Archive of SID

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های *Aegilops tauschii* نواحی شمالی ایران با استفاده از نشانگرهای SSR

مریم حاجی‌کرم[۱]، محمدرضا نقوی[۱،*]، علیرضا طالعی[۱] و محمد جعفرآقایی[۲]

[۱] کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات

[۲] کرج، موسسه تحقیقات نهال و بذر، بخش ژنتیک

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/٤ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۸٦ نمونه *Aegilops tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی شمالی **ایران** از ۱۰ جفت توالیهای تکراری ریزماهواره استفاده شد که ۹ جفت از آنها چند شکلی مناسبی نشان دادند. در مجموع ۱٤۰ آلل برای تمام لوکوسها مشخص شد که دارای دامنه بین ۹ تا ۲۵ آلل و میانگین ۱۵/۵ آلل برای هر لوکوس بودند. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) از ۰/۱٦ برای لوکوس WMS111 تا ۰/۳۸ برای لوکوس WMS114 متفاوت بود. میانگین شباهت ژنتیکی مشاهده شده ۰/۱۰۱ و بیشترین میزان شباهت ژنتیکی (۰/۸۸) بین دو نمونه از استانهای گیلان و قزوین و کمترین میزان(۰) هم بین تعدادی از نمونه‌ها مشاهده شد. روشهای گروه بندی خوشه ای و تجزیه به مختصات اصلی نتوانست نمونه‌ها را به طور کامل از هم تفکیک کند که نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین نمونه‌ها می باشد.

واژه های کلیدی: ریزماهواره‌ها، *Aegilops tauschii*، تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۲۲۲۷٦۰۵-۰۲٦۱ پست الکترونیکی:mnaghavi@ut.ac.ir

مقدمه

آژیلوپسها دارای ۲۲ گونه دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید بوده (۳۱) و مبداء این جنس احتمالاً جنوب قفقاز می‌باشد. همه گونه‌های دیپلوئید این جنس دارای پراکنش محدودی بوده اما گونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید دارای سازگاری اکولوژیکی وسیع‌تری هستند(۱۱). جنس آژیلوپس در شکل گیری ژنوم گندم دوروم و نان نقش مهمی داشته است.

Aegilops tauschii Coss. (2n =2x =14, DD) گیاهی علفی، دیپلوئید و حاوی ژنوم D در گندمیان بوده و دهنده ژنوم D به گندم نان (*Triticum aestivum* L., 2n =6*x* =42, AABBDD) می‌باشد. این گونه در قفقاز، ایران، آسیای مرکزی، افغانستان، چین، پاکستان و ترکیه پراکنده بوده و مرکز تنوع آن جنوب دریای خزر می‌باشد (۳۱). با توجه به اینکه گونه‌ها به صورت کامل تعیین و تفکیک شده اند، تنوع ریخت شناسی موجود کار امتیازدهی را مشکل ساخته و وضعیت زیرگونه‌ها و واریته‌ها هنوز مورد بحث می‌باشد(۳، ۱۱، ۱٤، ۳۱). محققین از اسامی متفاوتی مانند *Ae. squarrosa* auct. non L. ،*Triticum tauschii* Schmal و *Ae. tauschii* Coss. برای این گونه استفاده می‌کنند و اینکه کدامیک از این اسامی صحیح می‌باشد هنوز به عنوان یک مسئله باقی مانده است. در حال حاضر تقریباً همه محققین از سیستم نامگذاری Eig (۱۹۲۹)(۵) استفاده می‌کنند. (۳). در این سیستم *Ae. tauschii* به دو زیرگونه تقسیم می‌شود که عبارتند از subsp. *eu-*

www.SID.ir

Archive of SID

squarrosa Eig (که در حال حاضر نام صحیح آن *taushii* subsp. است) و *strangulata* Eig. subsp. و زیرگونه *tauschii* subsp. که دارای سه واریته *anthera tauschii* و *meyeri* می‌باشد. زیرگونه *strangulata* subsp. با وجود تنوع ریختی بالا در یک تاکسون جداگانه قرار گرفته است (۱۲). زیرگونه *tauschii* subsp. از یک منطقه وسیع جغرافیایی و زیرگونه *strangulata* subsp. از یک کمربند باریک در جنوب شرق دریای خزر در ایران و ارمنستان گزارش شده است (۳۱، ۳۲).

Ae. tauschii براساس صفات مورفولوژیک (۱۱، ۱٤، ۲۲)، فیزیولوژیک(۸)، ایزوزیمها (۱۲، ۲۵)، پروتئینهای ذخیره‌ای دانه (۱۵)، RFLP (٤، ۲۰) و ریزماهواره (۱۰، ۱۸، ۲٦، ۲۸) مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین از نشانگرهای DNA برای تهیه نقشه پیوستگی ژنی این گونه استفاده شده است (۲، ۷، ۱٦). با استفاده از نشانگرهای RFLP و ریزماهواره سطح بالایی از چند شکلی در بین نمونه‌های *Ae. tauschii* گزارش شده است (٤، ۲٦، ۱۸).

