

مطالعه روابط خویشاوندی و تنوع ژنتیکی ارقام و لاینهای گندم (*Triticum aestivum*) با نشانگرهای RAPD

بابک عبدالهی مندولکانی^۱، بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی^۲، علی اکبر شاه‌نجات بوشهری^۳،
محمد رضا قنادها^۴ و منصور امید^۵

۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشجوی دوره دکتری اصلاح نباتات، استادیاران و دانشیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۱۰/۱۸

خلاصه

برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم، دی - ان - ای ژنومی به روش دلاپورتا (۱۹۸۳) استخراج والگوی نواریندی آنها با ۵۰ آغازگر RAPD مورد مطالعه قرار گرفتند. هشت آغازگر تکثیر دی - ان - ای الگو را بخوبی انجام داده و در بین ژنوتیپها چند شکلی نشان دادند. بقیه آغازگرها فاقد نوار و یا منومورف بودند. در مجموع ۱۵۳۲ نوار تولید شد. نوارهایی که دارای تکرارپذیری بالایی بودند انتخاب و وارد محاسبات شدند. آغازگر UBC66 بیشترین تعداد نوار و آغازگر UBC77 کمترین تعداد نوار را تولید کردند. در بین ارقام و لاینها بیشترین و کمترین تعداد نوار به ترتیب مربوط به ارقام دیهم و رشید بودند. تجزیه کلاستر بر اساس حضور (۱) و عدم حضور (۰) نوار با استفاده از ضریب تطابق ساده و مبتنی بر روش UPGMA با نرم افزار SPSS انجام گرفت. دامنه ضرایب تشابه از ۰/۴۰ تا ۰/۹۱ متغیر بود. میانگین ضرایب تشابه ۰/۶۴ بود. میانگین ضرایب تشابه لاینها بیشتر از ارقام بود. لاین ۷۱۰۷ کمترین تشابه را با ارقام داشت. بیشترین تشابه ژنتیکی بین ارقام آزادی و خزر ا دیده شد. این ارقام دارای بعضی خصوصیات مشابه، مانند داشتن والد مشترک، زودرسی و حساسیت به ریزش می باشند. بیشترین تمایز ژنتیکی بین لاین ۷۱۰۷ و رقم کرج ۳ بود. دارنگاره (دندروگرام) حاصله دو گروه عمده را نشان داد. هر گروه شامل ۱۴ عضو بود. همچنین هر یک از گروهها به زیرگروههایی تقسیم شدند. با توجه به میانگین ضرایب تشابه لاینها، وجود چنین تنوعی در بین لاینها از جذابیت مطلوبی برخوردار نیست و لازم است نسبت به گسترش ژرم پلاسما و تنوع ژنتیکی آنها اقدام شود. همچنین این چنین تحقیقاتی پیش نیاز اساسی برای برنامه های دورگ گیری بشمار می رود.

واژه‌های کلیدی: گندم هگزاپلوئید، تنوع ژنتیکی، نشانگر RAPD

مقدمه

آگاهی دقیق از تنوع ژنتیکی مجموعه‌های ژنتیکی گیاهی ضمن حفظ ذخائر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه‌های اصلاحی تامین می‌کند. همچنین کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی نسبی بین افراد و جمعیتها و روابط خویشاوندی بین آنها، امکان سازماندهی ژرم پلاسما و تهیه جمعیتهای مناسب برای ترسیم نقشه‌ی ژنتیکی و مکان یابی ژنها را فراهم می‌سازد

(۲۷). برای بررسی تنوع ژنتیکی روشهای مختلفی از جمله توزیع جغرافیایی مورفولوژیکی (۱۰)، آیزوایم (۱۴) و بررسی‌های سیتولوژیکی (۲۱) استفاده شده است که هر یک از این روشها به علت محدودیتهاشان قادر به تعیین دقیق و سریع تنوع ژنتیکی نمی باشند. از طرفی استفاده از نشانگرهای RFLP^۱، که مبتنی بر تفاوت در طول قطعات برش یافته حاصل از آنزیمهای برشی است، به علت پایین بودن پلی مورفیسم حاصله از این

استخراج شد. کیفیت و کمیت دی-ان-ای استخراجی از طریق اسپکتروفتومتری مشخص شد. نمونه هایی که دارای کیفیت بالا بودند انتخاب و محلول کاری با غلظت ۱ نانوگرم در میکرولیتر تهیه شده و در آزمایشات استفاده گردید.

