran using microsatellite markers. Agricultural Biotechnology Journal 12 (2), 183-208.

Agricultural Biotechnology Journal 12 (2), 183-208.

DOI: 10.22103/jab.2020.15516.1212

Received: May 1, 2020; Accepted: August 9, 2020.

© Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای

محمدمهدی پورسیاه‌بیدی

دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، ایمیل: m.siahbidi@gmail.com

کیانوش چقامیرزا*

* نویسنده مسئول، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، تلفن: ۰۹۱۸۸۳۱۱۰۸۵ ایمیل: cheghamirza@yandex.ru

صحبت بهرامی‌نژاد

دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران، ایمیل: sohbah72@gmail.com

احمد ارزانی

استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، ایمیل: a_arzani@cc.iut.ac.ir

علی‌اشرف مهرابی

دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، ایمیل: alia.mehrabi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۱۹

چکیده

هدف: وجود تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی و اجداد وحشی آن‌ها نقش مهمی در پیشرفت برنامه‌های به‌نژادی دارد. گونه اینکورن (*Triticum monococcum* L. ssp. *boeoticum*) در نواحی غربی ایران تنوع وسیع و پراکنش جغرافیایی گسترده‌ای دارد. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن جمع‌آوری شده از این منطقه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای بود.

مواد و روش‌ها: تنوع ژنتیکی ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن جمع‌آوری شده از ۳۴ مکان متفاوت از سه استان غربی ایران با استفاده از ۱۹ جایگاه ژنی SSR از ژنوم A گندم هگزاپلوید بررسی شد.

نتایج: در ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن مورد مطالعه در مجموع ۱۵۱ آلل چندشکل برای ۱۹ جایگاه ریزماهواره‌ای با میانگین ۷/۹۴ شناسایی شد. دامنه محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بین ۰/۶۴ برای جایگاه ژنی Xgwm480-3A تا

www.SID.ir

Archive of SID

۰/۸۹ برای جایگاه ژنی Xgwm4-4A متغیر بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۰/۷۷ بود. با توجه به نتایج بدست آمده جایگاه‌های ژنی Xgwm4-4A، Xgwm610-4A و Xgwm282-7A مناسب‌ترین جایگاه‌ها برای بررسی تنوع ژنتیکی و تمایز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گندم اینکورن تشخیص داده شدند. میانگین ضریب شانون به میزان ۰/۱۶ نشان دهنده تنوع متوسط در ژنوتیپ‌های تحت بررسی بود. متوسط مکان‌های ژنی چندشکلی در ۳۴ جمعیت مورد مطالعه ۳۶/۷۴ درصد و میانگین هتروزیگوسیتی برابر ۰/۱۱۴ برآورد شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی برای ۳۴ جمعیت گندم اینکورن، اختلاف بین و درون جمعیت‌های مورد مطالعه به ترتیب ۷ و ۹۳ درصد مشاهده شد. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضرایب جاکارد و بر اساس الگوریتم UPGMA ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گندم اینکورن را در ۱۰ گروه طبقه‌بندی نمود. طبق نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی دو بردار اولیه به ترتیب ۲۹/۳۳ و ۲۴/۰۱ درصد از کل واریانس ژنتیکی مولکولی را تبیین نمودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حکایت از مفید بودن نشانگرهای ریزماهواره در شناسایی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم اینکورن داشت، به‌طوریکه از اطلاعات بدست آمده می‌توان در پروژه‌های اصلاحی، برنامه‌ریزی حفاظت ژرم پلاسم و ایجاد کلکسیون از جمعیت‌های گندم اینکورن استفاده نمود.

کلید کلیدی: غرب ایران، گندم اینکورن، نشانگرهای SSR، *Triticum monococcum* L. ssp. *boeoticum*

مقدمه

گندم به‌عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی، غذای نیمی از مردم دنیا را تامین می‌نماید و با تولیدی بیش از ۷۰۰ میلیون تن، ۲۰ درصد پروتئین روزانه و کالری ۴/۵ میلیارد نفر مردم جهان را تامین می‌نماید (Arzani & Ashraf 2017). سطح زیر کشت این محصول در ایران در سال ۲۰۱۷ حدود ۶/۷ میلیون هکتار گزارش شده است (FAO 2017). شناسایی ژن‌های مقاوم به تنش‌های زنده و غیر زنده محیطی به منظور انتقال آنها به گونه‌های زراعی جهت افزایش تولید از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مهم‌ترین و اساسی‌ترین نیاز در برنامه‌های به‌نژادی وجود و یا ایجاد تنوع به منظور انتخاب گیاهان برتر است (Mohammadi & Prasanna 2003). اطلاع از سطح تنوع موجود در ژرم‌پلاسم و خزانه‌های ژنتیکی می‌تواند جهت غنی‌سازی ذخایر ژنتیکی از طریق ژن‌های مناسب بکار رود. یکی از منابع مهم تنوع و شناسایی ژن‌های مفید، خویشاوندان وحشی می‌باشد. خویشاوندان وحشی گندم حاوی ژن‌های مفیدی برای مقاومت به آفات و بیماری‌ها، خشکی، شوری و حتی بهبود عملکرد و همچنین سازگاری به تنش‌های حاصل از تغییرات شرایط آب و هوایی هستند (Wang et al. 2007; Warschefsk et al. 2014). بنابراین استفاده از این ذخایر برای اصلاح ارقام مدرن یکی از الزامات اساسی در برنامه‌های به‌نژادی است. بررسی‌های متعدد بیانگر این واقعیت است که هنوز از تنوع ژنتیکی درون گونه‌های خویشاوند گندم به‌طور کامل استفاده نشده است (Maxted et al. 2006). گونه‌های جنس Triticum شامل گونه‌های مختلفی با سطوح پلوئیدی متفاوت می‌باشند که از میان آنها گندم‌های وحشی به ویژه گونه‌های دیپلوئید با

www.SID.ir

Archive of SID

ویژگی‌های مفید خود، پتانسیلی قابل استفاده در اصلاح گندم‌های زراعی به‌شمار می‌آیند. گندم‌های اینکورن دارای سطح کروموزومی 2n=2x=14 و دارای ژنوم AA و در بر گیرنده سه گونه T. monococcum، T. boeoticum و T. urartu وحشی هستند. مشخصاً T. monococcum نخستین گندم دیپلوئید اهلی است که از T. boeoticum تکامل یافته است و به همراه T. urartu یک والد دهنده ژنوم A به گندم‌های زراعی هگزاپلوئید و دوروم محسوب می‌شود، این گونه‌های گندم منابع ژنتیکی ارزشمندی برای اصلاح گندم‌های زراعی به‌شمار می‌آیند (Mizumoto et al. 2002).