به دلیل وجود ژنوم D در گندم نان، تنوع ژنتیکی موجود در *Ae. tauschii* به منظور یافتن ژنهای جدید و بهره برداری از آنها مورد توجه قرار دارد، همچنین گزارش شده است که ژنوم D گندم نان از جنوب شرق یا جنوب غرب دریای خزر منشاء گرفته است (۲٤، ۲۵، ۳۳) و زیرگونه *strangulata* subsp. به احتمال زیاد دهنده این ژنوم به گندم نان می‌باشد (٤،۱۱). *Ae. tauschii* نسبت به آفات و بیماریهای مهم کشاورزی مقاوم بوده (٦، ۱۳، ۲۱) همچنین دارای صفات فیزیولوژیکی مهم مانند مقاومت به دمای پایین (۱۷، ۱۹)، مقاومت به شوری (۳۰) و به خشکی (۹) می باشد و نسبت به گندم نان از نظر مقاومت به بیماریها و حشرات، ایزوزیمها و پروتئینهای ذخیره ای دانه دارای تنوع بیشتری می‌باشد و یک منبع مفید برای اصلاح گندم است (۱۱، ۲۰).

یکی از نیازهای اولیه جهت اصلاح گندم، تخمین تنوع ژنتیکی موجود در میان اجداد وحشی آن می‌باشد. نشانگرهای گوناگونی به صورت تکی یا چندتایی جهت بررسی تنوع ژنتیکی اجداد وحشی گندم به صورت موفقیت آمیز مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نشانگرهای مولکولی به دلیل اینکه تحت تأثیر محیط قرار ندارند، بهترین تخمین را از تنوع ژنتیکی موجود نشان می‌دهند (٤). تاکنون مطالعات مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی *Ae. tauschii* صورت گرفته است. Pestsova و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از ریزماهواره ها به بررسی تنوع موجود در نمونه‌های *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از منطقه قفقاز تا آسیای مرکزی پرداخته و مشاهده کردند که تعداد نسبتاً کمی از ریزماهواره‌ها برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب می‌باشند(۲٦). Naghavi و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی ٥٤ توده *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از ٥ کشور را با استفاده از نشانگرهای SSR و AFLP مورد بررسی قرار داده و در هر دو نشانگر نمونه‌های ایران بالاترین تنوع را نشان دادند(۲۳). Saeidi و همکاران (۲۰٦) تنوع ژنتیکی ٥۷ نمونه *Ae. tauschii* ایران که از مناطق شمال غربی، جنوب دریای خزر، شمال شرقی و غرب جمع آوری شده بودند را با استفاده از نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار دادند و تنوع بالایی در بین نمونه‌ها مشاهده کردند که بیانگر ارزش بالای این نمونه‌ها برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم می‌باشد(۲۸). Lelley و همکاران(۲۰۰۰) به منظور مطالعه فیلوژنی *Ae. tauschii* و گندم نان، ٦۰ نمونه از هر دو گونه را با استفاده از ۱٤ آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند و بالاترین سطح تنوع ژنتیکی را در ناحیه قفقاز و جنوب شرق دریای خزر مشاهده کردند (۱۸).

در حقیقت با توجه به اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی اجداد وحشی گندم و اهمیت ژنوم D در اهلی شدن و کیفیت نانوایی گندم نان، مطالعات زیادی بر روی *Ae. tauschii*

www.SID.ir

Archive of SID

انجام گرفته است. هدف این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های *Ae. tauschii* **نواحی شمالی ایران** و تعیین و تمایز ژنتیکی میان ژنوتیپهای مختلف آن با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره می‌باشد.

