"مجله علوم زراعی ایران"
جلد چهاردهم، شماره ۱ بهار ۱۳۹۱

ارزیابی روابط فیلوژنتیکی مولکولی ژن *ACC* در جنس‌های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus*

Assessment of phylogenetic relationships of *ACC* gene in *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera

مرجان بهزادی راد[۱]، محمد رضا نقوی[۲] و علیرضا طالعی[۳]

چکیده

بهزادی راد، م.، م. ر. نقوی و ع. ر. طالعی. ۱۳۹۱. ارزیابی روابط فیلوژنتیکی مولکولی ژن *ACC* در جنس‌های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus*. **مجله علوم زراعی ایران. ۱٤(۱): ۹۳-۸٤.**

ژن تک نسخه پلاستیدی استیل کوآنزیم‌آ، اولین عامل کاتالیزی در بیوسنتز اسیدهای چرب، در مطالعه روابط فیلوژنتیکی، تکاملی و سیستماتیکی گندمیان توانایی زیادی دارد. احتمال اینکه، ژن‌های تک نسخه و کم نسخه دستخوش تکامل گروهی شوند کم است، بنابراین ACC ژن مهمی جهت مطالعه مبدأ و تکامل پلی پلوییدها محسوب می‌شود. در این تحقیق رابطه فیلوژنتیکی هفت گونه و زیرگونه‌ی جوهای بومی ایران، (*Hordeum marinum* Hudson)، (*Hordeum brevisubulatum* Trinus Link)، (*Hordeum bulbosom* L.)، (*Hordeum spontaneum* K. Koch)، جو زراعی دو ردیفه (*Hordeum vulgare* convar. *distichon* L.)، جو زراعی شش ردیفه (*Hordeum vulgare* convar. *hexastichon* L.)، با استفاده از آغازگر اختصاصی ژن استیل کوآنزیم‌آ کربوکسیلاز ACC1 بررسی و توالی‌های بدست آمده از جو با توالی گونه‌هایی از جنس *Leymus* و *Elymus* موجود در پایگاه اطلاعاتی مقایسه شدند. نتایج نشان داد که جوهای بومی ایران تنوع زیادی داشتند. درخت فیلوژنتیکی نمونه‌ها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود که اولین گروه شامل تمامی نمونه‌های جنس *Leymus* و *Elymus* و دو گونه از جنس *Hordeum* بود، در حالی که گروه دوم شامل گونه‌ها و زیرگونه‌های *Hordeum* ایرانی همراه با *Hordeum vulgare* بود که مبدأ آن شناخته شده نیست. نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی در این تحقیق با نتایج سایر مطالعات بدست آمده از تحقیقات مورفولوژیکی و مولکولی مطابقت داشت. از آنجایی که ژن ACC1 منبع ارزشمندی جهت تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی در طایفه *Triticeae* می باشد، لذا نتایج این تحقیق وضعیت ژنومی گونه‌ها و روابط تکاملی بین آنها و همچنین روابط منطقی تاکسونومی گونه‌های مهم و بومی جو ایران با استفاده از مقایسه توالی‌های DNA برای ژن مورد نظر را به خوبی مشخص نمود.

واژه‌های کلیدی: تکامل مولکولی، توالی ژن، ژنACC، فیلوژنتیک و *Hordeum*

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۲۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی دانشگاه تهران. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک: mbehzadi@ut.ac.ir)
۲- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۳- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