یکی از راه‌های بهبود و افزایش کارایی روش‌های مرسوم اصلاح نباتات، انتخاب غیرمستقیم نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات مهم زراعی می‌باشد (Gupta & Varshney 2005). علاوه بر این، نشانگرهای مولکولی می‌توانند برای تعیین ویژگی‌های ژرم‌پلاسم‌های گیاهی، تشخیص بیماری‌های ژنتیکی، شناسایی گیاهان تراریخت، مطالعه ژنوم موجودات و تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیک مورد استفاده قرار گیرند (Rafalski et al. 1996). استفاده از نشانگرهای مولکولی در سال‌های اخیر جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها کاربرد گسترده‌ای یافته است. میزان چندشکلی به‌دست‌آمده از این نشانگرهای ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌های مختلف و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (Vajed Ebrahimi et al. 2016). در این میان، ریزماهواره‌ها به سبب برتری‌هایی که دارند، برای مطالعات ژنتیک جمعیت نسبت به سایر نشانگرها ارجح هستند (Vajed Ebrahimi et al. 2017). در نشانگرهای ریزماهواره سطح چندشکلی بالا به همراه نسبت بالای پراکنش و تکرار پذیری به خاطر طول بلند آغازگرها، اهمیت ویژه‌ای به این نشانگرها داده است (Chambers & Macavoy 2000). نشانگرهای SSR توراث هم‌بارز دارند و برای برآورد ساختار و روابط خویشاوندی افراد از قدرت بیشتری برخوردارند. نشانگرهای SSR به دلیل قابلیت تکرار پذیری خوب و عموماً خنثی بودن از لحاظ گزینشی برای تعیین روابط خویشاوندی کاربرد بیشتری دارند. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای ۲۱ ژنوتیپ از چهار گونه‌ی جنس تریتیکوم شمال و غرب ایران از نشانگرهای ریزماهواره‌ای استفاده شد (Salehi et al. 2018). در ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۲ جمعیت گندم اینکورن از ۲۴ جفت آغازگر ریزماهواره ژنوم AA گندم نان استفاده شد (Kharestani et al. 2013). در پژوهشی Kafi et al. (2018) تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ گندم نان را بر اساس نشانگرهای ریزماهواره مطالعه نمودند. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۲۲ رقم گندم نان از ۲۲ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد که ۱۱ جفت توانستند چندشکلی مطلوبی را نشان دهند (Ghasemi et al. 2019). با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۸۰ نمونه از واریته‌های گندم نان منشاء یافته از اروپا با استفاده از ۳۹ جفت آغازگر SSR، مشخص شد که تعداد آلل‌ها برای هر مکان ژنی بین ۴ تا ۴۰ آلل متفاوت بود و به طور میانگین ۱۶/۴ آلل برای هر مکان شناسایی شد (Roussel et al. 2005). به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵ لاین گندم سرداری با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR تنوع بالایی در میان این لاین‌ها گزارش شد (Pirseyedi et al. 2006). در مطالعه تنوع ژنتیکی ۳۰ رقم گندم با ۲۴ آغازگر ریزماهواره در مجموع ۱۱۵ آلل در دامنه‌ای از ۲ تا ۹ آلل و میانگین ۴/۶ آلل برای هر جایگاه گزارش شد (Liu et al. 2007). برای ارزیابی ۳۶ توده وحشی گندم‌های دیپلوئید غرب ایران از ۱۴ آغازگر RAPD، ۱۷ آغازگر AFLP و ۱۷ آغازگر SSR استفاده شد و میزان اطلاعات چندشکلی به ترتیب ۰/۴۵، ۰/۵۶ و۰/۸۱ گزارش گردید که نشانگر SSR بیشترین میزان

www.SID.ir

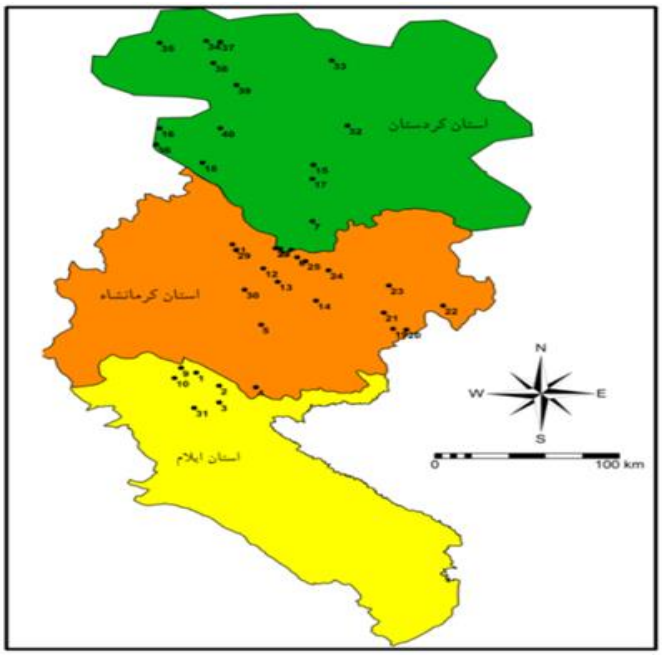
Archive of SID

اطلاعات چندشکلی را نشان داد (Naghavi et al. 2009). تعداد ۹۲ واریته گندم نان با استفاده از ۱۴ نشانگر SSR و بر اساس تجزیه خوشه‌ای در شش گروه طبقه‌بندی شدند (Drikvand et al. 2013). تنوع ژنتیکی ۶۴ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره مربوطه بررسی شد و تجزیه و تحلیل خوشه‌ای سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد (Kumar et al. 2012).

پراکنش گونه‌های وحشی در هلال حاصلخیز و همچنین موقعیت جغرافیایی ایران گویای این واقعیت است که ایران یکی از مناطق جغرافیایی مهم از نظر ذخایر ژنتیکی به‌ویژه گونه‌های دیپلوئید وحشی *T. boeoticum* است (Harlan & Zohary 1996)، به‌طوریکه عمومی‌ترین گندم خودروی موجود در ایران به‌شمار میآید (Salvi & Tuberosa 2005). این گیاه همچنین غنی از ژن‌های مقاومت به زنگ زرد بوده (Hammer et al. 2000) و بسیاری از آنها می‌توانند منابع بالقوه بسیار ارزشمندی برای آینده باشند (Jannik et al. 2001). بنابراین با توجه به تنوع وسیع و پراکنش جغرافیایی گونه اینکورن در نواحی غربی ایران، بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن جمع‌آوری شده از این منطقه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای هدف تحقیق حاضر بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این تحقیق ۳۴ جمعیت گندم اینکورن شامل ۱۶۳ نمونه از مناطق مختلف غرب ایران (استان‌های ایلام، کرمانشاه و کردستان) (شکل ۱ و جدول ۱) طی سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند.



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی نمونه‌های جمع‌آوری شده گندم اینکورن

Figure 1. Geographical situation of the collected einkorn wheat samples

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. موقعیت جغرافیایی مکان جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 1. Geographical situation of the collected einkorn wheat genotypes

علامت اختصاری Symbol	استان Province	مکان Location	تعداد ژنوتیپ Number of genotype	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude
A1 (OLD)	ایلام Ilam	چرداول Chardawell	5	46 22.674	33 54.949	1310
B1 (OLD)	ایلام Ilam	چرداول، گدمه Chardawell, Gadameh	4	46 30.358	33 48.311	1285
C1 (OLD)	ایلام Ilam	سیروان، کارزان Sirvan, Karazan,	5	46 31.557	33 42.655	1258
D1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	حمیل–شباب Homail-Shabab	5	46 43.740	33 50.076	1245
E1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	اسلام‌آباد Islamabad	4	46 22.917	34 15.106	1354
F1 (OLD)	کردستان Kurdistan	کامیاران، پاقلعه Kamyaran, Paghale	4	46 53.475	34 43.336	1408
G1 (OLD)	کردستان Kurdistan	سنندج–کامیاران Sanandaj-Kamyaran	5	46 57.863	34 59.434	1381
H1 (OLD)	کردستان Kurdistan	کامیاران–روانسر Kamyaran-Ravansar	5	46 47.233	34 46.987	1591
I1 (OLD)	ایلام Ilam	چرداول، چارمله Chardawell, Charmela	5	46 16.993	33 56.434	1193
J1 (OLD)	ایلام Ilam	ایوان، نرگسی Ivan, Nargessi	4	46 15.564	33 51.613	1113

OLD: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال اول نمونه‌برداری

OLD: Samples collected in the first year of sampling

NEW: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال دوم نمونه‌برداری

NEW: Samples collected in the second year of sampling

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱. موقعیت جغرافیایی مکان جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 1. Continued: Geographical situation of the collected einkorn wheat genotypes

علامت اختصاری Symbol	استان Province	مکان Location	تعداد ژنوتیپ Number of genotyp	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude
K1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	جوانرود Javanrood	5	46 30.699	34 48.013	1525
M1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	جاده روانسر Ravansar Road	5	46 42.022	34 39.089	1397
N1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	روانسر Ravansar	5	46 47.442	34 33.480	1302
P1 (OLD)	کرمانشاه Kermanshah	قزانچی Qazanchi	6	47 01.006	34 26.910	1368
R1 (OLD)	کردستان Kurdistan	مریوان، باشماق Marivan, Bashmagh	5	46 01.412	35 36.48	1335
T1 (OLD)	کردستان Kurdistan	سنندج، آبیدر Sanandaj, Abidar	5	46 58.453	35 17.544	1662
S1 (OLD)	کردستان Kurdistan	مریوان، ذکریان Marivan, Zakrian	5	46 16.137	35 22.572	1283
A2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	شهرک صنعتی، چقاکبود Industrial Town, Chaghakabod	5	47 30.463	34 16.906	1506
B2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	صحنه- کنگاور Sahne - Kangavar	5	47 32.548	34 16.252	1582
C2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	بیستون Bistoon	5	47 26.187	34 22.499	1301