جدول ۱- نام و مبدا نمونه‌های مورد استفاده

کد نمونه	استان	گونه	شماره	کد نمونه	استان	گونه	شماره
A457	اردبیل	*Ae. tauschii*	44	A142	قزوین	*Ae.tauschii*	1
A471	زنجان	*Ae. tauschii*	45	A167	مازندران	*Ae. tauschii*	2
A492	مازندران	*Ae. tauschii*	46	A168	مازندران	*Ae. tauschii*	3
A493	مازندران	*Ae. tauschii*	47	A170	مازندران	*Ae. tauschii*	4
A494	مازندران	*Ae. tauschii*	48	A171	مازندران	*Ae. tauschii*	5
A496	گلستان	*Ae. tauschii*	49	A172	گلستان	*Ae. tauschii*	6
A498	گلستان	*Ae. tauschii*	50	A173	گلستان	*Ae. tauschii*	7
A500	گلستان	*Ae. tauschii*	51	A174	گلستان	*Ae. tauschii*	8
A502	گلستان	*Ae. tauschii*	52	A175	گلستان	*Ae. tauschii*	9
A503	گلستان	*Ae. tauschii*	53	A176	گلستان	*Ae. tauschii*	10
A513	گلستان	*Ae. tauschii*	54	A178	گلستان	*Ae. tauschii*	11
A514	گلستان	*Ae. tauschii*	55	A179	گلستان	*Ae. tauschii*	12
A516	گلستان	*Ae. tauschii*	56	A194	گلستان	*Ae. tauschii*	13
A517	گلستان	*Ae. tauschii*	57	A204	مازندران	*Ae. tauschii*	14
A529	مازندران	*Ae. tauschii*	58	A205	مازندران	*Ae. tauschii*	15
A530	مازندران	*Ae. tauschii*	59	A208	مازندران	*Ae. tauschii*	16
A531	مازندران	*Ae. tauschii*	60	A212	گیلان	*Ae. tauschii*	17
A532	مازندران	*Ae. tauschii*	61	A213	گیلان	*Ae. tauschii*	18
A533	مازندران	*Ae. tauschii*	62	A215	گیلان	*Ae. tauschii*	19
A551	سمنان	*Ae. tauschii*	63	A216	گیلان	*Ae. tauschii*	20
A562	سمنان	*Ae. tauschii*	64	A218	گیلان	*Ae. tauschii*	21
A563	سمنان	*Ae. tauschii*	65	A219	اردبیل	*Ae. tauschii*	22
A567	سمنان	*Ae. tauschii*	66	A226	اردبیل	*Ae. tauschii*	23
A570	سمنان	*Ae. tauschii*	67	A231	اردبیل	*Ae. tauschii*	24
A576	سمنان	*Ae. tauschii*	68	A250	آذرشرقی	*Ae. tauschii*	25
A580	سمنان	*Ae. tauschii*	69	A349	قزوین	*Ae. tauschii*	26
A587	سمنان	*Ae. tauschii*	70	A352	قزوین	*Ae. tauschii*	27
A607	گلستان	*Ae. tauschii*	71	A364	قزوین	*Ae. tauschii*	28
A610	سمنان	*Ae. tauschii*	72	A371	قزوین	*Ae. tauschii*	29
A616	سمنان	*Ae. tauschii*	73	A377	گیلان	*Ae. tauschii*	30
A631	سمنان	*Ae. tauschii*	74	A379	گیلان	*Ae. tauschii*	31
A658	قزوین	*Ae. tauschii*	75	A384	گیلان	*Ae. tauschii*	32
A668	قزوین	*Ae. tauschii*	76	A385	گیلان	*Ae. tauschii*	33
A683	قزوین	*Ae. tauschii*	77	A392	گیلان	*Ae. tauschii*	34
A695	قزوین	*Ae. tauschii*	78	A403	اردبیل	*Ae. tauschii*	35
A747	گیلان	*Ae. tauschii*	79	A407	اردبیل	*Ae. tauschii*	36
A754	گیلان	*Ae. tauschii*	80	A410	اردبیل	*Ae. tauschii*	37

www.SID.ir

Archive of SID

38	*Ae. tauschii*	اردبیل	A414	81	*Ae. tauschii*	گیلان	A763
39	*Ae. tauschii*	اردبیل	A416	82	*Ae. tauschii*	گیلان	A769
40	*Ae. tauschii*	اردبیل	A420	83	*Ae. tauschii*	گیلان	A776
41	*Ae. tauschii*	اردبیل	A432	84	*Ae. tauschii*	گیلان	A787
42	*Ae. tauschii*	اردبیل	A442	85	*Ae. tauschii*	گیلان	A794
43	*Ae. tauschii*	اردبیل	A450	86	*Ae. tauschii*	گیلان	A801

جدول۲- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده به همراه تعداد آلل و میزان اطلاعات چند شکلی(PIC)

نام آغازگر	بازو	موتیف	توالی آغازگر	دمای اتصال	تعداد آلل	PIC
WMS232	1dl	(GA)19	5′ ATCTCAACGGCAAGCCG 3′ 5′CTGATGCAAGCAATCCACC3′	۵۵	۱۰	۰/۳٤
WMS157	2dl	(CT)14	5′ GTCGTCGCGGTAAGCTTG 3′ 5′GAGTGAACACACGAGGCTTG3′	٦۰	۱۱	۰/۳۲
WMS484	2ds	(CT)29	5′ ACATCGCTCTTCACAAACCC 3′ 5′AGTTCCGGTCATGGCTAGG3′	۵۵	۲۰	۰/۲۰
WMS114	3ds	(GA)53	5′ ACAAACAGAAAATCAAAACCGG 3′ 5′ATCCATCGCCATTGGAGTG3′	٦۰	۹	۰/۳۸
WMS608	4dl	(GA)16	5′ ACATTGTGTGTGCGGCC 3′ 5′GATCCCTCTCCGCTAGAAGC3′	٦۰	۱۸	۰/۲۲
WMS212	5dl	(CT)20	5′ AAGCAACATTTGCTGCAATG 3′ 5′TGCAGTTAACTTGTTGAAAGGA3′	٦۰	۱۵	۰/۲٦
WMS192	5ds	(CT)46	5′ GGTTTTCTTTCAGATTGCGC 3′ 5′CGTTGTCTAATCTTGCCCTTGC3′	٦۰	۲۰	۰/۲۰
WMS325	6ds	(CT)16	5′ TTTCTTCTGTCGTTCTCTTCCC 3′ 5′TTTTTACGCGTCAACGACG3′	٦۰	۱۲	۰/۲۸
WMS111	7dl	(CT)32(GT)17	5′ TCTGTAGGCTCTCTCCGACTG 3′ 5′ACCTGATCAGATCCCACTCG3′	۵۵	۲۵	۰/۱٦