www.SID.ir
Archive of SID

مقدمه

جنس جو (*Hordeum*) متعلق به طایفه *Triticeae* از خانواده گندمیان (*Poaceae*) است. این جنس بطور کامل شناسایی شده است و شامل گونه‌های تک اجدادی است که به آسانی قابل تشخیص هستند. جنس *Hordeum* همانند اکثر جنس‌های دیگر در مناطق معتدل، هم در نیمکره شمالی و هم در نیمکره جنوبی پراکنش دارد. در مناطق نیمه گرمسیری، در مرکز آمریکای جنوبی و مناطق قطبی در آمریکای شمالی و آسیای مرکزی و از سطح دریا تا ارتفاع بیش از ۴۵۰۰ متری در کوه‌های هیمالیا و آند دیده می‌شود. مراکز تنوع این جنس با توجه به مناطقی که دارای بیشترین تعداد گونه‌هاست در دنیا در چهار منطقه، جنوب غربی آسیا، آسیای مرکزی، غرب آمریکای شمالی، جنوب آمریکای جنوبی (با ۱۶ گونه‌ی وحشی) است که در منطقه‌ی اخیر بیشترین تعداد گونه‌ها می‌رویند (Von Bothmer *et al.,* 1991). جو زراعی (*H. vulgare*) یکی از گونه‌های مهم اقتصادی این جنس است که برای تغذیه‌ی چهارپایان و تولید مالت استفاده می‌شود. تعداد کروموزوم‌های پایه جو x=۷ می‌باشد که گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید آن به ترتیب ۱۴، ۲۸ و ۴۲ کروموزوم دارند (Blattner, 2009). گونه‌های مختلف جو معمولا در زادگاه‌های طبیعی مانند دشت‌ها (جلگه‌ها) و مرغزارها در امتداد رودخانه‌ها و نهرهای آب روان، خیلی از آنها در خاک‌های نمکین و امروزه در سر خیابان‌ها و کنار کانال‌های آبیاری در سرتاسر زمین‌های طبیعی گسترش دارند (Nishikata *et al.,* 2002; Petersen and Seberg, 2003).

تلاش زیادی جهت بررسی روابط فیلوژنتیکی در جنس *Hordeum* انجام گرفته است، زیرا جو یکی از محصولات مهم جهانی است و گونه‌های وحشی آن منابع ژنتیکی غنی را جهت بهبود محصولات دارند. جهت مطالعه سریع آنالیزهای فیلوژنتیکی مولکولی در این جنس، در دهه اخیر از توالی‌های DNA استفاده شده است (Blattner, 2004 ; Jakob *et al.,* 2006 ; Sun *et al.,* 2009). جنس *Leymus* گیاهی چندساله از خانواده گندمیان است که تنوع مورفولوژیکی زیادی دارد و در مناطقی با شرایط اکولوژیکی متفاوت پراکنش دارد. این جنس دارای ۳۵ گونه است که همگی آنها قبلا جزء *Elymus* دسته بندی می‌شدند. پنج سطح پلوئیدی در *Leymus* وجود دارد که شامل تتراپلوئید، هگزاپلوئید، اکتاپلوئید، دکاپلوئید و دودکاپلوئید بوده به ترتیب ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۷۰ و ۸۴ کروموزوم دارند (Orgaard ,1994). *Elymus* گیاهی چندساله از خانواده گندمیان است که حداقل ۱۵۰ گونه دارد و در حدود نیمی از این گونه‌ها در آسیا پراکنش دارند. گیاهان این جنس به نام چاودار وحشی یا علف گندم شناخته می‌شوند. این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت است که شامل تتراپلوئید و هگزاپلوئید و اکتاپلوئید با x=۷ می‌باشد (Orgaard and Anamthawat-jonsson., 2001).

اولین مرحله تولید اسیدهای چرب در موجودات زنده کربوکسیله شدن مولکول استیل کوآنزیم‌آ می‌باشد که این عمل تحت تأثیراستیل کوآنزیم‌آ کربوکسیلاز صورت می‌پذیرد. این آنزیم در شروع واکنش سنتز اسیدهای چرب مورد نیاز است. اسیدهای چرب به عنوان مولکول‌های سوختی و تأمین واحدهای ساختمانی غشاهای زیستی ضروری هستند (Safari, 2003). قطعات ژن استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز kb ۱/۸-۱/۵ هستند. قطعه ژن *ACC* (acetyl-CoA carboxylase) که آنزیم پلاستیدی را رمز می‌کند ۷ اینترون و ۸ اگزون دارد (Hung *et al.,* 2002). هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2002) از دو سیستم ژنی برمبنای توالی‌های ژن‌های هسته‌ای رمزکننده استیل کوآنزیم‌آ (ACCase) و ۳-فسفوگلیسرات کیناز (*PGK*) درمطالعه تکامل گندم و سایرگندمیان استفاده نمودند. نتایج آزمایش‌های آنها نشان داد که اغلب