آغازگر

تعداد ۵۰ آغازگر تصادفی از شرکت سیناژن تهیه و بکارگرفته شدند. آغازگرهای مورد استفاده ۱۰ نوکلئوتیدی و دارای حداقل ۶۰-۵۰ درصد CG بودند. همچنین هیچکدام از آغازگرها دارای انتهای خود مکملی نبودند.

PCR و شرایط الکتروفورزی

روشی که برای PCR بکار برده شده روشی بود که اساس آن روش ویلیامز است (۲۸). اجزای تشکیل دهنده هر واکنش ۲۵ میکرولیتری عبارت بود از: (۱) بافر ۱۰X با غلظت ۱X، (۲) کلرید منیزیم با غلظت ۱/۱۴ میلی مول، (۳) dNTP به غلظت ۰/۱۷۵ میلی مول از هر کدام، (۴) آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی به غلظت ۰/۵ میکرومول، (۵) ۵ میکرولیتر دی-ان-ای ژنومی با غلظت ۱ نانوگرم (۰/۲۶ میکرولیتر آنزیم تگ ۵ واحد در میکرولیتر و ۷) آب دو بار استریل بود. مخلوطهای واکنش آماده شده برای تکثیر به دستگاه ترموسایکلر فارماسیا انتقال می‌یافت. قبل از تکثیر به هر کدام از نمونه ها ۳۰ میکرولیتر روغن معدنی جهت جلوگیری از تبخیر مواد اضافه می‌شد. الگوی دمائی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بدین ترتیب بود: قسمت اول: یک چرخه، ۹۴ درجه به مدت ۲ دقیقه، قسمت دوم: ۴۵ چرخه شامل ۹۲ درجه به مدت یک دقیقه، ۳۵ درجه به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه به مدت سه دقیقه، قسمت سوم: یک چرخه شامل ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه.

برای انجام الکتروفورز، از ژل عمودی پلی‌اکریل‌امید با غلظت ۶٪ که شامل ۱۵ چاهک بود استفاده شد. برای الکتروفورز از ولتاژ ثابت ۲۰۰ ولت به مدت ۲/۵ ساعت استفاده شد. نشانگر مورد استفاده CG بود. رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به مدت ۴۵ دقیقه انجام شده بعد ژلها با آب مقطر شسته شده و در نهایت به کمک دستگاه ترانسلومیناتور عکس‌برداری صورت گرفت.

تجزیه آماری داده ها

برای تجزیه آماری، نوارهایی در محدوده‌ی ۱۵۰۰-۱۰۰

روش در ارقام اصلاحی، طولانی بودن تجزیه و تحلیل و خطر مواد رادیواکتیو محدود شده است (۲۲).

با پیدایش فن واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، تکنیکهای مولکولی مطلوب و جدیدی مبتنی بر آن از جمله RAPD^۱، AFLP^۲، SSR^۳، گسترش یافت که امکان تعیین دقیق و سریع تنوع ژنتیکی تعداد زیادی نمونه را فراهم ساخته است. همچنین نشانگرهای RAPD، که در آن توالیهای دی-ان-ای ژنومی با آغازگرهای کوتاه و اختیاری تکثیر می‌شود، به علت مزایایی از قبیل: نامحدود بودن تعداد نوارها، عدم استفاده از مواد رادیواکتیو، سادگی و سرعت عمل آن گستردگی زیادی را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی پیدا کرده است (۲۰، ۲۲، ۲۸). جوزانی و همکاران (۱۳۷۸) نشانگر RAPD را برای تعیین چند شکلی در ۲۸ رقم تجارتهی سیب زمینی بکار بردند و سودمندی این نشانگر را برای دسته بندی ژرم پلاسما و ارزیابی تنوع ژنتیکی بیان کردند. کاربرد نشانگرهای RAPD به عنوان مارکر ژنتیکی در گیاهان خودگرده افشان با سطح تنوع داخل گونه‌ای پایین مانند گندم ثابت شده است (۸). کائو و همکاران (۴) نشانگر RAPD را برای طبقه‌بندی و تمایز ۱۸ نمونه‌ی گندم بکار بردند و سودمندی این نشانگر را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی اظهار کردند. لیو و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از نشانگر RAPD بیست لاین گندم هگزاپلوئید را در چهار گروه قرار دادند و پیشنهاد کردند که آنالیز RAPD برای دسته‌بندی لاین‌های گندم و شناسایی والدین برای تولید هیبریدهای برتر مفید است. از نشانگرهای RAPD برای ترسیم نقشه‌ی لینکاژی (۲۵) و بررسی همبستگی آنها با صفات و بیماری‌های مهم زراعی (۲۶) نظیر زنگ سیاه استفاده شده است.