مواد و روشها

مواد گیاهی: در این تحقیق از ۸٦ نمونه *Ae. tauschii* که از ۸ استان شامل گلستان، مازندران، گیلان، سمنان، آذربایجان شرقی، قزوین، زنجان و اردبیل که توسط بانک ژن ملی گیاهی ایران، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید (جدول ۱).

تجزیه مولکولی: تعداد ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت که جداسازی این نشانگرهای SSR قبلا به وسیله Roder و همکاران (۲۷) شرح داده شده است. استخراج DNA از برگهای جوان حاصل از یک بذر از هر نمونه به روش Saghai-Maroof و همکاران (۲۹) با اندکی تغییر انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمراز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل۲ میکرولیتر DNA ژنومی(غلظت ٦۰-۵۰ نانوگرم) ، ۱/۵ میکرولیتر بافر 10X ، ۱ میکرولیتر 1mM dNTPs ، ۱ میکرولیتراز هر کدام از جفت آغازگرهای مربوطه (غلظت۱۰ پیکومول) ، ۰/۵ واحد آنزیم Taqپلی مراز، ۱/۲ میکرولیتراز کلریدمنیزیم ۱۵ میلی مولار و در نهایت با ۲ /۷ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. چرخه حرارتی

www.SID.ir

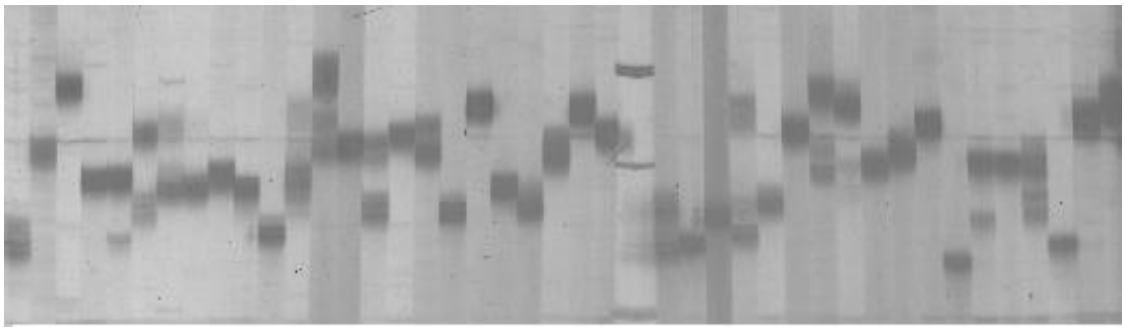
Archive of SID

شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۷ چرخه حرارتی که ۱۲چرخه اول حرارتی به صورت Touch Down برنامه ریزی شده بود، به این صورت که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو۱۰ درجه سانتی گراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه دور اول با کاهش۰/۸ دما، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعد دمای اتصال ثابت (بسته به دمای اتصال آغازگر) و با زمان ۳۰ ثانیه انجام شد، در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹٤ درجه در نظر گرفته شد. همچنین زمان و دمای بسط رشته نیز به ترتیب ۱دقیقه و ۷۲ درجه بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید ٦ درصد واسرشته ساز تفکیک و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره (۱) انجام گرفت.

نمره دهی بر اساس وجود باند (۱) و عدم وجود باند (۰) صورت گرفت. میزان اطلاعات چندشکل (PIC) با استفاده از فرمول $PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_i^2$ محاسبه گردید. به طوری که Pi فراوانی آللi ام و n تعداد آللها می‌باشد. سپس به کمک نرم افزار NTSYSpc 2.02 ماتریس تشابه با استفاده از روش دایس تهیه و سپس دندروگرام با الگوریتم UPGMA ترسیم گردید. همچنین با استفاده از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCA) گروه بندی نمونه‌ها در یک پلات دو بعدی بررسی شد.