Archive of SID

www.SID.ir

گونه‌های گندمیان مطالعه شده این دو ژن، تک نسخه می‌باشند. نتایج بدست آمده مربوط به ژن *ACC* یافته‌های قبلی تکامل را تأیید نمود. از مقایسه‌ی توالی نوکلئوتیدی ژن‌های استیل کوآنزیم‌آ و ۳-فسفوگلیسرات کیناز که با یکدیگر سازگار هستند، روابط فیلوژنتیکی مهمی در بین گندمیان بدست آمده است. سان و همکاران (Sun *et al.*, 2009) رابطه فیلوژنتیکی و تکامل جنس *Hordeum* را با ژن *RPB2* (RNA polymerase II) بررسی نمودند و هدف آنها یافتن *MITE* (inverted-repeat terminal element Miniature) در ژن *RPB2* در ژنوم این جنس و همچنین مقایسه‌ی تکامل ژن *RPB2* با سایر گونه‌های دیپلوئید *Triticeae* بود. نتایج تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی‌های *RPB2* نشان داد که، ژنوم *H* و *Xa* دریک گروه منومورف و ژنوم *Xu* و *I* جدا از ژنوم *H* و *Xa* قرار دارند. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2009) رابطه فیلوژنتیکی را در برخی گونه‌های دو جنس *Pseudoroegneria* و *Roegneria* به وسیله ژن *ACC* بررسی کردند و روابط تکاملی را بر اساس اینترون و اگزون بدست آوردند. آنها مشخصات داده‌های جفت شده از توالی‌های اینترون و اگزون محاسبه و درخت فیلوژنی آن‌ها را نیز رسم کردند. کوماتسودا و همکاران (Komatsuda *et al.*, 1999) با مطالعه‌ی توالی DNA هسته‌ای در جنس جو روابط فیلوژنی را بین چهار ژنوم *H*، *I*، *Xa* و *Xu* بررسی نمودند. نتایج بدست آمده برمبنای جایگزینی و نیز رویدادهای حذف و الحاق نشان داد که ژنوم *H* و *Xa* دریک گروه منومورفیک قرار دارند، در حالی که ژنوم *Xu* و *I* جدا از یکدیگر می‌باشند.

باتوجه به اینکه محدوده تنوع ژنتیکی هریک از خویشاوندان وحشی جو بسیار گسترده است، از این رو می‌توان ازصفات متنوعی مانند مقاومت به آفات و بیماری‌ها و حتی برخی از صفات کمی از ژرم پلاسم خارجی برای انتقال به گیاهان زراعی خویشاوند آن استفاده نمود(Von Bothmer *et al,.* 2003). ایران به عنوان یکی از مراکز بومی جو مورد توجه است و با توجه به اینکه اجداد وحشی جو دارای تنوع ژنتیکی بسیار زیادی هستند، یافتن روابط تکاملی این گیاه بسیار ارزشمند است و هدف از تجزیه تحلیل‌های فیلوژنتیکی کشف ترتیبی از شاخه‌ها بصورت درخت‌هایی است که نشان دهنده بهترین رابطه‌ی تکاملی بین توالی‌ها باشد (Naghavi *et al.*, 2009). با بررسی رابطه فیلوژنی مولکولی می‌توان اطلاعاتی درباره گونه‌ها و نسل‌های اجدادی منقرض شده و حتی برآورد شروع زمان انشعاب و طبقه بندی دقیق گیاه موردنظر را بدست آورد. این روش در برنامه‌های به نژادی انتقال ژن بطور مؤثری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Xion, 2006).