OLD: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال اول نمونه‌برداری
OLD: Samples collected in the first year of sampling
NEW: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال دوم نمونه‌برداری
NEW: Samples collected in the second year of sampling

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۱. موقعیت جغرافیایی مکان جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 1. Continued: Geographical situation of the collected einkorn wheat genotypes

علامت اختصاری Symbol	استان Province	مکان Location	تعداد ژنوتیپ Number of genotype	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude
D2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	صحنه، بیدسرخ Sahne, bidsorkh	5	47 47.296	34 26.228	1548
E2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	بیستون- سنقر Bistoon-Songhor	5	47 26.445	34 34.575	1378
F2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	کندوله-زرین Kandule-Zarin	5	47 04.434	34 39.587	1467
G2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	کامیاران، کمرگره Kamyaran, Kameragare	5	46 56.477	34 42.522	1406
I2 (NEW)	کرمانشاه Kermanshah	کامیاران-جوانرود Kamyaran-Javanrood	5	46 46.322	34 47.456	1685
N2 (NEW)	کردستان Kurdistan	دیواندره-خرکه Divandareh- Kharakeh	5	47 07.205	35 40.554	2103
O2 (NEW)	کردستان Kurdistan	دیواندره- زرینه اوباتو Divandareh-Zarineh obato	4	46 59.01	36 01.075	2105
P2 (NEW)	کردستان Kurdistan	دیواندره- سقز Divandareh-saghez	5	46 23.677	36 12.766	1548
R2 (NEW)	کردستان Kurdistan	بانه Baneh	5	45 56.820	36 16.18	1660
S2 (NEW)	کردستان Kurdistan	سقز- مریوان Saqez-Marivan	5	46 18.448	36 12.037	1619

OLD: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال اول نمونه‌برداری

OLD: Samples collected in the first year of sampling

NEW: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال دوم نمونه‌برداری

NEW: Samples collected in the second year of sampling

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

ادامه جدول ۱. موقعیت جغرافیایی مکان جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 1. Continued: Geographical situation of the collected einkorn wheat genotypes

علامت اختصاری Symbol	استان Province	مکان Location	تعداد ژنوتیپ Number of genotype	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude	ارتفاع از سطح دریا Altitude
T2 (NEW)	کردستان Kurdistan	سقز–مریوان Marivan Saqez-	4	46 19.393	36 42.79	1607
V2 (NEW)	کردستان Kurdistan	سقز–مریوان، بسطام Saqez-Marivan, Bastam	5	46 21.538	35 53.797	1625
W2 (NEW)	کردستان Kurdistan	سد مریوان Marivan Dam	5	46 18.690	35 37.719	1432

OLD: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال اول نمونه‌برداری

OLD: Samples collected in the first year of sampling

NEW: نمونه‌های جمع‌آوری شده در سال دوم نمونه‌برداری

NEW: Samples collected in the second year of sampling

تجزیه مولکولی: استخراج DNA از نمونه‌های برگی به روش ستیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB) تشریح شده توسط دویل و دویل (Doyle & Doyle 1990) با کمی تغییرات انجام شد. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA از روش اسپکتروفتومتر (UNICO مدل ۴۸۰۲) و ژل آگارز ۰/۸ درصد استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) بر اساس روش ویلیامز و همکاران (Williams et al. 1990) و با اندکی تغییر انجام شد. حجم نهایی واکنش PCR، ۲۵ میکرو لیتر بود. ترکیب مواد استفاده شده در واکنش PCR در جدول ۲ نشان داده شده است.

واکنش PCR به صورت تاچ داون صورت گرفت. چرخه حرارتی عبارت بود از: یک چرخه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه به منظور واسرشت سازی اولیه DNA الگو، ۱۰ چرخه دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، یک دقیقه دمای اتصال با توجه به نوع آغازگر ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد و دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۱۰ چرخه دمای ۹۳ درجه

www.SID.ir

Archive of SID

سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، یک دقیقه دمای اتصال ۵۲ تا ۵۸ درجه سانتی‌گراد و دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۲۴ چرخه دمای ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، یک دقیقه دمای اتصال ۵۲ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد و دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت یک چرخه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای تکثیر نهایی و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای خنک کردن محصول واکنش به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. توالی و مشخصات ۱۹ جفت آغازگر SSR مورد استفاده از ژنوم A گندم هگزاپلوئید در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۲. غلظت و ترکیب مواد استفاده شده در واکنش PCR

Table 2. Concentration and composition of the materials used in the PCR reaction

اجزاء واکنش **Reaction components**	**مقدار مصرفی (میکرو لیتر)** **Dosage (microliter)**
بافر PCR (10×) PCR buffer (× 10)	2
دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات‌ها (dNTPها) ۲/۵ میلی مولار mM deoxynucleotide triphosphates (dNTPs 2.5)	0.4
کلرید منیزیوم (50 میلی مولار) Magnesium chloride (50 mM)	1
آغازگر (10 میکرو مولار) Primer (10 microM)	2.5
T*aq*DNA پلیمراز (5 واحد در میکرو لیتر) TaqDNA Polymerase (5 units per microliter)	1
آب دو بار تقطیر Distillated water	15.1
DNA (5 نانوگرم در میکرو لیتر) DNA (5 ng / µl)	3
حجم کل Total volume	25

فرآورده‌های PCR حاصل از آغازگرهای SSR با استفاده از الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۲/۵ درصد و بافر TAE و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید آشکار گردیدند. در نهایت پس از آب‌شویی عکس‌برداری با دستگاه ژل داک (مدلUVP) انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه داده‌ها: باندهای حاصل از محصول PCR به صورت صفر و یک به ترتیب برای عدم وجود باند و وجود باند کدگذاری شدند. ماتریس صفر و یک به منظور ارزیابی ساختار جمعیت مورد بررسی استفاده شد. با استفاده از فراوانی آللی، محتوای اطلاعات چندشکلی برای هر جایگاه ریزماهواره‌ای با فرمول $PIC = 1 - \sum_{i=1}^{k} Pi^2$ محاسبه گردید (Anderson et al. 1993). در این فرمول Pi فراوانی آلل iام در یک مکان ریزماهواره‌ای است که برای n آلل بسط داده می‌شود. تجزیه خوشه‌ای و رسم دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار Systat ver. 13.2.01 انجام شد. برای بدست آوردن ماتریس ضرایب، تجزیه به مختصات اصلی، مطابقت ماتریس حاصل از دندروگرام (ماتریس کوفنتیک) با ماتریس فاصله ژنتیکی و ضریب همبستگی کوفنتیک (r) از نرم‌افزار NTSYS ver 2.02 استفاده شد. برای تعیین تعداد گروه‌ها از روش تقریبی $\sqrt{n/2}$= تعداد گروه استفاده شد (Mardia et al. 1979) که در این رابطه n تعداد کل نمونه (ژنوتیپ) می‌باشد. برای تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) براساس داده‌های نشانگر مولکولی SSR و شاخص‌های ژنتیکی (هتروزنی، شاخص شانون، تعداد و درصد مکان‌های ژنی) برای جمعیت‌های مختلف از نرم‌افزار GenALEx ver 6.502 استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از ۱۹ آغازگر SSR در جدول ۳ آورده شده است. در ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن مورد مطالعه در مجموع ۱۵۱ آلل چندشکل، بین ۴ تا ۱۲ آلل با میانگین ۷/۹۴ برای هر جایگاه ریزماهواره‌ای شناسایی شد. در ۲۲ جمعیت گندم اینکورن با استفاده از ۲۴ جفت آغازگر ریزماهواره ژنوم AA گندم نان میانگین چندشکلی ۴/۱ آلل برای هر مکان ژنی بود Kharestani et al. 2013). در بررسی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای ۲۱ ژنوتیپ از چهار گونه‌ی جنس تریتیکوم شمال و غرب ایران با استفاده از ۲۰ آغازگر ریزماهواره‌ای به طور متوسط نه آلل در هر جایگاه شناسایی گردید (Salehi et al. 2018). در بررسی تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ گندم نان بر اساس ۱۵ جفت آغازگر ریزماهواره میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در مجموع مکان‌های ژنی ۶/۸۴ بدست آمد Kafi et al. (2018). در پژوهشی از مجموع ۱۰ جفت آغازگر انتخابی SSR در گندم نان، نه جفت چندشکلی با میانگین ۳/۴ آلل به ازای هر جفت آغازگر آشکار کردند (Nazari & Abdolshahi 2014). در ارزیابی تنوع ژنتیکی ۹۱ لاین دابل هاپلوئید گندم به همراه والدین آنها بوسیله ۱۱ جفت آغازگر ریزماهواره، تعداد آلل چندشکل بین ۲ تا ۸ گزارش گردید (Zargani et al. 2015). در مطالعه‌ای Mohammadi et al. (2013) برای ۲۰ رقم گندم نان با ۱۲ جفت آغازگر ریزماهواره در مجموع ۴۰ آلل چندشکل، بین ۲ تا ۶ آلل با میانگین ۳/۳۳ برای هر جایگاه ریزماهواره‌ای, گزارش نمودند. تفاوت در نتایج گزارش شده توسط مطالعات مختلف عمدتا می‌تواند به دلیل تفاوت در تعداد ارقام مورد مطالعه، سابقه ژنتیکی و تعداد نشانگر مورد استفاده برای شناسایی چندشکلی باشد. از آنجایی که میانگین تعداد آلل در هر مکان ریزماهواره مناسب بودن آن مکان ژنی برای تخمین تنوع ژنتیکی را نشان می‌دهد، بنابراین در مطالعه حاضر آغازگرهایی از قبیل SSR6، SSR7 و SSR10، SSR11، SSR13، SSR17 و