نتایج و بحث

از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد استفاده، تعداد ۹ جفت آغازگر چندشکلی مناسب نشان دادند و نمره دهی شدند. از این تعداد جفت آغازگر چندشکل، در مجموع ۱٤۰ آلل به دست آمد، به طوری که تعداد آلل برای هرآغازگر از ۲۵-۹ متغیر بوده و میانگین تعداد آلل برای هر لوکوس ۱۵/۵ مشاهده شد (جدول۲). بیشترین تعداد آلل مربوط به آغازگر WMS111 با ۲۵ آلل چندشکل و کمترین آنها مربوط به WMS114و WMS232 به ترتیب با ۹ و ۱۰ آلل چندشکل بود. در شکل ۱ الگوی باندی تعدادی از نمونه‌های مورد استفاده با استفاده از آغازگر WMS484 نشان داده شده است. از آنجایی که میانگین تعداد آلل هر آغازگر ریزماهواره، مناسب بودن هر مکان ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیک نشان می‌دهد (۲۷)، بنابراین آغازگرهایی که تعداد آلل زیادی نشان داده اند برای بررسی تنوع ژنتیکی مناسب تشخیص داده می‌شوند. میانگین تعداد آللهای مشاهده شده در این تحقیق(۱۵/۵) نسبت به تعداد آللهای (۷/۳) بدست آمده توسط Saeidi و همکاران (۲۸) بیشتر می‌باشد.



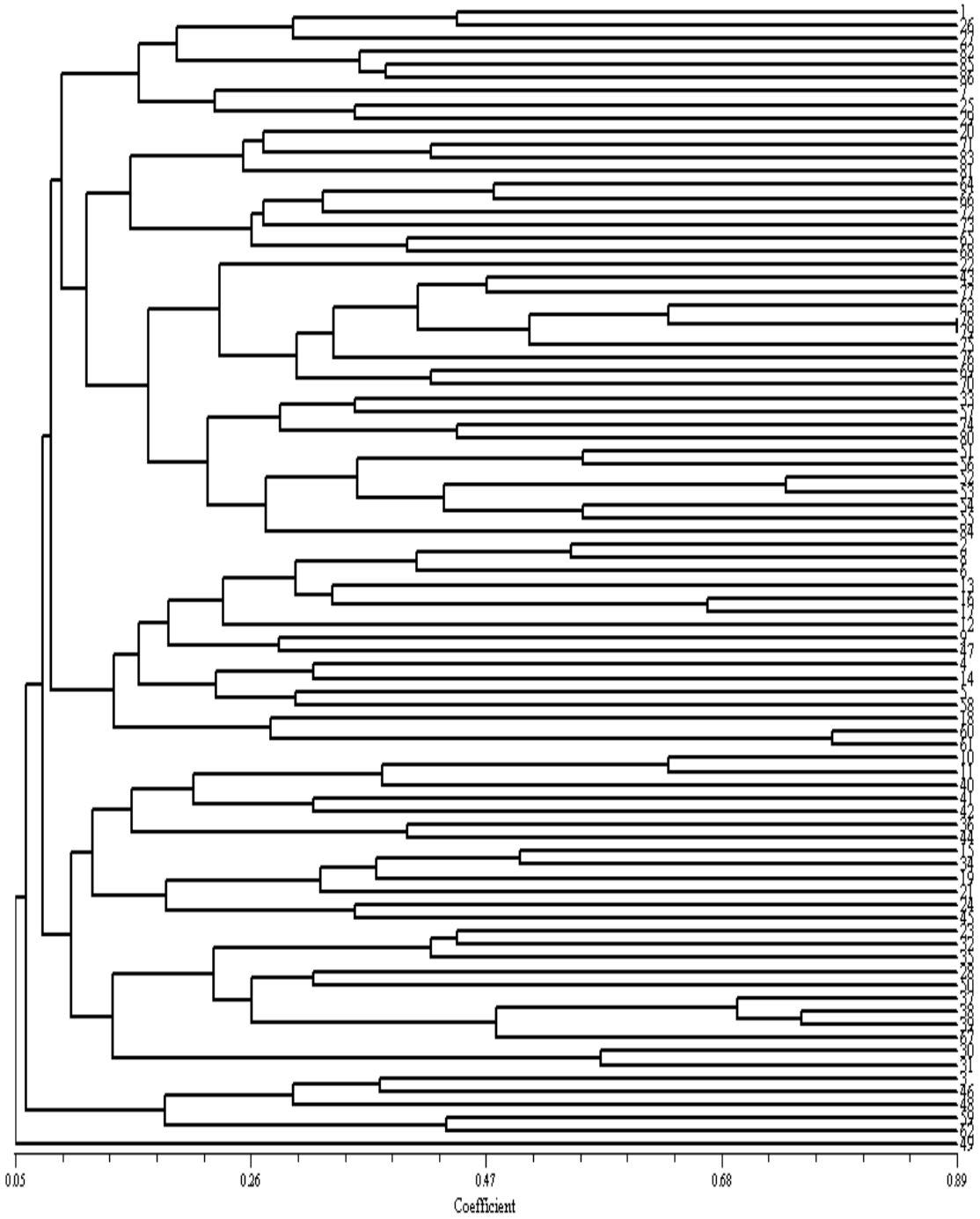
شکل ۱- الگوی باندی تعدادی از نمونه‌های مورد بررسی درجفت نشانگرWMS484

