Archive of SID

بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیتهای گندم دوروم غرب و شمال غرب کشور با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی (Sequence Specific Amplified Polymorphism) SSAP

سجاد رشیدی منفرد*[۱]، عبدالهادی حسین زاده[۱]، محمدرضا نقوی[۱]، محسن مردی[۲]، امین ابراهیمی[۱] و روح اله براهیمی پور[۱]

[۱] کرج، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

[۲]کرج، موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی در کشاورزی، بخش ژنومیکس

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۰/۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳

چکیده

گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. *durum*) یکی از مهم ترین غلات دانه ریز می باشد و از دیر باز به صورت آبی و دیم در غرب ایران کشت می شده است و عمدتاً مصرف انسانی دارد. این گیاه در سالهای اخیر به خاطر عملکرد قابل قبول و سازگاری با شرایط آب و هوای خشک و نیمه خشک و محصول نهایی با ارزش مورد توجه جدی اصلاح گران قرار گرفته است. برای تدوین هر گونه برنامه های اصلاحی نیاز به کسب اطلاعات در زمینه منابع ژنتیکی می‌باشد. در این تحقیق تنوع بین جمعیتی ۷۹ ژنوتیپ بومی گندم دوروم متعلق به مناطق غرب و شمال غرب ایران با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگر SSAP و شاخصهای I (شاخص شانون)، Na (تعداد الل مشاهده شده)، H (هتروزیگوسیتی)، Ne (تعداد الل مؤثر) و PPL (درصد لوکوسهای پلی مورف) مورد مطالعه قرار گرفتند. ژنوتیپهای بومی کرمانشاه در کلیه شاخصها دارای بیشترین مقادیر و ژنوتیپهای بومی ایلام از لحاظ شاخص Ne (۱/۳۶۲۳) و اردبیل از لحاظ شاخصهای Na (۱/۵۷۵۳)، H (۰/۲۲۲۹)،I (۰/۳۲۷۰) و PPL (۵۷/۵۳ درصد) دارای کمترین میزان بودند. دندروگرام بر اساس ماتریس عدم تشابه به دست آمده به وسیله PopGen32 با استفاده از الگوریتم UPGMA در نرم افزار NTSYSpc ترسیم شد.

واژه های کلیدی: تنوع بین جمعیتی، گندم دوروم، SSAP، PopGen32

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۶۹۶۱۰۴۷۱ پست الکترونیکی: rashidims@ut.ac.ir

مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum* var *durum*) یکی از مهم ترین غلات دانه ریز می باشد که از دیر باز به صورت آبی و دیم در غرب ایران کشت می‌شده است و عمدتاً مصرف انسانی دارد. در سالهای اخیر این گیاه به خاطر محصول قابل قبول و سازگاری با هوای خشک و نیمه خشک و محصول نهایی با ارزش مورد بازبینی مجدد قرار گرفته است (۲۴). میزان تولید محصول گندم دوروم در سال ۲۰۰۵ حدود ۲۶ میلیون تن برآورد شده است (۲۶).

بررسی تنوع ژنتیکی و حفاظت از آن به طور وسیعی در موجودات در حال انقراض به ویژه در گونه های با جمعیت کوچک و ایزوله به کار می‌رود (۲۱).

تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی اصلی (عمده) همانند گندم دوروم با گذشت زمان کاهش پیدا کرده است، در ابتدا این کاهش به خاطر فرآیند های اهلی کردن گیاه و اخیراً به واسطه به کارگیری ژرم پلاسم یکنواخت و اصلاح شده می باشد (۶). برآورد تنوع ژنتیکی در محصولات زراعی،