www.SID.ir

Archive of SID

SSR19 که تعداد آلل‌های زیادی در مکان‌های ریزماهواره‌ای آشکار نمودند برای بررسی تنوع ژنتیکی مطلوب تشخیص داده می‌شوند.

دامنه محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بین ۰/۶۴ برای جایگاه ژنی Xgwm480-3A تا ۰/۸۹ برای جایگاه ژنی Xgwm4-4A متغیر بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۰/۷۷ بود. در مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۲ جمعیت گندم اینکورن با ۲۴ جفت آغازگر ریزماهواره میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۵۱ بدست آمد (Kharestani et al. 2013). محتوای اطلاعات چندشکلی در مطالعه تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ گندم نان بر اساس ۱۵ جفت آغازگر ریزماهواره از ۰/۱۱ تا ۰/۳۹ با میانگین ۰/۲۲ متغیر بود (Kafi et al. 2018). در حالیکه در مطالعه Kouhestani et al. (2016) در بررسی تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ مختلف گندم دوروم با استفاده از ۱۶ جفت آغازگر SSR میزان شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۳۹ تا ۰/۴۹گزارش شد. محتوای اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آنها می‌باشد. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی بالا و وجود آلل یا آلل‌های نادر در یک جایگاه نشانگری است که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد (Pahlavani et al. 2016). با توجه به اینکه محتوای اطلاعات چندشکلی قدرت تفکیک یک نشانگر را به واسطه تعداد آلل‌های چندشکل و فراوانی نسبی این آلل‌ها در جمعیت نشان می‌دهد، لذا مقادیر بالاتر بدست آمده آن، نشان دهنده کارایی بالای این ترکیبات آغازگری در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر می‌باشد. بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان نمود که جایگاه‌های ژنی Xgwm4-4A، Xgwm610-4A و Xgwm282-7A مناسب‌ترین جایگاه‌ها برای بررسی تنوع ژنتیکی و تمایز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گندم اینکورن می‌باشند.

خصوصیات ژنتیکی جایگاه‌های SSR بر اساس جمعیت‌های گندم اینکورن مورد مطالعه در جدول ۴ ارائه شده است. در این تحقیق میانگین ضریب شانون ۰/۱۶ بود که نشان دهنده تنوع متوسط در ژنوتیپ‌های تحت بررسی است. شاخص شانون یکی از چندین شاخص تنوع ژنی است که برای ارزیابی گوناگونی و تنوع ژنتیکی درون جمعیت بکار می‌رود. ضریب شانون بیانگر میزان چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها است زیرا این شاخص نشان دهنده مقدار آلل‌های چندشکل در یک جایگاه ژنی است. جمعیت‌های B2 NEW (کرمانشاه، صحنه- کنگاور)، S2 NEW (کردستان، سقز-مریوان)، N1 OLD (کرمانشاه، روانسر)، E2 NEW (کرمانشاه، بیستون-سنقر) و T1 OLD (کردستان، سنندج، آبیدر) دارای بیشترین شاخص شانون بودند. این نتایج می‌تواند حاکی از آشکارسازی تنوع ژنتیکی زیاد در میان جمعیت‌های مورد اشاره توسط آغازگرهای SSR مورد استفاده باشد. جمعیت J1 OLD (ایلام، ایوان، نرگسی) کمترین میزان شاخص شانون را نشان داد که می‌تواند نشان دهنده تنوع ژنتیکی پایین این جمعیت باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. خصوصیات و نتایج حاصل از آغازگرهای SSR مورد استفاده در بررسی ۱۶۳ ژنوتیپ گندم گونه *T. boeoticum*

Table 3. Characteristics and results of the SSR primers used in the investigation of 163 einkorn wheat genotypes *T. boeoticum*

آغازگر/ مکان ژنی Gene loci/primer	محتوای اطلاعات چندشکلی Polymorphic information content	تعداد آلل Number of alleles	دما (°C) (Ta)	نام اختصاری آغازگر Abbreviated name of the primer
Xgwm164-1A	0.78	7	55	SSR-1
Xgwm99-1A	0.65	4	60	SSR-2
Xgwm33-1A	0.80	6	60	SSR-3
Xgwm357-1A	0.81	6	55	SSR-4
Xgwm497-1A	0.76	7	50	SSR-5
Xgwm312-2A	0.80	9	60	SSR-6
Xgwm249-2A	0.78	9	55	SSR-7
Xgwm480-3A	0.64	7	55	SSR-8
Xgwm369-3A	0.79	8	55	SSR-9
Xgwm162-3A	0.79	9	55	SSR-10
Xgwm4-4A	0.89	12	60	SSR-11
Xgwm610-4A	0.85	8	60	SSR-12
Xgwm637-4A	0.83	9	55	SSR-13
Xgwm165-4A	0.74	8	60	SSR-14
Xgwm595-5A	0.74	7	60	SSR-15
Xgwm126-5A	0.75	8	60	SSR-16
Xgwm156-5A	0.71	9	60	SSR-17
Xgwm459-6A	0.72	8	55	SSR-18
Xgwm282-7A	0.87	10	55	SSR-19
-	-	151		مجموع Total
-	0.77	7.94		میانگینAverage

جمعیت‌های B2 NEW (کرمانشاه، صحنه-کنگاور)، E2 NEW (کرمانشاه، بیستون-سنقر)، S2 NEW (کردستان، سقز-مریوان)، T1 OLD (کردستان، سنندج، آبیدر) و N2 NEW (کردستان، دیواندره-خرکه) بیشترین درصد مکان‌های ژنی چندشکل به ترتیب ۴۶/۳۶، ۴۵/۰۳، ۴۳/۷۱ و ۴۳/۰۵ درصد را نشان دادند. جمعیت‌های H1 OLD (کردستان، کامیاران-روانسر)، C1 OLD (ایلام، سیروان، کارزان)، Q2 NEW (کردستان، سقز-بانه) و J1 OLD (ایلام، ایوان، نرگسی) کمترین درصد مکان‌های ژنی چندشکل به ترتیب ۲۴/۵۰، ۲۳/۸۴، ۲۳/۸۴ و ۱۱/۲۶ درصد را نشان دادند. متوسط درصد مکان‌های ژنی

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

Archive of SID

چندشکل در ۳۴ جمعیت مورد مطالعه ۳۶/۷۴ بود. در پژوهشی Zhang et al. (2006) اظهار داشتند که دسترسی به درصد بالایی از چندشکلی می‌تواند ارزیابی سودمندی در بررسی‌های مربوط به تنوع ژنتیکی حاصل نماید. بنابراین، با توجه به حصول میزان متوسط چندشکلی در تحقیق حاضر می‌توان از نشانگر SSR به عنوان یک ابزار توانمند در مطالعات و برنامه‌های به‌نژادی گندم استفاده کرد. نتایج مطالعه حاضر با گزارش Salehi et al. (2018) که بر کارا بودن نشانگرهای ریزماهواره در بررسی تنوع ژنتیکی گونه T. monocuccum و سایر گونه‌های خویشاوند گندم تاکید نمودند، هماهنگی داشت.