سپس با استفاده از فراوانی آللی، میزان محتوای چند شکلی(PIC) برای هر آغازگر به صورت جداگانه محاسبه گردید که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. بیشترین میزان PIC (۰/۳۸) برای آغازگرWMS114 و کمترین میزان PIC (۰/۱٦) نیز برای آغازگر WMS111 به دست آمد. در نتیجه می‌توان گفت که آغازگر WMS114 با بیشترین میزان

www.SID.ir

Archive of SID

PIC توانسته است بهتر از بقیه آغازگرهای استفاده شده، فاصله ژنتیکی نمونه‌ها را مشخص کند و می‌تواند در مطالعات بعدی نیز به عنوان آغازگری که در تشخیص تنوع ژنتیکی مناسب است مورد استفاده قرار گیرد. میانگین PIC بدست آمده (۰/۲۶) نسبت به مطالعات انجام شده قبلی توسط Lelley و همکاران (۰/۶۸)، Naghavi و همکاران (۰/۸۲) و Saeidi و همکاران (۰/۶۶) کمتر می‌باشد(۱۸، ۲۲، ۲۸). دلیل این تفاوت را می توان به تفاوت در نشانگر های مورد استفاده و همچنین تفاوت در نمونه های مورد بررسی نسبت داد.



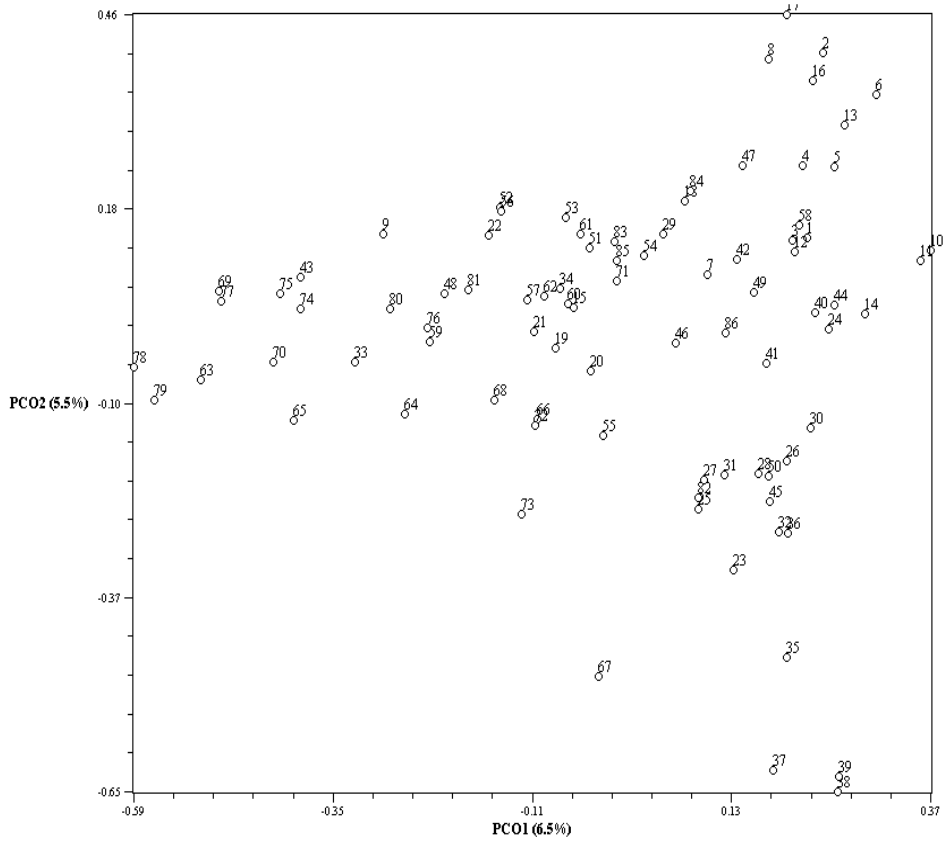
شکل۲- گروه بندی نمونه های مختلف *Aegilops tauschii* با استفاده از روش دایس و الگوریتم UPGMA

www.SID.ir

Archive of SID

شباهت ژنتیکی بین نمونه‌ها با استفاده از ضریب دایس محاسبه گردید که بر این اساس بیشترین شباهت ژنتیکی با میزان ۰/۸۸ در میان دو نمونه از استانهای قزوین و گیلان مشاهده گردید. کمترین میزان شباهت ژنتیکی نیز با میزان ۰ برای تعدادی از نمونه‌ها به دست آمد. میانگین شباهت ژنتیکی نیز ۰/۱۰۱ به دست آمد.

سپس با استفاده از ماتریس تشابه به دست آمده و الگوریتم UPGMA گروه بندی نمونه‌ها انجام گرفت. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای (شکل ۲) قادر به گروه بندی بر اساس مناطق جغرافیایی نبوده و نمونه‌ها را در ٤ گروه بزرگ تقسیم بندی کرد که در گروه اول ٥٦ نمونه از استانهای قزوین، گلستان، گیلان، آذربایجان شرقی، سمنان، اردبیل و مازندران، در گروه دوم ٢٤ نمونه از استانهای گلستان، اردبیل، مازندران، گیلان، زنجان، قزوین و سمنان، درگروه سوم ٥ نمونه از استان مازندران و درگروه چهارم تنها یک نمونه از استان مازندران قرار گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده در یک استان یا شهر در بسیاری از موارد در گروهها یا زیرگروههای جداگانه قرار گرفته‌اند که بیانگر تفاوت ژنتیکی بالای این نمونه‌ها می‌باشد. همچنین قرار گرفتن نمونه‌های متعلق به شرایط جغرافیایی متفاوت در یک خوشه می توان به واسطه تبادلات فیزیکی و یا شباهت ژنتیکی بین نمونه‌ها باشد.