www.SID.ir

Archive of SID

نقش بسیار مهمی در پیشبرد برنامه های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی دارد، که از طریق صفات مورفولوژیکی، بررسی شجره ها و نشانگرهای مولکولی میسر می گردد (۲۲). موفقیت در امر اصلاح مستلزم دسترسی به تنوع ژنتیکی مناسب است بر اساس نتایج تحقیقات رشیدی منفرد (۳، ٤)، احکامی (۱) مناطق غربی کشور دارای بیشترین تنوع ژنتیکی گندم دوروم می باشند. نشانگرهای مولکولی به خاطر عدم تأثیر پذیری از شرایط محیطی، فراوانی زیاد، امکان استفاده درمراحل رشدی مختلف، قابلیت تشخیص سطوح تنوع ، بررسی ساختار ژنتیکی جمعیتها و استنباط جریانهای ژنی ابزار بسیار مناسبی جهت بررسی روابط بین ژنوتیپ در بسیاری از محصولات زراعی می باشند و به عنوان یک ابزار تکمیلی به همراه نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در بررسی روابط فیلوژنتیکی مد نظر می باشند (۱۹). مطالعات ژنتیک جمعیتها نشان داده است که جریان ژنی همبستگی قابل قبولی با پراکنش وسیع تاکسونها دارد (۷). رتروترانسپوزونها عناصر اصلی متحرک در ژنوم گیاهان هستند و از طریق یک RNA حد واسط در ژنوم جابجا می شوند (١٤). آنها درگیاهان به وفور دیده شده و نسبت بالای از DNA ژنومی گیاه را به خود اختصاص داده اند (۲۰و۲۵). همچنین آنها در کل طول کروموزوم ، یعنی هم در نواحی هتروکروماتینی و هم در نواحی یوکروماتینی قرار دارند (۱۰). به خاطر گستردگی و فراوانی آنها در ژنومهای گیاهی می توان از آنها به عنوان نشانگرهای مولکولی استفاده کرد ،که دارای چندشکلی بسیار بالا می باشند و آغازگرها را براساس نواحی LTR آنها طراحی نمود. از این نشانگر جهت بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف همچون جو (۲۵و۲۸)، نخود (۱۳)، ذرت (۹) و یونجه (۲۳) استفاده شده است. با استفاده از نشانگرهای AFLP (احکامی ۱۳٦)(۱) و SSAP (رشیدی ۱۳۸٦)(۲) تنوع ژنتیکی ژنوتیپهای مطالعه شده در این تحقیق را بررسی کردند. وانگ و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۲۵ جفت آغازگر EST-SSR تنوع ژنتیکی ٦۰ نمونه گندم دوروم را مورد بررسی قرار دادند(۲٦). در مجموع ۸۷ الل شناسایی کردند. میانگین الل در هر لوکوس ۳/۳ بود (۲۷). آکارا و همکاران (۲۰۰۷)، ۱۳ جمعیت از گندم دوروم را با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر رپید بررسی کردندکه در مجموع ۸۰ لوکوس پلی مورف شناسلیی کردند. آنها نشان دادند که پارامترهای ژنتیکی شامل تعداد الل مؤثر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، نسبت لوکوسهای پلی مورف و تنوع ژن در نمونه های بومی بیش از ارقام زراعی بود (۵). شابان و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از ۱۸ جفت آغازگر EST-SSR تنوع ژنتیکی ۸۲ نمونه گندم نان و دوروم را مورد بررسی قرار دادند که در مجموع ۱۰۱ الل با میانگین تعداد اللهای ٦/۳۱ شناسایی کردند (۱۱).

مانیفستو و همکاران (۲۰۰۱) به ارزیابی کمی تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای AFLP و SSR، پرداختند(۱۸). به عقیده این محققان، کاهش درتنوع ژنتیکی ممکن است منجر به کاهش انعطاف پذیری گیاهان زراعی در پاسخ به تغییرات محیطی و عوامل بیماری‌زا شود. نتایج آنها نشان داد که ژرم پلاسم گندم نان آرژانتینی تقریباً میزان ثابتی از تنوع ژنتیکی را در طول نیم قرن گذشته، حفظ کرده است (۱۹). با توجه به وجود تنوع ژنتیکی بسیار زیاد مشاهده شده در نمونه های بومی گندم دوروم همچنین با توجه به اینکه هر نشانگر قسمتی از سطح ژنوم را پوشش می دهد برای اینکه بتوان اطلاعات دقیق تر و مطمئنی در مورد روابط ژنتیکی گندم دوروم به دست آورد بایستی ازنشانگرهای مختلف جهت پوشش مناسب سطح ژنوم استفاده نمود. نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP به خاطر پراکنش فراوان در سطح ژنوم مخصوصاً نواحی یوکروماتینی پوشش ژنومی مناسبی را ایجاد می کند و جهت بررسی تنوع ژنتیکی نشانگر مناسبی می باشد.

لذا این تحقیق با هدف شناسایی نواحی از کشور که حداکثر تنوع را دارند و استراتژی نمونه گیری این گیاه در

www.SID.ir

Archive of SID

مناطق مختلف و کمک به حفاظت تنوع ژنتیکی آن انجام گردید..