هدف از این تحقیق تعیین ارتباط فیلوژنتیکی گونه‌های مختلف جوهای بومی ایران با گونه‌هایی از جنس‌های *Leymus* و *Elymus* با استفاده از ژن *ACC* بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق کار آزمایشگاهی بر روی هفت گونه و زیرگونه جو بومی ایران که از بانک ژن ملی ایران و کشور استرالیا تهیه شده بودند، جهت بررسی روابط فیلوژنتیکی با استفاده از آغازگر اختصاصی مربوط به ژن *ACC1* انجام شد. همچنین از توالی ژن *ACC* جنس‌های *Elymus* و *Leymus* موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI استفاده گردید. مشخصات بذور جو در جدول یک ارائه شده است.

این تحقیق در سال ۱۳۸۸ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران انجام شد. تعداد ۶-۵ بذر از هر کدام از گونه‌ها و زیرگونه‌های جو بومی ایران در گلدان کشت و پس از رشد گیاهچه ها و ظهور حداقل دو برگ (حدود دو تا سه هفته پس ازکشت) از آنها نمونه برداری شد.

www.SID.ir

جدول ۱- نام و مشخصات مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش

Table1. Plant materials used in this experiment

گونه های جو Barley species	شماره دسترسی Accession No.	مبدأ Origin
Hordeum marinum Hudson	TN.02-904	Sari
Hordeum. murinum L.	TN.02-1085	Lorestan
Hordeum bulbosom L.	406400, 25VM91	Iran
Hordeum spontaneum K. Koch	TN.02-494	Saveh
Hordeum brevisubulatum Trinus Link	406383, 13VM91	Iran
Hordeum vulgare convar *distichon* L.	KC.70062	khoram abad
Hordeum vulgare convar *hexastichon* L.	TN.02-102	Turkey

استخراج DNA، PCR و توالی‌یابی

استخراج DNA ژنومی از برگ‌های تازه و به روش CTAB تغییر یافته (Murray and Thampson, 1980) انجام گرفت. جهت بررسی کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده، از دستگاه نانودراپ و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگر ACC1 (Huang *et al*., 2002) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شد (جدول ۲).

جدول ۲- توالی آغازگر مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The sequence of the primer used in this experiment

نام آغازگر Primer name	توالی رفت Forward	توالی برگشت Reverse
ACC1	GTTCCTGGCTCCCCAATATTTATC CCCAATATTTATCATGAGACTTGCA	TTCAAGAGATCAACTGTGTAATCA CAACATTTGAATGAATCTCCACG

در حجم ۲۵ میکرولیتر، که حاوی یک واحد از آنزیم (High-fidelity LA-Tag DNA polymerase Takara)، بافر PCR (1X)، ۵۰-۲۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP، یک میکرومولار از هر آغازگر انجام شد. برنامه PCR به ترتیب ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل ۹۴° درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۵۶° درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه و دمای بسط نهایی ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت هشت دقیقه بکار گرفته شد. محصول PCR بر روی ژل آگارز یک درصد تفکیک و ارزیابی شدند (Zhang *et al*., 2009). محصولات PCR که ۱۵۰۰-۱۸۰۰bp طول داشتند، جهت توالی‌یابی از روی ژل جدا شده و به روش glassmilk خالص سازی شدند و قطعات تکثیری خالص شده از روی ژل به مرکز توالی‌یابی SEQLAB آلمان ارسال شدند. توالی قطعات تکثیری حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای Forward و Reverse بدست آمد. به منظور تعیین قرابت گونه‌ها و بررسی روابط فیلوژنتیکی از نرم افزارهای DNAstar، BLAST، Mega استفاده شد.