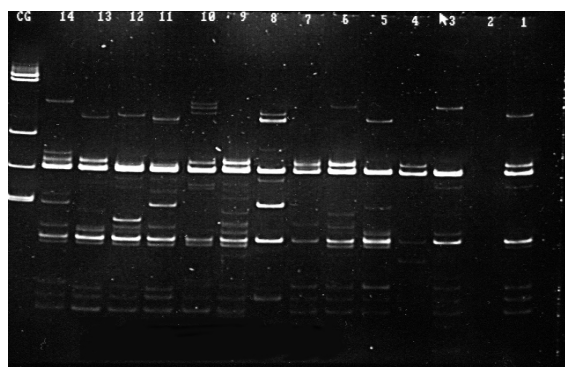
هدف از این تحقیق ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی ۲۱ رقم و ۷ لاین گندم هگزاپلوئید و نهایتاً گروه‌بندی آنها به روش تجزیه‌ی کلاستر بود.

مواد و روشها

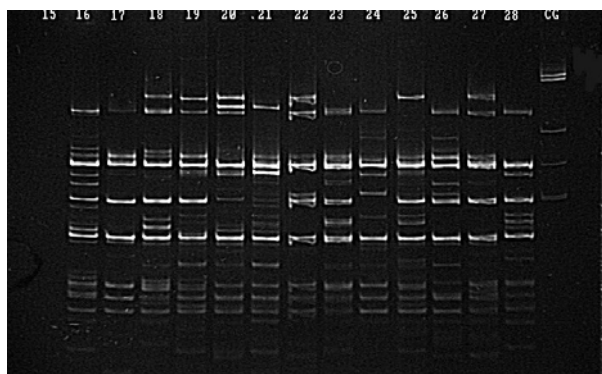
استخراج دی-ان-ای ژنومی

دی-ان-ای ژنومی از ۰/۱ گرم بافت تازه برگ‌ی که ۱۲-۱۰ روز از تاریخ کاشت آن گذشته بود به روش دلاپورتا (۱۹۸۳)

1. Random Amplified Polimorphic DNA
2. Amplified Fragment Length Polimorphism
3. Simple Sequence Repeat



شکل ۱- الگوی نواریندی، قطعات دی-ان-ای تکثیر شده بر اساس آغازگر UBC64، رقم گندم: به ترتیب از راست به چپ: آزادی، خزر ۱، کرج ۱، کرج ۲، کرج ۳، ارون ۱، مغان ۱، مغان ۲، نوید، چناب، رشید، استار، قفقاز، دیهیم، نشانگر اندازه: CG: (۱۴۴۴، ۱۳۵۷، ۴۵۷، ۳۶۸، ۳۱۵، ۳۱۲ جفت باز)



شکل ۲- الگوی نواریندی، قطعات دی-ان-ای تکثیر شده بر اساس آغازگر UBC64، رقم گندم: به ترتیب از چپ به راست: الموت ۱، الموت ۲، داراب ۱، داراب ۲، عدل جدید، عدل قدیم، آذر، ل ۲۷۳، ل ۵۸۳، ل ۵۱۸، ل ۶-۵۲۴، ل ۷۱۰۷، ل ۵۸۰۶، ل ۶-۷۰۰۷/۲، نشانگر اندازه: CG: (۱۴۴۴، ۱۳۵۷، ۴۵۷، ۳۶۸، ۳۱۵، ۳۱۲ جفت باز)