مواد و روشها

مواد گیاهی و استخراج DNA : در این تحقیق ۷۹ ژنوتیپ دوروم که متعلق به شش استان غرب و شمال غرب کشور از جمله شامل آذربایجان (٦نمونه)، اردبیل (٦ نمونه)، ایلام (۸ نمونه)، خوزستان (۱۷ نمونه)، کرمانشاه (۲۵ نمونه)، لرستان (۱۰ نمونه) و همدان (۷ نمونه) بود از بانک ژن دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تهیه شد (جدول ۱). نمونه ها در گلخانه و در گلدانهای مجزا کشت شدند و سپس DNA در مرحله مناسب (۳ تا ٤ برگی) به روش دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۳) با کمی تغییر جداسازی شد(۱۲). در این تحقیق۱۰ ترکیب آغازگریSSAP مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- لیست جمعیتهای گندم دوروم مناطق غرب و شمال غرب ایران

شماره	جمعیت	تعداد نمونه	علامت اختصاری
۱	آذربایجان	٦	Az
۲	اردبیل	٦	Ar
۳	ایلام	۸	Il
٤	همدان	۷	Ha
۵	خوزستان(اهوازواندیمشک)	۱۷	Kh
٦	کرمانشاه	۲۵	Ke
۷	لرستان	۱۰	Lo

نشانگرهای رتروترانسپوزون مورد استفاده : نشانگرهای رتروترانسپوزونی به کار گرفته شده در این تحقیق عبارت بودند از *Tagermina \M+ACA* ،*Thv19\M+ACA*، *Tar1\M+ACA* ، *Tar1\M+CG* ،*Thv19\M+CAT*، *BARE1\M+CG* ،*BARE1\M+ACA* ،*BARE1\M+CAT* *Tar1\M+CAT* ، *Tagermina \M+CAT* ، (۱۷و۲۷).

تجزیه SSAP : مراحل کار بر اساس روش واف و همکاران(۱۹۹۹) بدین صورت انجام شد(۲۸). ابتدا DNA ژنومی استخراج شد و با استفاده از آنزیمهای برشی *EcoRI* و *MseI* برش داده شد. سپس آداپتورهای مربوطه به قطعات حاصل از هضم آنزیم متصل گردید. و مرحله تکثیر ابتدایی همانند AFLP صورت گرفت. اما تکثیر اصلی بین دو آغازگر که بر اساس نواحی LTR رتروترانسپوزونها و آداپتور مربوط به *MseI* با دو و سه نوکلئوتید انتخابی انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه و به مدت 30 ثانیه، ۱۰ چرخه اول به صورت تاچ داون انجام شد به طوری که در هر چرخه دمای اتصال ۱ درجه سانتی گراد کاهش یافت(۵۳- ٦۳ درجه سانتی گراد) و مرحله بسط آغازگری در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه انجام شد؛ ۲۳ چرخه بعدی نیز بدین صورت انجام شد (دقیقه 94 °C 30 s, 54 °C 30s,72°C 2).واکنش PCR در دستگاه بیورد مدل(Sequi-Gen GT MA,) انجام شد.

تجزیه آماری: داده های مولکولی بر اساس وجود باند یک و عدم آن صفر برای هر جفت آغازگر اختصاصی حاصل شد. تجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار NTSYSpc انجام گرفت و دندروگرام بر اساس الگوریتم UPGMA ترسیم شد و از نرم افزار PopGen32 برای بررسی تنوع بین جمعیتهای مورد نظر استفاده شد.

شاخصهای استفاده شده برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیتها :

H: هتروزیگوسیتی در یک لوکوس(۱۸)

$$H = 1 - \sum_{i=1}^{A} \rho_i^2$$

ρ_i یا ρ_j : فراوانی آلل i (یا j)

$$N_e = 1/(1-h) = 1/\sum \rho_i^2$$

Ne: تعداد آلل مؤثر (۱۸)

ρ_i: فراوانی n امین الل مؤثر در یک لوکوس

H: هتروزیگوسیتی در یک لوکوس

www.SID.ir

Archive of SID

Na: تعداد الل مشاهده شده

$$I = -\sum_{i=1}^{k} p_i Ln\rho$$

I: شاخص شانون(۸) K: تعداد باند های پلی مورف

ρ_i: فراوانی باند I ام در جمعیت مورد نظر

I: تنوع باند دهی نشانگر برای آغازگر اول

$$Nm=\left[\left(1/Fst\right)-1\right]/4$$

Nm:تخمین جریان ژنی ازطریق تخمین G_{st}یا F_{st} (۱۵و۱٦)