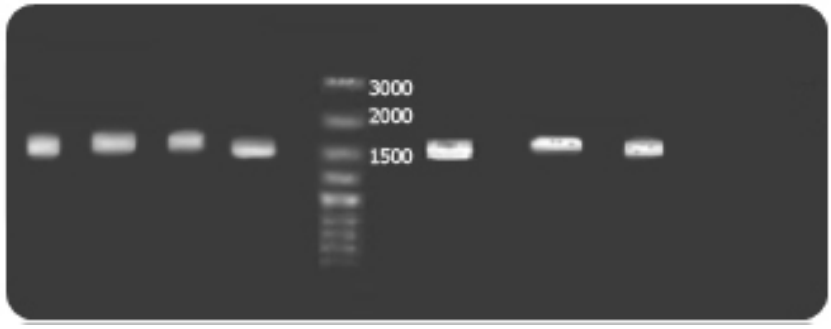
محصولات PCR بر روی ژل آگارز یک درصد تفکیک و ارزیابی شدند و باند مورد نظر با سایز مارکر ۱۰۰-۳۰۰۰ bp، SMO323 شرکت فرمنتاز مقایسه شد و قطعه ۱۵۰۰-۱۸۰۰ bp برای ژن *ACC1* شناسایی گردیدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه تحلیل با نرم افزار BLAST نشان داد که توالی‌های *ACC1* گونه‌های جو بومی ایران با چه توالی‌هایی از این ژن، در گونه‌ی مورد نظر و

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تصویر ژل الکتروفورز گونه‌های جو، به ترتیب از چپ به راست:

H. spontaneum, *H. bulbosom*, *H. brevisubultum*, *H. marinum*, *H. distichon*, *H. murinum*, *H. hexastichon.*

Fig. 1. Electrophoresis gel for barley species from left to right:

H. spontaneum, *H. bulbosom*, *H. brevisubultum*, *H. marinum*, *H. distichon*, *H. murinum*, *H. hexastichon*

گونه‌های دیگر شباهت دارد (جدول ۳). در جدول ۳ در قسمت بالای همردیفی متنی، به ترتیب از چپ به راست، اطلاعاتی در خصوص درصد همسانی، ارزش E (میزان تفاوت دو توالی از یکدیگر) و مشابهت بین دو توالی، نام و توضیح مربوط به گونه‌های مشابه از نظر توالی، کد ژنتیکی آن گیاه، نام گونه‌هایی که این آزمایش برروی آن ها انجام شده، در نتایج حاصل از همردیفی نشان داده شده است. بعد از شناسایی خویشاوندان هر یک از گونه‌ها بر اساس ژن *ACC1* در NCBI و با استفاده از نرم افزار

جدول ۳ - تطابق بین توالی گونه‌های جو با توالی‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی با استفاده از BLAST