میانگین هتروزیگوسیتی برابر ۰/۱۱۴ بود و جمعیت S2 NEW (کردستان، سقز–مریوان) بیشترین میزان هتروزیگوسیتی (He=۰/۱۳۰) و جمعیت J1 OLD (ایلام، ایوان، نرگسی) کمترین میزان هتروزیگوسیتی (He=۰/۰۶۲) را نشان داد. طبق نتایج بدست آمده میزان هتروزیگوسیتی جمعیت‌های مورد مطالعه پایین بود و میزان چندشکلی نیز می‌تواند به‌دلیل عوامل مختلف انتخاب طبیعی پایین باشد. در مطالعه Nazari & Abdolshahi (2014) در ۴۰ ژنوتیپ گندم نان میزان هتروزیگوسیتی کل جمعیت در تمام جایگاه‌های ژنی به طور متوسط ۰/۳۶ بدست آمد. رابطه مستقیمی بین تعداد آلل، هتروزیگوسیتی و محتوای اطلاعات چندشکلی دیده می‌شود (Kalivas et al. 2011).

نشانگرهایی با مقادیر محتوای اطلاعات چندشکلی بالا توانایی آشکارسازی تنوع بین آلل‌ها را داشته و می‌توانند به طور مؤثری برای نقشه‌یابی مولکولی و تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها مورد استفاده قرار گیرند (Kalivas et al. 2011). تنوع ژنتیکی بر اساس تجزیه واریانس مولکولی برای ۱۶۳ ژنوتیپ گندم اینکورن در سطح احتمال یک درصد محاسبه شد (جدول ۵)، نتایج نشان داد که اختلاف بین جمعیت‌ها هفت درصد و درون جمعیت‌ها ۹۳ درصد بود. بر این اساس بیشترین اختلاف در درون جمعیت‌های گندم اینکورن مورد مطالعه مشاهده شد. این نتیجه بیانگر این حقیقت است که تنوع بسیار بالای درون جمعیت‌ها موجب می‌شود که تفکیک جمعیت‌ها از یکدیگر به راحتی امکان‌پذیر نباشد. در مطالعه‌ای بر روی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی و ارقام اصلاح شده جو با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، بر اساس تجزیه واریانس مولکولی سهم واریانس بین و درون گروهی به ترتیب ۱۰ و ۹۰ درصد بود و به این ترتیب تنوع موجود در درون گروه‌ها درصد بسیار بیشتری از واریانس مولکولی کل را در مقایسه با تنوع بین گروه‌ها تبیین نمود (Abdollahi et al. 2012).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤. خصوصیات ژنتیکی جمعیت‌های گندم اینکورن مورد مطالعه براساس جایگاه‌های SSR

Table 4. Genetic characteristics of einkorn wheat populations based on SSR loci

جمعیت Population	استان Province	تعداد نمونه Number	شاخص شانون (I) Shannon index	هتروژن (He) Heterogeneous	مکان‌های ژنی Gene Loci
A1 (OLD)	Ilam	5	0.174 ± 0.019	0.122 ± 0.014	37.75
A2 (NEW)	Kermanshah	5	0.174 ± 0.018	0.120 ± 0.013	41.06
B1 (OLD)	Ilam	4	0.171 ± 0.019	0.124 ± 0.015	35.76
B2 (NEW)	Kermanshah	5	0.191 ± 0.018	0.129 ± 0.013	46.36
C1 (OLD)	Ilam	5	0.105 ± 0.016	0.073 ± 0.012	23.84
C2 (NEW)	Kermanshah	5	0.142 ± 0.020	0.103 ± 0.015	28.48
D1 (OLD)	Kermanshah	5	0.170 ± 0.018	0.118 ± 0.013	39.07
D2 (NEW)	Kermanshah	5	0.169 ± 0.018	0.117 ± 0.013	39.07
E1 (OLD)	Kermanshah	4	0.153 ± 0.018	0.110 ± 0.014	33.11
E2 (NEW)	Kermanshah	5	0.180 ± 0.017	0.121 ± 0.012	45.03
F1 (OLD)	Kurdistan	4	0.173 ± 0.020	0.126 ± 0.015	35.76
F2 (NEW)	Kermanshah	5	0.174 ± 0.018	0.119 ± 0.013	41.06
G1 (OLD)	Kurdistan	5	0.173 ± 0.019	0.120 ± 0.014	39.74
G2 (NEW)	Kermanshah	5	0.175 ± 0.019	0.122 ± 0.014	40.40
H1 (OLD)	Kurdistan	5	0.117 ± 0.018	0.084 ± 0.014	24.50
I1 (OLD)	Ilam	5	0.176 ± 0.019	0.122 ± 0.013	40.40
I2 (NEW)	Kermanshah	5	0.168 ± 0.016	0.116 ± 0.013	38.41
J1 (OLD)	Ilam	4	0.168 ± 0.016	0.062 ± 0.014	11.26
K1 (OLD)	Kermanshah	5	0.169 ± 0.019	0.121 ± 0.014	37.09
M1 (OLD)	Kermanshah	5	0.169 ± 0.019	0.122 ± 0.014	36.42
N1 (OLD)	Kermanshah	5	0.181 ± 0.019	0.128 ± 0.014	39.74

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ٤. خصوصیات ژنتیکی جمعیت‌های گندم اینکورن مورد مطالعه براساس جایگاه‌های SSR

Continued: Table 4. Genetic characteristics of einkorn wheat populations based on SSR loci

جمعیت Population	استان Province	تعداد نمونه Number	شاخص شانون (I) Shannon index	هتروژن (He) Heterogeneous	مکان‌های ژنی Gene Loci
N2 (NEW)	Kurdistan	5	0.176 ± 0.018	0.119 ± 0.013	43.05
O2 (NEW)	Kurdistan	4	0.158 ± 0.019	0.114 ± 0.014	34.44
P1 (OLD)	Kermanshah	6	0.170 ± 0.018	0.115 ± 0.013	39.74
P2 (NEW)	Kurdistan	5	0.168 ± 0.019	0.118 ± 0.014	36.42
Q2 (NEW)	Kurdistan	3	0.124 ± 0.018	0.098 ± 0.015	23.84
R1 (OLD)	Kurdistan	5	0.171 ± 0.019	0.120 ± 0.014	38.41
R2 (NEW)	Kurdistan	5	0.173 ± 0.019	0.120 ± 0.014	39.74
S1(OLD)	Kurdistan	5	0.177 ± 0.018	0.121 ± 0.013	41.72
S2 (NEW)	Kurdistan	5	0.190 ± 0.018	0.130 ± 0.013	45.03
T1 (OLD)	Kurdistan	5	0.180 ± 0.018	0.122 ± 0.013	43.71
T2 (NEW)	Kurdistan	4	0.143 ± 0.019	0.106 ± 0.015	29.14
V2 (NEW)	Kurdistan	5	0.172 ± 0.019	0.120 ± 0.014	38.41
W2 (NEW)	Kurdistan	5	0.179 ± 0.019	0.125 ± 0.014	40.40
میانگین		4.73	0.162	0.114	34.28