G_{st} یا F_{st} : شاخص تنوع بین جمعیتها

$$Fst=\frac{H_T-\bar{H}_e}{H_T} \quad (۱۷)$$

H_e: هتروزیگوسیتی خاص هر جمعیت

H_T: هتروزیگوسیتی کل

نتایج و بحث

همانطور که قبلا اشاره گردید در این تحقیق ۱۰ ترکیب آغازگری مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع ۲۲٦ باند SSAP امتیاز دهی شد که از بین آنها ۷٤ باند چند شکل بودند(شکل۱). جمعیتهای مورد نظر را جدا نموده و از نظر ۷٤ مکان ژنی پلی مورفیسم با استفاده از نرم افزار PopGen32 تجزیه گردید. در تجزیه تفاوت بین جمعیتها از شاخصهای Ne، Na، H ، I، Nm و Fst استفاده گردید که نتایج آن در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- مقادیر شاخصهای استفاده شده برای ارزیابی تنوع بین جمعیتهای گندم دوروم مناطق غرب و شمال غرب ایران

جمعیت	Ne	Na	(sd)H	(Sd)I	Fst	Nm	PPL
ایلام	۱/۳٦۲۳	۱/۷٥۳٤	(۰/۱٦۸)۰/۲۲۸۷	(۰/۲٤)۰/۳٥٥٥	۰/۱۱۹۷	۱/۸۳۹	۷٥/۳٤
لرستان	۱/٤۲٦۰	۱/۸٤۹۳	(۰/۱۷۲)۰/۲٥۸۲	(۰/۲۳۲)۰/۳۹۷۸	۰/۰۱	۰/۷۹	۸٤/۹۳
همدان	۱/٤۰۷۷	۱/۸۳٥٦	(۰/۱٦٦)۰/۲٥۲۳	(۰/۲۲۸)۰/۳۹۱۱	۰/۰۳۳	۷/۳۲٦	۸۳/٥٦
خوزستان	۱/٤۰٦۳	۱/۸٤۹۳	(۰/۱۷٤)۰/۲٤۷۸	(۰/۲۳۸)۰/۳۸۳۳	۰/۰٥	٤/۷٥	۸٤/۹۳
آذربایجان	۱/۳۷۷۸	۱/٦۷۱۲	(۰/۱۹۲)۰/۲۲٤۰	(۰/۲۷۱)۰/۳۳۹٤	۰/۱٤۱	۱/٥۲۳	٦۷/۱۲
اردبیل	۱/۳۹٤٤	۱/٥۷٥۳	(۰/۲۱۲)۰/۲۲۲۹	(۰/۳)۰/۳۲۷۰	۰/۱٤٥	۱/٤۷٤	٥۷/٥۳
کرمانشاه	۱/٤۲۹٤	۱/۹٥۸۹	(۰/۱٤۹)۰/۲۷۰۳	(۰/۱۹٤)۰/٤۲۲٦	-۰/۰۳٦	-۷/۱۹٤	۹٥/۸۹
میانگین	۱/۳۹	۱/۷۷	(۰/۱۷) ۰/۲۳	(۰/۲٤) ۰/۳٦	۰/۰٦	۱/٤۹	۷۸/٤۷

I: میانگین شاخص شانون H: میانگین تنوع ژن Na: میانگین تعداد الل مشاهده شده Ne: میانگین تعداد الل موثر

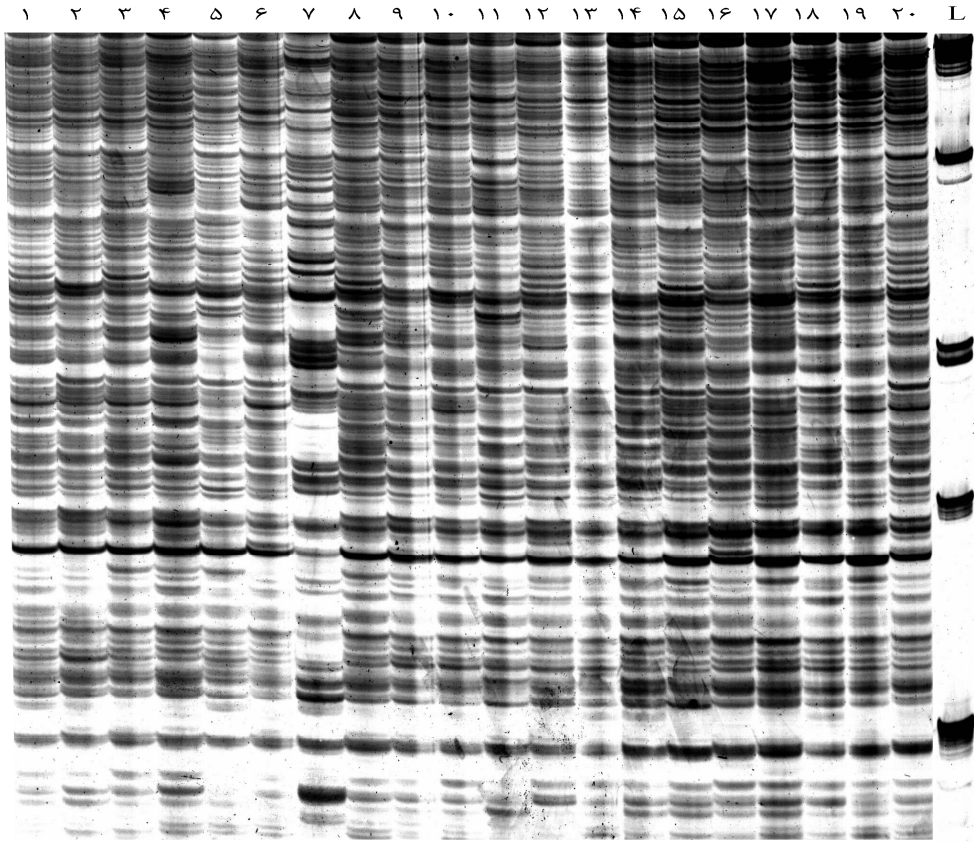
G_{st} یا F_{st} : شاخص تنوع بین جمعیت ها Nm: تخمین جریان ژنی از طریق تخمین G_{st} یا F_{st} PPL: درصد همه لوکوس هایی که پلی مورف می باشند بدون توجه به فراوانی اللی sd :انحراف معیار