با توجه به درصد بالای خودباروری در گندم و پیچیدگی ژنوم انتظار می‌رفت که تغییرات در بین ارقام و خصوصاً لاینهای مورد استفاده پایین باشد (۶، ۱۷). با این حال ممکن است تنوع ژنتیکی و تغییرات نسبتاً بالایی در بین این ارقام ولاینها به جهت اینکه برخی از آنها حاصل تلاقی ارقام خارجی و داخلی می‌باشد وجود داشته باشد. در هر صورت تجزیه کلاستر و رسم دارنگاره مبتنی بر روش UPGMA دوگروه عمده را نشان داد که هر گروه شامل ۱۴ عضو بود (شکل ۳). گروه اول شامل ارقام،

جفت باز که دارای تکرارپذیری بالایی بودند انتخاب و وارد محاسبات شدند (۱۲). ژلهای بدست آمده براساس حضور نوار (۱) و عدم حضور نوار (۰) رتبه بندی شدند. تجزیه کلاستر (۲) بر همین اساس با استفاده از ضرایب تطابق ساده مبتنی بر روش UPGMA انجام گرفته و در نهایت دارنگاره (دندروگرام) حاصله رسم شد. تمامی مراحل تجزیه با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

نتایج و بحث

بطور کلی از ۵۰ آغازگر بکار رفته ۸ آغازگر پلی مورفیسم قابل توجهی را نشان دادند که به راحتی قابل دسته بندی بودند. نوارهای تولید شده بوسیله این ۸ آغازگر در محدوده ۱۵۰۰-۱۰۰ جفت باز بودند. هشت آغازگر در مجموع ۱۵۳۲ نوار تولید کردند (جدول ۱). میانگین نواردهی برای هر آغازگر ۱۹۱/۵ بود. بیشترین و کمترین نوار به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC66 و UBC77 بود (جدول ۱). در بین ارقام و لاینها، دیهیم بیشترین و رشید کمترین نوار را داشتند. الگوی نواریندی آغازگر UBC64 برای ۲۸ رقم و لاین در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. پلی مورفیسم بدست آمده با این آغازگر در این شکل بخوبی مشخص می‌باشد.

جدول ۱- توالی آغازگرهای تولیدکننده چند شکلی، تعداد کل نوارهای و دامنه‌ی نوارهای تولید شده

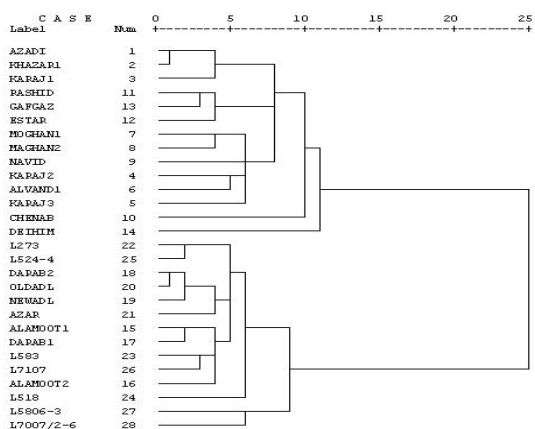
آغازگر	توالی	تعداد کل باندها	دامنه‌ی باندهای تولید شده
UBC1	CCTGGGCTTC	۱۶۰	۱۰۰-۷۶۰
UBC5	CCTGGGTCC	۲۷۳	۱۰۰-۱۳۸۰
UBC13	CCTGGGTGGA	۱۴۲	۱۴۰-۶۳۰
UBC64	GAGGGGGGA	۲۰۷	۱۳۰-۱۳۰۰
UBC66	GAGGGCGTGA	۲۸۵	۱۰۷-۷۰۰
UBC77	GAGCACCAGG	۱۰۴	۱۱۵-۵۰۰
UBC82	GGGCCGAGG	۱۳۹	۱۰۲-۶۰۰
UBC84	GGGCGCGAGT	۲۲۲	۱۱۰-۵۸۰

1. Unweighted Pair-Group Method Average

جدول ۲- ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها بر مبنای ضرایب تطابق ساده