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای نشان داد که بالاترین ضریب کوفنتیک (r= ۰/۸۸) با استفاده از ضرایب جاکارد و بر اساس الگوریتم UPGMA بدست آمد. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای خصوصیات نواحی ریزماهواره‌ای نشان داد که ۱۶۳ ژنوتیپ مورد مطالعه گندم اینکورن در فاصله‌ی ۰/۹ با استفاده از روش تقریبی .Mardia et al (1979) در ۱۰ گروه به ترتیب شامل ۸، ۳، ۱۵، ۲۹، ۱۹، ۲۴، ۳ ،۳۴، ۲۷ و ۱ ژنوتیپ طبقه‌بندی شدند، به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های با مشخصات نزدیک در یک خوشه قرار گرفتند. خوشه‌های حاصل بیشترین یکسانی داخلی و بیشترین ناهمگونی خارجی (بین خوشه‌ها) را نشان دادند. نتایج تجزیه خوشه‌ای، نتایج تجزیه واریانس مولکولی را تایید نمود (شکل ۲)، به‌طوری که با وجود قرار گرفتن چندین ژنوتیپ با منطقه یکسان در کنار یکدیگر، تفکیک کامل و واضح ژنوتیپ‌ها از نظر جغرافیایی با استفاده از این تجزیه مقدور نبود. در واقع برخی از ژنوتیپ‌ها به واسطه داشتن شباهت بیشتر از نظر جایگاه‌های ژنی ریزماهواره‌ای در یک گروه قرار گرفته‌اند که این می‌تواند بیانگر تشابه شجره‌ای از نظر جایگاه‌های ریزماهواره باشد (Ghasemi et al. 2019).

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس مولکولی در ۱۶۳ ژنوتیپ از ۳٤ جمعیت گندم اینکورن

Table 5. Results of molecular variance analysis in 163 genotypes of 34 einkorn wheat populations

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean of squares	واریانس برآورد شده Estimated Variance	درصد تنوع Percentage of variation
بین جمعیت Between Populations	33	18.994	1.112	7
درون جمعیت Within Population	129	13.819	13.819	93
کل Total	162	—	14.931	100

به منظور بررسی بیشتر ساختار جمعیت و همچنین مطالعه روابط ژنتیکی بین ۳۴ جمعیت گندم اینکورن، از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) بوسیله ۱۹ نشانگر ریزماهواره براساس ماتریس فاصله ضرایب نی استفاده شد (Nei & Li, 1979). در تجزیه به مختصات اصلی به‌عنوان یکی از روش‌های توضیح تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت، بخش عمده‌ای از تنوع موجود در دو یا چند متغیر خلاصه می‌شود. دو مولفهٔ اول به ترتیب ۲۹/۳۳ و ۲۴/۰۱ درصد (مجموعاً ۵۳/۳۴ درصد) از واریانس کل را بیان کردند (جدول ۶). با توجه به اینکه میزان سهم دو مولفهٔ اول در توجیه واریانس کل نزدیک به هم و زیاد بود می‌توان نتیجه گرفت