در شاخصهایI، H، Ne و Na کرمانشاه دارای بیشترین مقدار به ترتیب (۰/٤۲۲٦)، (۰/۲۷۰۳)،(۱/٤۲۹٤)، (۱/۹٥۸۹) بود و ایلام از لحاظ شاخص Ne (۱/۳٦۲۳) و اردبیل از لحاظ شاخصهای Na (۱/٥۷۳)، H (۰/۲۲۲۹)، I(۰/۳۲۷۰) دارای کمترین میزان بودند . در شاخص PPL کرمانشاه دارای بیشترین مقدار (۹٥/۸۹) و اردبیل (٥۷/٥۳) دارای کمترین مقدار بودند. برای تخمین جریان ژنی بین جمعیتهای مورد بررسی شاخصهای Ht، Hs، Fst و Nm محاسبه گردید. اگر Nm نزدیک به صفر باشد یعنی Fst در حداکثر مقدار خود می باشد و این بدین معناست که هتروزیگوسیتی جمعیت در کل مقدار بسیار کمی بوده است و زمانی که Nm در حداکثر مقدار خود باشد Fst در حداقل مقدار خود می باشد، یعنی هتروزیگوسیتی هر جمعیت و جمعیت کل به هم نزدیک است. تمایز ژنتیکی

www.SID.ir

Archive of SID

جمعیتها ممکن است به دلیل صفات ژنتیکی متنوع که تحت شرایط انتخابی موجود مطلوب می باشند، اتفاق افتد. همچنین به خاطر فرآیندهای تصادفی مثل جهش، مهاجرت و میزان یا درجه تمایز جمعیتها باشد که می توان آن را از طریق پارامترهای متفاوت تخمین زد. میزان تمایز ژنتیکی را می‌توان به وسیله شاخص Fst تخمین زد (٦). شاخصهای Fstو Nm که میزان جریان ژنی بین جمعیتها را نشان می دهند برای همه استانها به غیر از استان کرمانشاه مثبت بودند که این تأییدی است بر انتقال مواد ژنتیکی از این استان به استانهای دیگر موجود در غرب و شمال غرب کشور. با استفاده از ضرایب عدم تشابه به دست آمده از نرم افزار PopGen32 (جدول ۳) دندروگرام بین جمعیتها با استفاده از نرم افزار NTSYSpc و الگوریتم UPGMA به دست آمد. همان طور که در دندروگرام دیده می شود دو گروه اصلی تشکیل شده است. گروه یک شامل ژنوتیپهای کرمانشاه و گروه دوم شامل ژنوتیپهای مناطق دیگر می باشد (شکل ۲).



شکل۱- نمونه ای از یک ژل نشانگر SSAP روی ژنوتیپهای مختلف گندم دوروم

دندروگرام حاصله نشان می دهد که استان کرمانشاه نسبت به جمعیتهای دیگر دارای تنوع بیشتری می باشد زیرا در یک گروه مجزا نسبت به سایر جمعیتها قرار گرفته است (شکل ۲). جمعیت کرمانشاه از لحاظ شاخص PPL که بیانگر پلی مورف بودن در کل مکانهای ژنی برای هر جمعیت است دارای بیشترین مقدار بود(۹۵/۸۹) که این نیز بیانگر آن است که استان کرمانشاه دارای تنوع بسیار بالایی می باشد و اردبیل کمترین مقدار(۵۷/۵۳) را به خود اختصاص داد (یعنی اینکه هر مکان ژنی در کل جمعیتها پلی مورف بوده ولی ممکن است همان مکان ژنی برای بعضی از جمعیتها پلی مورف و برای برخی دیگر مونومورف باشد).