GENOTYPE	AZADI	KHAZARI	KARAJ	KARAJ2	KARAJ3	ALVANDI	MOGHANI	MAGHAN2	NAVID	CHENAB	RASHID	ESTAR	GARGAZ	DEHIM	ALAMOOTTI	DARAB1	DARAB2	NEWADL	OLDADL	AZAR	L273	L583	L518	L524-4	L7107	L5806-3	L7007/2-6	
AZADI																												
KHAZARI	0.91																											
KARAJ1	0.86	0.86																										
KARAJ2	0.80	0.77	0.81																									
KARAJ3	0.75	0.73	0.79	0.80																								
ALVANDI	0.75	0.74	0.74	0.84	0.83																							
MOGHANI	0.78	0.79	0.79	0.82	0.81	0.84																						
MAGHAN2	0.77	0.76	0.79	0.80	0.78	0.79	0.84																					
NAVID	0.80	0.80	0.79	0.80	0.80	0.82	0.84	0.81																				
CHENAB	0.74	0.74	0.77	0.70	0.76	0.74	0.76	0.75	0.76																			
RASHID	0.77	0.74	0.74	0.76	0.77	0.79	0.81	0.86	0.77	0.74																		
ESTAR	0.80	0.78	0.80	0.73	0.75	0.77	0.76	0.77	0.77	0.76	0.84																	
GARGAZ	0.79	0.76	0.77	0.76	0.77	0.81	0.77	0.81	0.77	0.74	0.86	0.86																
DEHIM	0.72	0.70	0.70	0.74	0.74	0.80	0.76	0.71	0.72	0.66	0.76	0.74	0.78															
ALAMOOTTI	0.52	0.50	0.49	0.49	0.45	0.46	0.48	0.46	0.49	0.45	0.53	0.50	0.46	0.46														
ALAMOOTT2	0.51	0.48	0.44	0.44	0.44	0.45	0.47	0.42	0.45	0.47	0.47	0.46	0.41	0.42	0.83													
DARAB1	0.52	0.49	0.48	0.48	0.45	0.48	0.49	0.45	0.47	0.47	0.54	0.52	0.48	0.45	0.88	0.87												
DARAB2	0.49	0.48	0.44	0.44	0.43	0.44	0.48	0.44	0.46	0.44	0.50	0.48	0.44	0.43	0.86	0.86	0.86											
NEWADL	0.54	0.52	0.47	0.47	0.45	0.47	0.50	0.48	0.49	0.45	0.54	0.52	0.48	0.45	0.79	0.83	0.88											
OLDADL	0.54	0.49	0.47	0.47	0.44	0.44	0.48	0.47	0.46	0.44	0.52	0.51	0.47	0.45	0.84	0.86	0.90	0.88										
AZAR	0.57	0.56	0.52	0.53	0.49	0.52	0.55	0.51	0.54	0.49	0.55	0.55	0.49	0.51	0.83	0.86	0.84	0.86	0.86									
L273	0.56	0.56	0.51	0.52	0.46	0.49	0.54	0.51	0.54	0.50	0.53	0.51	0.47	0.47	0.83	0.83	0.84	0.81	0.82	0.83								
L583	0.52	0.55	0.48	0.47	0.45	0.47	0.50	0.47	0.50	0.48	0.52	0.51	0.46	0.44	0.83	0.87	0.84	0.86	0.84	0.82	0.86	0.86						
L518	0.54	0.54	0.49	0.48	0.45	0.46	0.48	0.48	0.50	0.45	0.53	0.50	0.45	0.45	0.81	0.80	0.83	0.81	0.81	0.83	0.80	0.85						
L524-4	0.53	0.53	0.48	0.49	0.44	0.48	0.51	0.47	0.49	0.46	0.51	0.49	0.45	0.45	0.83	0.83	0.84	0.83	0.84	0.86	0.88	0.83	0.83					
L7107	0.52	0.52	0.45	0.44	0.40	0.42	0.47	0.45	0.49	0.45	0.49	0.49	0.42	0.41	0.86	0.84	0.82	0.86	0.81	0.83	0.84	0.87	0.85	0.83				
L5806-3	0.55	0.55	0.51	0.50	0.44	0.48	0.48	0.49	0.53	0.49	0.56	0.53	0.49	0.45	0.82	0.73	0.77	0.77	0.76	0.77	0.79	0.82	0.80	0.79	0.81			
L7007/2-6	0.57	0.56	0.51	0.51	0.47	0.48	0.51	0.51	0.49	0.50	0.56	0.56	0.52	0.48	0.74	0.72	0.74	0.72	0.75	0.76	0.73	0.76	0.73	0.79	0.71	0.82		