Table 3- Alignment of the barley's sequences with NCBI sequences using BLAST

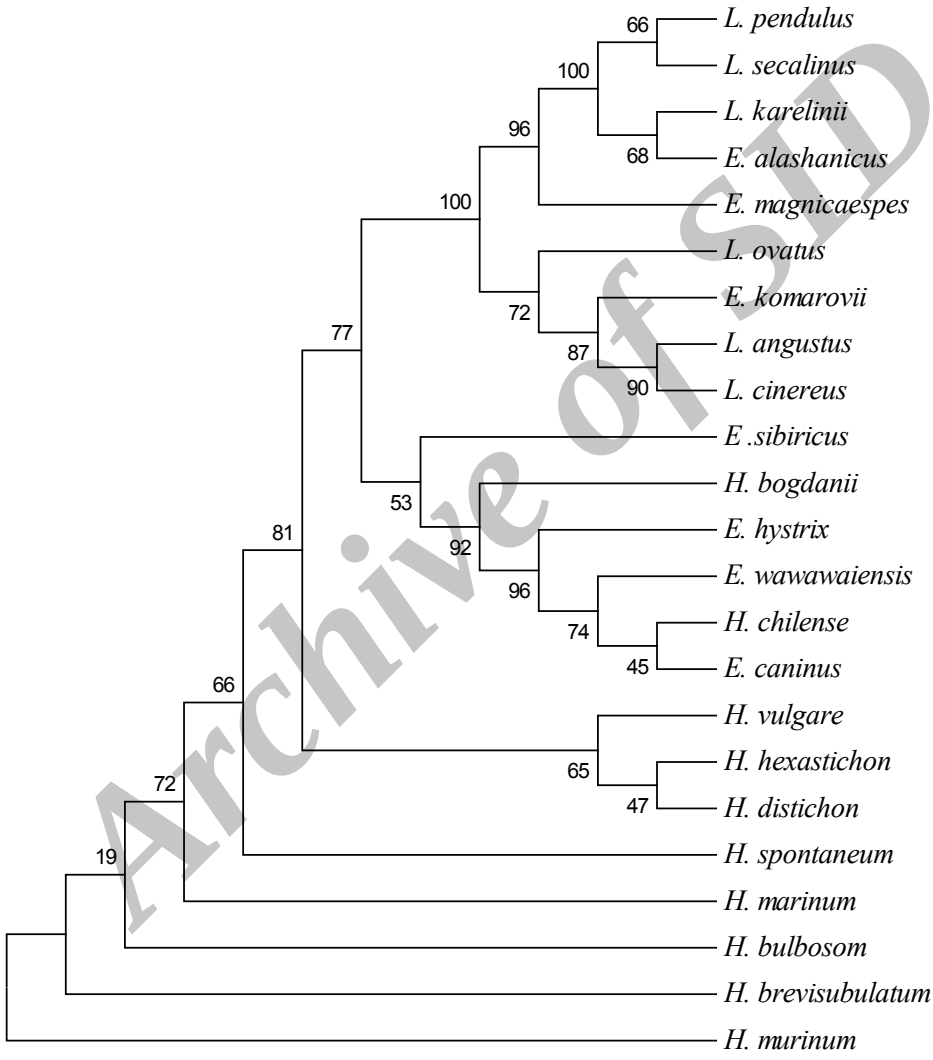
گونه‌های جو Barley species	شماره دسترسی Accession No.	نوع گونه‌ها Description	مشابهت بین دو توالی Query coverag	ارزشE E value	همسانی Max ident (%)
H. vulgare hexastichon L.	AF343509.1	*Hordeum vulgare*	98%	0.0	96
	EU626418.1	*Elymus sibiricus*	98%	0.0	94
H. vulgare distichon L.	AF343509.1	*Hordeum vulgare*	98%	0.0	97
	DQ319185.1	*Hordeum bogdanii*	98%	0.0	96
H. marinum L.	EU626418.1	*Elymus sibiricus*	98%	0.0	91
	EU626416.1	*Elymus caninus*	98%	0.0	91
H. spontaneum K. Koch	AF343509.1	*Hordeum vulgar*	98%	0.0	95
	DQ319185.1	*Hordeum bogdanii*	98%	0.0	94
H. murinum L.	AF343509.1	*Hordeum vulgare*	72%	2e-140	77
	DQ319185.1	*Hordeum bogdanii*	72%	5e-137	77
H. brevisubulatum Trinus Link	AF343509.1	*Hordeum vulgare*	83%	5e-177	76
	DQ319185.1	*Hordeum bogdanii*	89%	9e-168	75
H. bulbosom L.	EU626416.1	*Elymus caninus*	80%	1e-147	82
	DQ335573.1	*Elymus hystrix*	80%	1e-147	82

BLAST، توالی‌های نزدیک به هر یک از گونه‌ها یعنی توالی گونه‌هایی از جنس‌های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus*، تعیین گردیده و نمونه‌هایی که دارای ارزش E پایین یا صفر بودند انتخاب و از آنها برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی استفاده شد. آنالیزهای فیلوژنتیکی تخمینی از چگونگی اشتقاق اعضای یک خانواده در طی تکامل هستند. این روابط به وسیله مطالعه جهش‌های جایگزینی، حذف، ازدیاد و جهش با آرایش مجدد