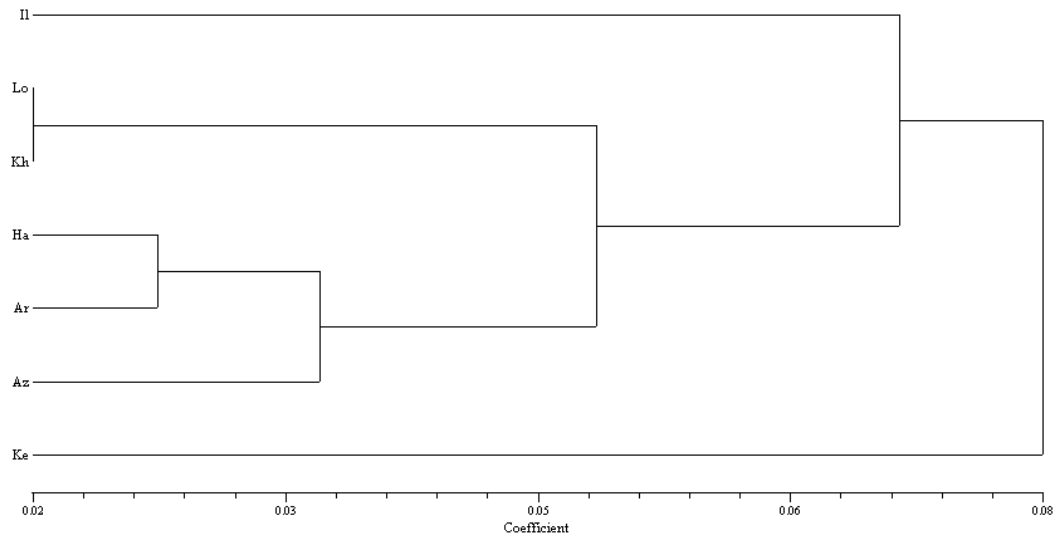
www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به مطالعات قبلی مشخص شده است که غرب ایران (۲،۱و۳) دارای حد اکثر تنوع می باشد و از بین استانهای موجود در غرب هم به لحاظ سطح زیر کشت و هم به لحاظ میزان تنوع استان کرمانشاه (۳،۲،۱و٤) در بالاترین سطح قرار دارد. در این تحقیق نیز مشخص گردید که جمعیت نمونه های حاصل از استان کرمانشاه دارای بیشترین میزان هتروزیگوسیتی (H)، تنوع ژن (I) و تعداد الل مؤثر (Ne) بودند.

جدول ۳- ماتریس ضرایب عدم تشابه حاصل از PopGen32 بین جمعیت ها های گندم دوروم مناطق غرب و شمال غرب ایران

جمعیت	ایلام	لرستان	همدان	خوزستان	اذربایجان	اردبیل	کرمانشاه
ایلام	۰						
لرستان	۰/۰٦۸۱	۰					
همدان	۰/۰۷٤۳	۰/۰٦۲٥	۰				
خوزستان	۰/۰٦۸۸	۰/۰۱٦۷	۰/۰٥۳۲	۰			
اذربایجان	۰/۰۸۲۰	۰/۰۷۱٤	۰/۰۳٦٥	۰/۰٥۹۸	۰		
اردبیل	۰/۰۱۱۱٤	۰/۰۷۱٤	۰/۰۸۲٥	۰/۰٦٤۸	۰/۰۸٤۷	۰	
کرمانشاه	۰/۰٥٤۷	۰/۰۳۱۳	۰/۰۲٤۳	۰/۰۲۸٤	۰/۰۳۱۹	۰/۰٥٥۱	۰



شکل ۲- دندروگرام حاصل از ماتریس عدم تشابه به دست آمده به وسیله PopGen32 با استفاده از الگوریتم UPGMA

آکارا و همکاران (۲۰۰۷) ۱۳ جمعیت گندم دوروم و زراعی را با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر رپید بررسی کردند که میانگین پارامترها ژنتیکی شامل تعداد الل موثر، تنوع ژن، درصد پلی مورفیسم، شاخص شانون و تعداد اللهای نرمال را به ترتیب ۰/۰۳۸ ، ۵۰،۰/۰۲ ،۰/۰۲۹، ۰/۰٤۸ گزارش کردند(۵) . این مقادیر در مقایسه با نتایج این تحقیق بسیار کوچک هستند که می تواند نشان دهنده این باشد که مارکر رپید نتوانسته به خوبی جمعیتها را از هم تفکیک کند.