لاین ۷۱۰۷ کمترین تشابه را با ارقام مورد مطالعه داشت (۰/۵۸). بنابراین این لاین با انجام مطالعات بیشتر می تواند در برنامه های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد. بیشترین تشابه بین ارقام آزادی و خزر ۱ و کمترین تشابه بین رقم کرج ۳ و لاین ۷۱۰۷ بود (جدول ۲). بنابراین با توجه به فاصله ژنتیکی، این دو رقم و لاین می توانند در برنامه های دورگ گیری به عنوان والدین جهت ایجاد هیبریدهای برتر و هتروزیس بیشتر استفاده شوند. البته لازم به ذکر است که علاوه بر فاصله ژنتیکی، عوامل دیگری مانند قابلیت ترکیب پذیری بهتر والدین برای تولید هیبریدهای برتر ضروری است (۱۹).



شکل ۳- دارنگاره (دندروگرام) فاصله ی ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم بر مبنای کلیه ی آغازگرها

در نهایت مشاهدات این تحقیق و سایر مطالعات (۵، ۶، ۷، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۲۴) نشان داد که مارکرهای RAPD یک روش سریع و ارزان قیمت برای ارزیابی تنوع ژنتیکی، مارکرهای ویژه ژنوم و روابط خویشاوندی تعداد زیادی نمونه و همچنین شناسایی والدین جهت تلاقی و تولید هیبریدهای برتر در برنامه های دورگ گیری می باشد. همچنین با توجه به میانگین ضرایب تشابه لاینهای مورد مطالعه (جدول ۲) وجود چنین تنوعی در بین لاینها از جذابیت مطلوبی برخوردار نبوده و باید نسبت به گسترش پایه ی ژنتیکی آنها اقدام شود

REFERENCES

۱. جوزانی غ، ۱۳۷۸، استفاده از تکنیک RAPD-PCR برای تعیین چند شکلی در بین ارقام تجارتي سیب زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

آزادی، خزر ۱، کرج ۱، رشید، قفقاز، استار، مغان ۱، مغان ۲، نوید، کرج ۲، ارون ۱، کرج ۳، چناب و دیهیم بود که اکثر ارقام قرار گرفته در این گروه دارای تشابه بالایی بودند. مثلاً آزادی و خزر ۱ هر دو نسبتاً زودرس، دارای والد مشترک و مقاوم به ریزش هستند (۳). همچنین کرج ۱، کرج ۲ و رشید هر سه پاییزه، مقاوم به سرما و ریزش می باشند (۳). گروه دوم شامل ارقام و لاینهای: ۲۷۳، ۵۲۴-۶، داراب ۲، عدل قدیم، عدل جدید، آذر، الموت ۱، داراب ۱، ۵۸۳، ۷۱۰۷، الموت ۲، ۵۱۸، ۳-۵۸۰۶ و ۶-۷۰۰۷/۲ بود. در این گروه نیز اکثراً ارقام با خصوصیات مشابه دیده می شد مثلاً، داراب ۱، داراب ۲ و عدل جدید زودرس و کیفیت نانویی مشابه دارند (۳). گراسی و همکاران (۲۰۰۱) نیز با مطالعه ای که بر روی براسیکا انجام دادند بیان کردند که نشانگر RAPD روشی مفید برای تایید تفاوت های مورفولوژیکی می باشد. همچنین در مطالعه ای که پوجار و همکاران (۱۹۹۹) بر روی گندمهای تتراپلوئید انجام دادند زیرگروه های وارته های بومی هیچ ارتباطی با توزیع جغرافیایی شان نشان ندادند و ارقامی که در زیرگروه های یکسان قرار گرفتند والد مشترک در شجره شان داشتند. تمامی لاینها در گروه دوم قرار گرفتند که ناشی از تنوع ژنتیکی پایین لاینها و شباهت آنها به ارقام قرار گرفته در این گروه می باشد. البته لازم به ذکر است که هر گروه به زیرگروه هایی تقسیم می شد که ارقام با شباهت بالا در این زیرگروه ها قرار داشتند. مثلاً ارقام آزادی، خزر ۱ و کرج ۱ که همگی مقاوم به ریزش، دارای والدین خارجی و کیفیت نانویی نسبتاً خوب بودند (۳) در یک زیرگروه قرار گرفتند. همچنین لاینها تماماً در زیرگروه های مشابه قرار می گرفتند که احتمالاً دلیل بر شباهت آنها به همدیگر و پایین بودن تنوع ژنتیکی آنهاست.