شکل ۳- نحوه پراکنش نمونه های *Aegilops tauschii* در پلات دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی

آنالیز UPGMA (شکل ۲) و PCA (شکل۳) تا حدود زیادی با هم همخوانی داشتند و در پلات دو بعدی نیز نمونه‌ها در سطح پلات پراکنده بودند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی زیاد در بین نمونه‌ها می‌باشد. پراکنش نمونه‌ها در دو بعد تجزیه به مختصات اصلی در مجموع ۱۲ درصد از تغییرات را توجیه نمود که ٦/٥ درصد آن توسط بعد اول و ٥/٥ درصد آن توسط بعد دوم توجیه گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه های *Ae. tauschii* **نواحی شمالی ایران** از تنوع بالایی برخوردار می‌باشند و با استفاده از مارکر SSR می توان به راحتی شناسنامه مولکولی برای نمونه‌ها تهیه نمود. با توجه به نقش این گونه در اهلی شدن گندم نان و همچنین دارا بودن ژنهای مفید مانند مقاومت به خشکی و شوری و آفات مهم کشاورزی، اهمیت آن جهت مطالعات بیشتر و تعیین دقیق زیرگونه‌ها و انتقال ژنهای مفید آن به گندم نان پیشنهاد شده است (۹،۱۳،۱۹،۳۰).

منابع

1-Bassam B.J., Caetano-Anolles G. and Gresshoff P.M. (1991). Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Anal. Biochem. 198: 80–83.

2- Boyko E.V., Gill K.S., Mikelson-Young L., Nasuda S., Raupp W.J., Ziegle J.N., Singh S., Hassawi D.S., Fritz A.K., Namuth D., Lapitan N.L. and Gill B.S.(1999). A high-density genetic linkage map of *Aegilops tauschii*, the D-genome donor of bread wheat. Theor. Appl. Genet. 99: 16–26.

3- Dudnikov A.J. (2000). Multivariate analysis of genetic variation in *Aegilops tauschii* from the world germplasm collection. Genet. Resour. Crop Evol. 47: 185–190.

4- Dvorak J., Luo M.C., Yng Z.L. and Zhang H.B. (1998). The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat. Theor. Appl. Genet. 97: 657–670.

5- Eig A. (1929). Monographisch-kritische U bersicht der Gattung *Aegilops*. Feddes Repertorium Specierum novarum regni vegetabilis Beigh. 55: 1–228.

6- Gill B.S., Raup W.I., Sharma H.C., Browder L.E., Hatchett J.H., Harvey T.L., Moseman J.G. and Waines J.G. (1986). Resistance in *Aegilops tauschii* to wheat leaf rust, wheat powdery mildew, greenbug, and Hessian fly. Plant Dis. 70: 550–556.

7- Gill K.S., Lubbers E.L., Gill B.S., Raupp W.J. and Cox T.S. (1991). A genetic linkage map of *Triticum tauschii* (DD) and its relationship to the D genome of bread wheat (AABBDD). Genome 34: 362–374.

8- Goncharov NP, Chikida NN (1995) Genetics of growth habit in *Aegilops squarrosa* L. Russian J. Genet. 3: 343–346.

9- Gororo N.N., Eagles H.A., Eastwood R.F., Nicolas M.E. and Flood R.G. (2002). Use of *Triticum tauschii* to improve yield of wheat in low-yielding environments. Euphytica 123: 241–254.

10- Guyomarc'h H., Sourdille P., Charmet G., Edwards K.J., Bernard M. (2002). Characterisation of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. Theor. Appl Genet. 104:1164–1172.

11- Hammer K. (1980). Zur Taxonomie und Nomenklatur der Gattung *Aegilops* [German]. Feddes Repert. 91: 225-258.

12- Jaaska V. (1981). Aspartate aminotransferase and alcohol dehydrogenase isoenzyme: intraspecific differentiation in *Aegilops tauschii* and the origin of the D genome polyploids in the wheat group. Plant Syst. Evol. 137: 259–273.

13- Kerber E.R. and Dyck P.L. (1969). Inheritance in hexaploid wheat of leaf rust resistance and other characters derived from *Aegilops squarrosa*. Can. J. Genet. 11: 639–647.

14- Knaggs P., Ambrose M.J., Reader S. and Miller T.E. (2000). Morphological characterization and evaluation of the subdivision of *Aegilops tauschii* Coss. Wheat Inf. Serv. 91: 15–19.