www.SID.ir

Archive of SID

در مطالعات قبلی رشیدی و همکاران (۱۳۸۷)، احکامی و همکاران (۱۳۸٦)(۱، ۳) روی همین نمونه ها مشخص شده بود که قرابت زیادی بین نمونه های غرب کشور با نمونه های جمع آوری شده از استان کرمانشاه وجود دارد. با توجه به نزدیکی مناطق به یکدیگر امکان جابجایی(جریان ژنی) این ژنوتیپها از استان کرمانشاه(دارای حد اکثر تنوع) به استانهای همجوار وجود دارد.

منابع

۱- احکامی،ا .، م، مردی .، م ر، نقوی .، س م، پیرسیدی .، م، کاظمی .، ه ، ایراندوست و ع، حسین زاده. (۱۳۸٦). بررسی قرابت ژنتیکی گندم دوروم (*Triticum turgidum* var *durum*) با استفاده از نشانگرهای AFLP . مجله علوم کشاورزی ایران. جلد۳۸. شماره ۱. صفحات ۳۵-۲۵.

۲- رشیدی منفرد، س .، ع، حسین زاده.، م، مردی و م ر، نقوی. (۱۳۸٦). تجزیه ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP در گندم دوروم.مجله ژنتیک نوین .شماره ۲. دوره ۳ . صفحات ۲۹-۳۵.

۳- رشیدی منفرد، س. ، م ر نقوی .، ع، حسین زاده و م، مردی. (۱۳۸۷). بررسی تنوع ژنتیکی و شناسایی زیرواحدهای سنگین گلوتنین ژنوتیپ های بومی و ارقام زراعی گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای پروتئینی. مجله زیست شناسی ایران..جلد ۲۱، شماره ۳. صفحات۳۹۹-۳۹۳.

۴- رشیدی منفرد، س .، م، مردی .، ع، حسین زاده .، م ر. نقوی و س م، پیرسیدی. (۱۳۸۷)ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم دوروم(*Triticum turgidum* var *durum*) با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی(SSAP). مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال ۱۲، شماره ٤۵. صفحات ۱۵۷-۱٤۷.

5- Akar, T., and M. Ozgen. 2007. Genetic diversity in turkish durum wheat landraces. *Wheat Production in Stressed Environments*, 753–760.

6- Allard, R.W., 1996. Genetic basis of the evolution of adaptedness in plants. Euphytica, 92: 1–11.

7- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W.E., Sicmann, E. and Prati, D. 2005. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia, 14:* 1-11.

8- Brown, A., Weir, B.S.1983. Measuring genetic variability in plant populations, in *Isozymes in Plant Genetics and Breeding, Part A*, (Tanksley SD, Orton TJ, Editors). Elsevier Science Publ. Amsterdam, 219-239.

9- Casa, A.M., C. Brouwer., A. Nagel., L. Wang., Zhang., S. Kresovich and S.R. Wessler. 2000. The MITE family Heartbreaker (Hbr): molecular markers in maize. Proc. Natl .Acad .Sci. USA ,97:10083–10089.

10-Castilho, A., A. Vershinin and J.S. Heslop-Harrison. 2000. Repetitive DNA and the chromosomes in the genome of oil palm (*Elaeis guineensis*). Ann. Bot ,85: 837–844.

11- Chabane, K., O. Abdalla., H. Sayed and J. Valkoun .2007.Assessment of EST-microsatellites markers for discrimination and genetic diversity in bread and durum wheat landraces from Afghanistan. Genet Resource Crop. 54:1073–1080.

12- Dellaporta, S. L., J. Wood, and J. B. HICKS. 1983. A plant DNA minipreparation: Version II. Plant. Mol. Bio. Rep., (1):19–21.

13-Ellis, T.H.N., I.J. Poyser., M.R. Knox., A.V. Vershinin and M.J. Ambrose. 1998. Ty1 copia class retrotransposon insertion site polymorphism for linkage and diversity analysis in pea. Mol. Gen. Genet, 260: 9–19.

14-Flavell, A.J., E. Dunbar., R. Anderson., S.R. Pearce., R. Hartley and A. Kumar. 1992. Ty1-copia group retrotransposons are ubiquitous and eterogeneous in higher plants. Nucleic .Acids. Res, 20: 3639–3644.