دامنه ضرایب تشابه از ۰/۴۰ تا ۰/۹۱ متغیر بود. میانگین ضرایب تشابه کل ۰/۶۴ بود. میانگین ضرایب تشابه ارقام ۰/۶۳ بود. میانگین ضرایب تشابه لاینها (۰/۸) بیشتر از ارقام بود (جدول ۲). بنابراین گسترش و توسعه ی پایه ی ژنتیکی لاینهای مورد مطالعه امری حیاتی و اجتناب ناپذیر می نماید.

مراجع مورد استفاده

۲. مقدم م.س. آ. شوطی محمدی، م. آقایی سربزه، ۱۳۷۳. آشنایی با روش های آماری چند متغیره (ترجمه)، انتشارات پیشتاز علم.
۳. خداینده ن. ۱۳۷۲. غلات، انتشارات دانشگاه تهران.
4. Cao W. , G. Scoles , P. Hucl & R.N. Chibbar .1999.The use of RAPD analysis to classify *Triticum* accessions.Theor.Appl. Genet.98:602-607.
- 5.Demeke T.,R.P. Adams & R. Chibbar .1992. Potential taxonomic use of RAPD:a case study in *Brassica*,Theor. Appl. Genet. 84:990-994.
- 6.Devos K.M & M.D. Gale .1992. The use of random amplified polymorphism DNA markers in wheat. Theor. Apple. Genet. 84:567-572.
- 7.Dwivedi S.L., S. Gurtu, S. Chandra, W. Yuejin & S.N. Nigam.2001. Assessment of genetic diversity among selected groundnut gerplasm.I: RAPD analysis, Plant Breeding 120, 345-349.
- 8.Fahima T. , G. L. Sun , A. Beharav , T. Krugman , A. Beiles & E. Nevo .1999. RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations,*Triticum aestivum*, in Israel. Theor. Appl. Genet. 98 : 434-447.
- 9.Ferdinandez Y.S.N., D.J. Somers & B.E. Coulman .2001. Estimating the genetic relationship of hybrid bromgrass using RAPD markers, Plant Breeding 120, 140-153.
- 10.Fernandez J.A., J. Sanz & N. Jouve.1987. Biometrical variation to determine phylogenetic relationships between Hordeum and other American species of the genus Horewn (Poaceae), Plant Syst. Evol. 157:105-119.
- 11.Geraci A., I. Divaret , F. M. Raimondo & A. M. Chevre .2001. Genetic relationships between Sicilian wild populations of *Brassia* analysed with RAPD markers. Plant Breeding 120, 193-196.
- 12.Hallden C., M. Hansen, N.-O. Nilsson & A. Hjerdin .1996. Competition as a source of errors in RAPD analysis, Theor. Appl. Genet. 93:1158-1192.
- 13.He S., H. Ohm & S. Mackenzie (1992) Detection of DNA sequence polymorphism among wheat varieties. Theor. Appl. Genet. 84:573-578.
- 14.Jasaka V..1986, Isoenzyme variation in the barley genus *Hordeum* L.I. Alcohol dehydrogenase and superoxide dismutase, Biochem. Physiol. Pflanz,181:301-320.
- 15.Joshe C.P. & H.T. Nguyen .1993a. Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. Genome 36: 602-609.
- 16.Joshe C.P & H.T. Nguyen .1993b. RAPD (random amplified polymorphic DNA) analysis based on intervarietal genetic relationships among hexaploid wheats. Plant Sci. 93: 95-103.
- 17.Koebner R.M.D .1995. Pre-digestion of the DNA template improves the level of polymorphism of random amplified polymorphic DNA in wheat. Genet. Anal.: Biomol. Engin. 12: 63-67.
- 18.Kresovich S., J.G.K. Williams, J.R. Mcferson , E.J. Routman, & B.A. Schaal.1992. Characterization of genetic diversity identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a RAPD assay, Theor. Appl. Genet. 85:190-196.
- 19.Liu Z.Q. , Y. Pel & Z.J. Pu .1999.Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on RAPD markers in wheat , *Triticum aestivum* L. Plant Breeding 118, 119-123.
- 20.McClelland M. & J. Welsh .1994. DNA fingerprinting by arbitrar primed PCR. PCR Methods Appl. 4: s59-s65.
- 21.Noda K. & K.J. Kasha .1978. A proposed barely karyotype revision based on C-band chromosome identification , Crop. Sci. 18:925-930.
- 22.Powell W., M. Morgante , C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey & A. Rafalski .1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for gerplasm analysis, Molecular Breeding ,2 : 225-238.
- 23.Pujar S., S. A. Thamhankar, U. S. Rao and V. S. Gupta.1999. Arbitrary Primed PCR based diversity assessment reflects hierachical groupings of Indian tetraploid wheat genotypes, Theor.Appl. Genet. 99:868-876.
- 24.Quiros C.F, J. Hu, P. This, A.M. Chevre & M. Delseny .1991. Development and chromosomal localization of genome-specific markers by polymerase chain reaction in *Brassica*. Theor. Appl. Genet. 82: 627-632.