www.SID.ir

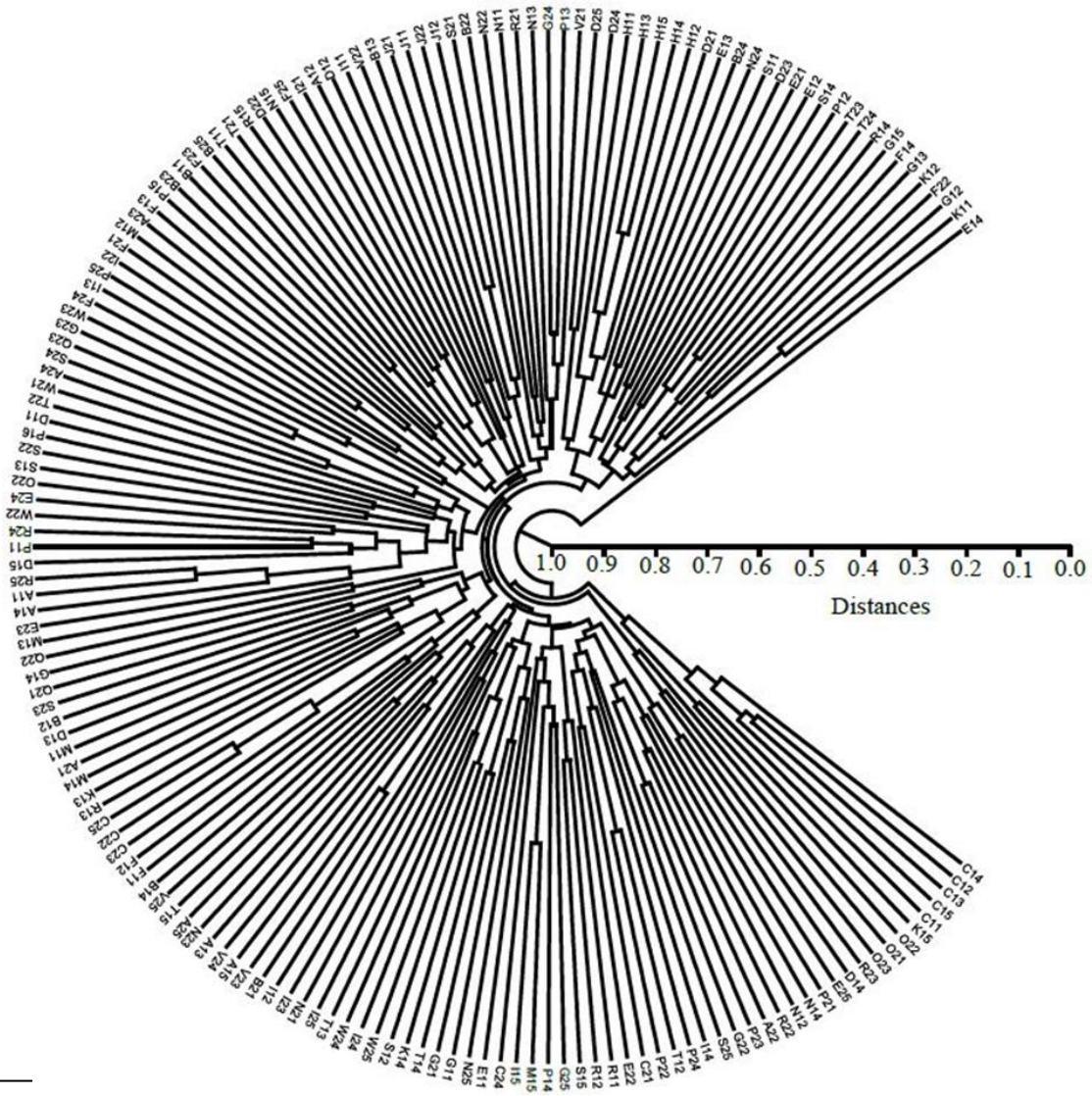
Archive of SID

که نشانگرهای استفاده شده در تحقیق حاضر از پراکندگی مناسب و یکنواختی در ژنوم گندم اینکورن برخوردار نبودند. بنابراین نتایج تجزیه به مختصات اصلی بیانگر این مطلب است که ۱۹ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده دارای توزیع مناسب ژنومی نبوده و بخش‌های محدودی از کل ژنوم گندم اینکورن را پوشش داده‌اند. نمودار حاصل از دو مولفه اصلی اول، گروه‌بندی کاملا متمایزی از ژنوتیپ‌ها را آشکار نکرد (شکل ۳) اکثر ژنوتیپ‌ها در ناحیه وسط دو مولفه به ترتیب ۲۹/۳۳، ۲۴/۰۱ درصد قرار گرفتند. این نتیجه نشان می‌دهد که این ژنوتیپ‌ها از لحاظ جایگاه‌های ریزماهواره‌ای مورد بررسی بیشتر به هم نزدیک هستند و جمعیت‌های جمع‌آوری شده از نواحی مختلف غرب کشور با استفاده از این جایگاه‌ها به خوبی از هم تفکیک نشدند. البته الگوی گروه‌بندی واضحی نیز براساس منشاء جغرافیایی آنها بدست نیامد. در مجموع نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی حاکی از وجود تنوع ژنتیکی بالا در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نبود. به طوری که فقط چهار جمعیت C1 OLD (ایلام، سیروان، کارزان)، J1 OLD (ایلام، ایوان، نرگسی) ،K1 OLD (کرمانشاه، جوانرود) و M1 OLD (کرمانشاه، جاده روانسر) دارای تفاوت با بقیه جوامع بودند. نتایج تجزیه به مختصات اصلی به نوعی تاییدی بر تجزیه خوشه‌ای بود، به‌طوری که همین چهار جمعیت C1 OLD، J1 OLD، K1 OLD و M1 OLD در نمودار تجزیه خوشه‌ای نیز در شاخه‌های جداگانه قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری :علی‌رغم اینکه ژنوتیپ‌های انتخاب شده از یک مکان از مبدأ یکسان و مشابهی برخوردار بودند اما با به‌کارگیری ۱۹ نشانگر ریزماهواره، تنوع قابل ملاحظه‌ای در میان ژنوتیپ‌های متعلق به آن مکان یا جمعیت شناسایی شد. با توجه به میزان محتوای اطلاعات چندشکلی بالا (متوسط ۷۷ درصد) و تعداد آلل مناسب، می‌توان اظهار نمود که نشانگرهای SSR11، SSR12 و SSR19 مناسب‌ترین نشانگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی و تمایز ژنوتیپ‌ها در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه گندم اینکورن بوده‌اند. نتایج حکایت از مفید بودن نشانگرهای ریزماهواره جهت شناسایی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم اینکورن داشت، به‌طوریکه از اطلاعات به دست آمده می‌توان در پروژه‌ای اصلاحی، برنامه‌ریزی حفاظت ژرم‌پلاسم و ایجاد کلکسیون از جمعیت‌های گندم اینکورن استفاده نمود. البته ۱۹ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده دارای توزیع مناسب ژنومی نبوده و بخش‌های محدودی از کل ژنوم گندم اینکورن را پوشش داده‌اند. بنابراین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی تعداد نشانگرهای ریزماهواره بیشتری همراه با صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی بصورت توأم بکار گرفته شود به‌طوری که این نشانگرها بتوانند نواحی بیشتری از ژنوم گندم اینکورن را پوشش دهند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. نمودار حاصل از تجزیه خوشه‌ای۱۶۳ ژنوتیپ (۳٤ جمعیت) گندم اینکورن با استفاده نشانگرهای SSR بر اساس ضرایب جاکارد و با روش UPGMA (در شکل حروف و اولین شماره نشان دهنده جمعیت و دومین شماره مربوط به شماره نمونه در جمعیت می‌باشد.)

Figure 2. Diagram of the cluster analysis of 163 genotypes (34 populations) einkorn wheat based on Jaccard coefficients and UPGMA algorithm using SSR markers

(Alphabets and digits in Figure show the population and sample number in population).

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

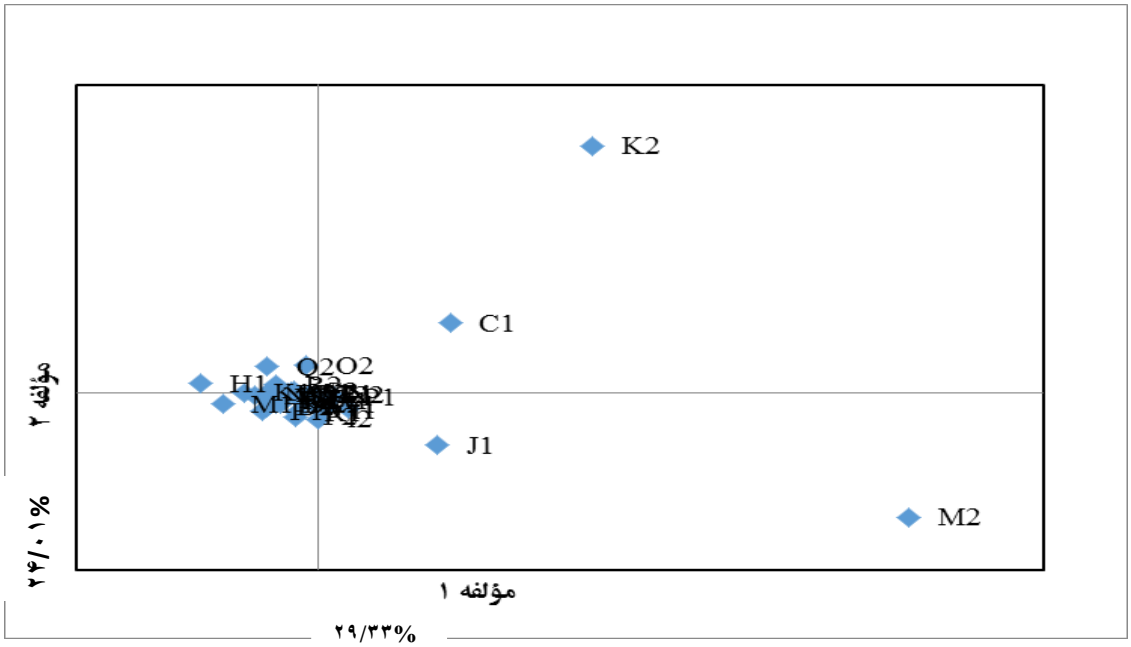
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٦. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی بر اساس نشانگر SSR در ژنوتیپ‌های گندم اینکورن

Table 6. Results of principal coordinates analysis based on SSR markers in einkorn wheat genotypes

مؤلفه Component	مقدار ویژه Eigen value	درصد تنوع توجیه شده Percentage of variation justified	درصد تجمعی The cumulative percentage
1	0.022	29.33	29.33
2	0.018	24.01	53.34



شکل ۳. نمودار بای‌پلات ۳٤ جمعیت گندم اینکورن براساس تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از ۱۹ نشانگر SSR

Figure 3. Biplot of 34 einkorn wheat populations based on principal coordinates analysis using 19 SSR markers

منابع

پهلوانی سمیه، ایزانلو علی، پارسا سهیل، قادری محمدقادر (۱۳۹۵) ارتباط بین صفات کیفی دانه و نشانگرهای مولکولی SSR در برخی از ژنوتیپ‌های گندم نان. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۸ (۱۹)، ۳۶-۲۵.

www.SID.ir

خارستانی هادی، نصراله نژادقمی علی‌اصغر، مهرابی علی‌اشرف (۱۲۹۲) بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۶ (۲)، ۱۶-۱.

زرگانی مهدی؛ رنجبر غلامعلی؛ ابراهیم‌نژاد شاهپور (۱۳۹۴) بررسی مولکولی تنوع ژنتیکی درلاین‌های دابل هاپلوئید گندم نان با استفاده از نشانگرهای SSR. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۷ (۱۵)، ۹۵-۸۸ .

عبدالهی سیسی نیر؛ محمدی سیدابوالقاسم؛ علوی‌کیا سید سیامک؛ صادق‌زاده بهزاد (۱۳۹۱) کاربرد نشانگرهای EST-SSR در تعیین ساختار ژنتیکی توده‌های بومی و ارقام اصلاح شده جو و تمایز آنها. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ، مشهد، ایران.

قاسمی نسرین؛ میرفخرایی رضاقلی؛ و عباسی علیرضا (۱۳۹۸) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم نان (Triticum aestivum L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۱ (۲۹)، ۱۶-۹.

کافی هانیه، نوابپور سعید، زینلی‌نژاد خلیل، پهلوانی محمدهادی (۱۳۹۷) ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم نان ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگرهای SSR . ژنتیک نوین ۱۳ (۲)، ۳۱۱-۳۰۷.

کوهستانی محمد؛ صادق‌زاده بهزاد؛ ابراهیمی محمدعلی؛ یوسفی ولی‌اله (۱۳۹۵) شناسایی نشانگرهای SSR پیوسته با صفات زراعی در گندم دوروم. دومین کنگره بین المللی و چهاردهمین کنگره ملی ژنتیک ایران ۳-۱ خرداد، تهران؛ ایران.

محمدی مجید؛ میرفخرایی رضاقلی؛ عباسی علیرضا (۱۳۹۲) مطالعه تنوع ژنتیکی گندم نان (*Triticum aestivum* L.) به کمک نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه ارتباطی برای صفات فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره .ژنتیک نوین ۳، ۲۷۹-۲۸۸.