15- Konarev V.G. (1980). *Ae. squarrosa.* In: Konarev VG, Proteins of wheat (in Russian). Moscow, Kolos. pp 227–241.

16- Lagudah E.S., Apples R., Brown A.H.D. and McNeil D. (1991). The molecular-genetic analysis of *Triticum tauschii*, the D genome donor to hexaploid wheat. Genome. 34: 375–386.

17- Le H.T., Reicosky D.A., Olien C.R. and Cress C.E. (1986). Freezing hardiness of some accessions of *Triticum tauschii* and *Triticum turgidum* var. *durum*. Can. J. Plant Sci. 66: 893–899.

18- Lelley T., Stachel M., Grausgruber H. and Vollmann J. (2000). Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of

www.SID.ir

Archive of SID

wheat utilizing microsatellites. Genome 43: 661–668.

19- Limin A.E. and Fowler D.B. (1981). Cold hardiness of some wild relatives of hexaploid wheat. Can. J. Bot. 59: 572–573.

20- Lubbers E.L., Gill K. S., Cox T.S. and Gill B.S. (1991). Variation of molecular markers among geographically diverse accessions of *Triticum tauschii*. Genome 34: 354–361.

21- Malik R., Smith C.M., Brown-Guedira G.L., Harvey T.L. and Gill B.S. (2003). Assessment of *Aegilops tauschii* for resistance to biotypes of wheat Curl Mite (Acari: Eriophydae). J. Econ. Entomol. 96: 1329–1333.

22- Naghavi MR., Amirian R. (2005). Morphological characterization of accessions of *Aegilops tauschii*. Int. J. Agri Biol. 7: 392–394.

23- Naghavi M.R., Mardi m., Pirseyedi S.M., Kazemi M., Potki P. and Ghaffari, M.R. (2007). Comparison of genetic variation among accessions of *Aegilops tauschii* using AFLP and SSR markers. Genet. Resour. Crop Evol. 54: 237–240.

24- Nakai Y. (1979). Isosyme variation in *Aegilops* and *Triticum*, IV The origin of the common wheats revealed from the study on esterase isozymes in synthesized wheats. Jpn. J. Genet. 54: 175–189.

25- Nishikawa K., Furuta Y. and Wada T. (1980). Genetic studies on alpha-amylase isozymes in wheat. III. Intraspecific variation in *Aegilops squarrosa* and the birthplace of hexaploid wheat. Jpn. J. Genet. 55: 325–336.

26- Pestsova E., Korzun V., Goncharov N.P., Hammer K., Ganal M.W. and Roder M.S. (2000). Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. Theor. Appl. Genet. 101: 100–106.

27- Roder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy Ph. and Ganal M.W. (1998). A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007–2023.

28- Saeidi H., Rahiminejad MR., Vallian S., Heslop-Harrison J.S. (2006). Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. in Iran measured using microsatellites. Genet Resour Crop Evol. 53:1477–1484.

29- Saghai-Maroof M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A. and Allad R.W. (1984). DNA spacerlength polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81: 8014-8018.

30- Shah S.H., Gorham J., Forster B.P. and Wyn Jones R.G. (1987). Salt tolerance in the *Triticeae*: The contribution of the D genome to cation selectivity in hexaploid wheat. J. Exp. Bot. 38: 254–269.

31- Slageren M.W. (1994). Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig. Wageningen Agricultural University.

32- Tanaka M. (1983). Geographical distribution of *Aegilops* species based on the collections at the Plant Germ-plasm Institute, Kyoto University. Proceeding In: 6th International Wheat genetics Symposium, Kyoto, Japan. 1983: 1009–1024.

33- Tsunewaki K. (1966). Comparative gene analysis of common wheat and its ancestral species. II. Waxiness, growth habit and awnedness. Jpn. J. Bot. 19: 175–229.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of Genetic Diversity of *Aegilops Tauschii* from Northern Area of Iran Using SSR Markers

Haji Karam M.[1], Naghavi M.R.[1], Taleii A.R.[1], and Aghaii M.J.[2]

[1]Plant Breeding Dept., Natural Resources & Agriculture School, Tehran University, Karaj, I.R. of IRAN

[2]Genetics Dept., Seed & Plant Research Institute, Karaj, I.R. of IRAN

Abstract

In this study, in order to study genetic diversity in the accessions of *Aegilops tauschii* from Northern area of Iran, 86 accessions of this species selected and evaluated using SSR markers. Ten SSR primer pairs were applied for genotyping assays. A total of 140 alleles were detected across all loci, ranging from 9 to 25 alleles per locus, with an average of 15.5 alleles per locus. The polymorphic information content (PIC) values of the loci ranged from 0.16 (WMS111) to 0.38 (WMS114). Genetic similarity calculated from the SSR data ranging from 0 (many genotypes) to 0.88 (two genotypes from Ghazvin and Gilan) with an average of 0.101. Cluster and PCA analyses could not separate accessions, indicating that there is high genetic diversity among accessions.

Keywords: Microsatellies, *Aegilops tauschii*, genetic diversity, cluster analysis, Iran

www.SID.ir