25. Ukoskit K. & P.G. Tompson .1997. Autopolyploidy versus Allopoloidy and low density RAPD linkage maps of sweet potato, Amer. Soc. Hort. Sci. 122(6):822-827.
26. Ukoskit K., P.G. Tompson, and C.E. Watson .1997. Identifying a RAPD marker linked to a gene for root-knot nematode resistance in sweet potato, Amer. Soc. Hort. Sci. 122(6): 818-821.
27. Virk P. S. , B. V. Ford-Lloyd , M.T. Jackson and H. J. Newbury .1995. Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. Heredity 74: 170-179.
28. Williams G.K.J., A.R. Kubelic, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey .1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, Nucleic Acids Research. Vol. 18, No.22, 6531-6535.

Archive of SID

Assessment of Genetic Diversity Among Wheat Cultivars by Using RAPD – PCR Thecnique

**B. ABDOLLAHI MANDOULAKANI¹, B. E. SAYYED TABATABAEI²,
A. A. SHAHNEJAT BUSHEHRI³, M. R. GHANNADHA⁴ AND M. OMIDI⁵**
1, 2, 3, 4, 5, Former Graduate Student, Assistant Professors and Associate Professors,
Faculty of Agriculture, University of Tehran
Accepted Jan. 8, 2003

SUMMARY

The RAPD procedure was used to evaluate genetic diversity of 28 Iranian wheat cultivars and advanced breeding lines. Genomic DNA was extracted from leaves by Dellaporta method. Fifty decamer primers were used. Eight of them amplified template DNA properly and showed polymorphism among genotypes. The other primers had no band or were monomorph. The bands showing high reproducibility were used in analysis. UBC66 and UBC77 primers produced the greatest and lowest band, respectively. Rashid and Deyhim cultivares yielded the greatest and lowest band, respectively. Cluster analysis was performed based on band presence (1) and absence (0) using simple matching coefficients by UPGMA method. Similarity coefficient ranged from 0.40 to 0.91 with an average of 0.64. The most similarity was between Azadi and Khazar1. The greatest genetic difference was between 7107 line number and Karaj3. Dendrogram indicated two main groups. According to the results of the current research, it is necessary to extend genetic diversity and germplasm of studied breeding lines. Clearly, such researches are prerequisite for hybridization breeding programs.

Key words: Bread Wheat, RAPD marker, Genetic diversity.