نظری مریم؛ و عبدالشاهی روح‌اله (۱۳۹۳) بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم نان (*Triticum aestivum* L.) از طریق صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای مولکولی SSR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۶ (۳): ۲۳۱-۲۱۵.

واجد ابراهیمی محمدتقی؛ محمدآبادی محمدرضا؛ اسماعیلی‌زاده علی (۱۳۹۶) بررسی تنوع ژنتیکی چهار نژاد از گوسفندان موجود در ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای. فنآوری زیستی در کشاورزی ۱۶، ۵۹-۶۷.

واجدابراهیمی محمدتقی، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی (۱۳۹۴) بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۷(۴)، ۱۵۸-۱۴۳.

References

Abdollahi-Sisi N, Mohammadi SA, Alavikia S, Sadeghzadeh B (2012) Analysis of genetic diversity in barley improved and landraces using SSR. Proceeding of 3rd Iranian Agricultural Biotechnology Congress. 3-5 September, Ferdowsi University of Mashhad, Iran (In Persian).

www.SID.ir

Archive of SID

Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE et al. (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome 36, 181-186.

Arzani A, Ashraf M (2017) Cultivated ancient wheats (Triticum spp.): A potential source of health-beneficial food products. Compr Rev Food Sci Food Saf 16, 477-488.

Chambers GK, Macavoy ES (2000) Microsatellites: consensus and controversy. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 126, 455-476.

Doyle JJ, Doyle, JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12, 13-15.

FAO. 2017. FAOSTAT Database. Available online at: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC

Gupta PK, Varshney RK (2005) Cereal genomics: an overview. Springer 1-18.

Ghasemi N, Mirfarkhai RH, Abbasi AS (2019) Genetic diversity of bread wheat (Triticum aestivum L.) cultivars using microsatellite markers. J Crop Breed Res 29, 9-16 (In Persian).

Hammer K, Filatenko AA, Korzun V (2000) Microsatellite markers - a new tool for distinguishing diploid wheat species. Genet Resour Crop Evol 47, 497-505.

Harlan JR, Zohary D (1996) Cultivated einkorn=Triticum monococcum L.subsp. monococcum (Triticum mono monococcum); wild einkorn=*T.* m. boeoticum; and Triticum monococcum L. subsp. aegiliopoides (Triticum mono aegilopoides). Sci 153, 1074-1080.

Ismaili A, Nazarian Firoozabadi F, Samiey K. and Drikvand R (2017) Assessment of genetic diversity among rain-fed wheat genotypes,using intron-exon semi random primers. J Cell Mol Res (Iranian Journal of Biology) 30, 121-129.

Jannik JL, Bink MC, Jansen RC (2001) Using complex plant pedigrees to map valuable genes. Trends Plant Sci 6, 337–42.

Kafi H, Navabpour S, Zaynali Nezhad KH, Pahlavani MH (2018) Evaluation of genetic diversity in Iranian and exotic wheat genotypes using SSR markers. Mod Genet 13, 307-311 (In Persian).

Kalivas A, Xanthopoulos F, Kehagia O, Tsaftaris AS (2011) Agronomic characterization genetic diversity and association analysis of cotton cultivars using simple sequence repeat molecular markers. Genet Mol Res 10, 208-217.

Kharestani H, Nasrolah Nejad Qomi AA, Mehrabi AA (2013) Genetic diversity assessment of Einkorn wheat by using microsatellite markers. EJCP 6, 1-16 (In Persian).

Kouhestani M, Sadeghzadeh S, Ebrahimi MA, Yousefi A (2016) Identification of SSR markers associated with agronomic traits in durum wheat. International & National Genetics Congress. Venue: Shahid Beheshti University, International Congress Center, Tehran, I. R of Iran.

Kumar R, Kumar A, Kumar SA, Radha J (2012) Evaluation of genetic diversity in rice sing simple sequence repeats (SSR) markers. Afr J Biotechnol 84, 14956-14995.

www.SID.ir

Archive of SID

Liu J, Liu L, Hou N, Zhang A (2007) Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. Euphytica 155, 249-258.

Mardia KV, Kent JT and Bibby JM (1979) Multivariate analysis. Academic press.

Maxted NBV, Ford-Lloyd SL, Jury SP, Kell MA Scholten. (2006) Towards a definition of a crop wild relative. Biodivers Conserv 15, 2673-2685.

Mir Drikvand R, Khyrolahi A, Ebrahimi A, Rezvani M (2015) Study of Genetic Diversity among Some Rainfed Bread and Durum Wheat Genotypes, Using SSR Markers. Plant Genet Res 1, 35-44 (In Persian).

Mizumoto K, Hirosawa S,Nakamura C, Takumi S (2002) Nuclear and chloroplast genome genetic diversity in the wild einkorn wheat (Triticum urartu), revealed by AFLP and SSLP analyses. Hered 137, 208-214.

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

Mohammadi M, Mirfakhraii RG, Abbasi A (2013) Genetic diversity in bread wheat (Triticum aestivum L.) as revealed by microsatellite markers and association analysis of physiological traits related to spring cold stress. Mod Genet 3, 279-288 (In Persian).

Naghavi MR, Malaki M, Alizadeh H et al. (2009) An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat Triticum boeoticum from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. J Agron Sci Technol 11, 585-598.

Nazari M, Abdolshahi R (2014) Evaluation of genetic diversity in bread wheat cultivars *(*Triticum aestivum L.) using morpho-physiological traits and SSR markers. J Agric Biotechnol 6, 215-231 (In Persian).

Nei, M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Science 76, 5269-5273.

Pahlavani S, Izanloo A, Parsa S, Ghaderi MG (2016) Association between Grain Quality Traits and SSR Molecular Markers in Some Bread Wheat Genotypes. J Crop Breed 19, 25-36 (In Persian).

Pirseyedi SM, Mardi M, Naghavi MR et al. (2006) Evaluation of genetic diversity and identification of informative markers for morphological characters in Sardari derivative wheat lines. Pak J Agric Biotechnol Sci 9, 2411-2418.

Rafalski JA, Vogel JM, Morgante M et al. (1996) Generating and using DNA markers in plants. Nonmammalian Genomic Analysis. A Practical Guide 75-134.

Roussel V, Leisova L, Exbrayat F et al. (2005) SSR allelic diversity changes in 480 European bread wheat varieties released from 1840 to 2000. Theor Appl Genet 111, 162-170.

www.SID.ir

Archive of SID

Salehi M, Arzani A, Talebi M, Rokhzadi A (2018) Genetic diversity of wheat wild relatives using SSR markers. Genet 50, 131-141.

Salvi S, Tuberosa R (2005) To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. Trends Plant Sci 10, 297-304.

Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. Agric Biotechnol J 7, 143-158 (In Persian).

Vajed Ebrahimi MT, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK (2017) Genetic Diversity Analysis of Four Sheep Breeds Existing in Iran Using Microsatellite Markers. Agric Biotechnol 8, 59-66 (In Persian).

Wang H, Wang X, Chen P, Liu D (2007) Assessment of genetic diversity of Yunnan, Tibetan and Xinjiang wheat using SSR markers. J Genet Genom 34, 623-633.

Warschefsky E, Penmetsa RV, Cook DR, von Wettberg EJB (2014) Back to the wilds: tapping evolutionary adaptations for resilient crops through systematic hybridization with crop wild relatives. Am J Bot 101, 1791-1800.

Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ et al. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res 18, 6531-6535.

Zargani M, Ranjbar GA, Ebrahim Nejad Sh (2015) Molecular assessment of genetic diversity among bread wheat (Triticum aestivum L.) doubled haploid lines using SSR markers. J Crop Breed 7, 88-95 (In Persian).

Zhang HY, Liu XZ, Li TS, Yang YM (2006) Genetic diversity among Flue-cured tobacco (Nicotiana tabacum L.) revealed by amplified fragment length polymorphism. Bot Stud 47, 223-229.

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500
www.SID.ir

Archive of SID

Agricultural Biotechnology Journal; Printing ISSN: 2228-6705, Electronic ISSN: 2228-6500

www.SID.ir