15-Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA .2002. *Introduction to Conservation Genetics*, Cambridge University Press: Cambridge.

16-Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA .2004. *A Primer of Conservation Genetics*, Cambridge: Cambridge University Press.

17-Gribbon, B.M., Pearce., SR. Kalendar., A.H. R Schulman., L. Paulin., P. Jack., A. Kumar and A.J. Flavell. 1999. Phylogeny and transpositional activity of Ty1- copia group retrotransposons in cereal genomes. Mol. Gen .Genet ,261:883–891.

18-Hartl DL, Clark AG .1989. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer Associates,

19-Manifesto, M.M., A.S. Schlatter., H.E. Hopp., E.Y. Suarez and J. Dubcovky.2001.

www.SID.ir

Archive of SID

Quantitative evaluation of genetic diversity germplasm using molecular markers. Crop .Sci, 41: 682–690.

20- Martos, V., C. Royo., Y. Rharrabti and L.F. Garcia del Moral.2005. Using AFLPs to determine phylogenetic relationships and genetic erosion in durum wheat cultivars released in Italy and Spain throughout the 20th century. Field.Crop.Res , 91: 107–116.

21- Moritz C. and Daniel P.Faith.1998. Comprative phylogeography and the identification of genetically divergent areas for conservation.Molecular Ecology,7.419-429.

22- Pearce, S.R., M. Knox., T.N.H. Ellis., A.J. Flavell and A. Kumar. 2000. Pea Ty1-copia group retrotransposons: transitional activity and use as markers to study genetic diversity in *Pisum*. Mol. Gen. Genet, 263: 898–907.

23- Porceddu, A., E. Albertini., G. Barcaccia., G. Marconi., F.B. Bertoli and F. Veronesi. 2002. Development of S-SAP markers based on an LTR-like sequence from *Medicago sativa* L. Mol. Genet. Genomics, 267:107–114.

24- Reeves, T. G., S. Rajaram, M. V. Ginkel,R.Trethowan,H. J.Braun and K. Cassaday. 1999.New Wheat for a secure, Sustainable Future. Mexico D.F., CIMMYT.

25- Ribbon, B.M., Pearce., SR. Kalendar., A.H. R Schulman., L. Paulin., P. Jack., A. Kumar and A.J. Flavell. 1999. Phylogeny and transpositional activity of Ty1- copia group retrotransposons in cereal genomes. Mol. Gen .Genet ,261:883–891.

26- USDA Drought in EU, Northwest Africa Cause Global Durum To Sharply Drop in 2005/06. Production Estimates and Crop Assessment Division Foreign Agricultural Service,202: 720-7339.

27- Wang, H.Y., Y. Wei., Z. Yan and Y. Zheng. 2007. EST-SSR DNA polymorphism in durum wheat (*Triticum durum* L.) collections. J. Appl. Genet. 48(1): 35–42.

28- Waugh, R., K. McLean., A.J. Flavell., S.R. Pearce., A. Kumar., B.B.T. Thomas and W. Powell. 1997. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequences-specific amplification polymorphisms (S-SAP). Mol. Gen. Genet, 253:687–694.

www.SID.ir

Archive of SID

The study of genetic diversity between population of durum wheat *Triticum turgidum* var. *durum* from West and Northwestern of Iran using SSAP markers

Rashidi Monfared S.[1], Hosseinzadeh A. H.[1],Naghavi M.R. [1]., Mardi M.[2]., Ebrahimi A.[1], and Barahimipour R.[1]

[1] **Agronomy and Plant Breeding Dept., Agriculture College, University of Tehran, IR. of IRAN**

[2] **Genomics Dept., Agricultural Biotechnology Research Institute, Karaj, IR. of IRAN**

Abstract

Durum wheat is one of the most important cereals that culture in the West of Iran in farm and dry land from long time. Recently, It was revised because of its high yield , adaptation to drought stress , dry and semidry climate. The study of genetic diversity progreses the program of plant breeding and conservation of germplasm. In this study 79 genotype of indigenous durum wheat from West and Northwest of Iran were used. The population using 10 primer combinations of SSAP analyzed .For determination of genetic diversity between population Na, Ne, H, I, A indices were used. Kermanshah had the most value in all of them, Ilam had the lowest Ne(1.3623) rate and Ardebil had the lowest Na(1.5753) , I(.3270) , H(.2229) and A(57.53%) value . Dendrogram constructed based on dissimilarity matrix from PopGene software using UPGMA algorithm in NTSYSpc software.

Keywords: durum wheat, genetic diversity between population, PopGen32, SSAP

www.SID.ir