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین می‌شوند که در معرض انتخاب طبیعی می‌باشد (Golovnina *et al,*. 2007). روابط تکاملی بین توالی‌ها با استفاده از نمودارهایی به نام درخت فیلوژنتیکی نشان داده می‌شوند. هدف از آنالیزهای فیلوژنتیکی کشف ترتیبی از شاخه‌ها به صورت درخت‌هایی است که نشان دهنده بهترین روابط توالی‌ها باشد(Naghavi *et al.,* 2009). برای این کار، توالی‌ها با نرم افزار Mega 4 همردیف شده و در این تحقیق شیوه‌ی رسم درخت فیلوژنتیکی روش اتصال مجاور بود که، یکی از روش‌های رایج ساخت درخت تکاملی است. در این تحقیق جهت بررسی صحت درخت‌ها از آزمون Bootstrap با تکرار پذیری ۱۰۰ استفاده شد. رابطه تکامل گونه‌ها در قالب درخت در شکل یک نشان داده شده است.



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی گونه‌هایی از جنس‌های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus* به روش Neighbor Joining برای ژن *ACC1*

Fig. 2. Phylogenetic trees some species of *Hordeum*، *Leymus* and *Elymus* by Neighbor Joining for *ACC1*

گونه‌های *Hordeum* که در این تحقیق استفاده شدند، جوهای بومی ایران هستند که برای اولین بار در دنیا، توالی ژن *ACC* آن ها جهت تعیین رابطه فیلوژنتیکی بررسی شده است. این نمودار با مقیاس

Archive of SID
www.SID.ir

۰/۰۵ رسم شده و نشان می‌دهد که تفاوت بین دو توالی ۵ درصد می باشد. *Hordeum murinum* L. در شاخه‌ای جدا از بقیه قرار گرفته در نتیجه در آنالیزهای فیلوژنتیکی بعنوان جد مشترک سایر گونه‌ها شناخته می‌شود. بطور کلی درخت فیلوژنتیکی نمونه‌ها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود که اولین گروه شامل تمامی نمونه‌های جنس *Leymus* و *Elymus* و دو گونه‌ی *Hordeum bogdanii* و *Hordeum chilense* می‌باشد. در حالی که گروه دوم شامل گونه‌ها و زیرگونه‌های *Hordeum* ایرانی متشکل از *Hordeum murinum* L.، *Hordeum marinum* Hudson، *Hordeum brevisubulatum* Trinus Link، *Hordeum spontaneum* K. Koch، *Hordeum bulbosom* L.، جو زراعی دو ردیفه *Hordeum vulgare* convar *distichon* L.، جو زراعی شش ردیفه *Hordeum vulgare* convar *hexastichon* L. همراه با *Hordeum vulgare* است. طول شاخه‌ها در گونه‌های *Hordeum murinum* L.، *Hordeum bulbosom* L.، *Hordeum brevisubulatum* Trinus Link بسیار زیاد است که این نشاندهنده تغییرات زیادی است که طی تکامل در این گونه‌ها رخ داده است. طبق بررسی‌های انجام شده بر روی یکی از گونه‌های جنس *Elymus* که شامل سه گروه ژنومی مختلف است، نشان داد که این ژنوم‌ها از جنس‌های *Hordeum* و *Pseudoroegneria* و جنس ناشناخته دیگری به گونه موردنظر در این جنس رسیده است (Mason-Gamer, 2008). طبقه‌بندی آلوپلوییدهایی از جنس (*Hordeum*) که دارای ژنوم I/Xa هستند شبیه به جنس‌هایی از گندمیان است که، از ترکیب ژنوم‌های والدینی مثل *Elymus* و *Leymus* بوجود آمده‌اند (Blattner., 2009). تفکیک نشدن این سه جنس از یکدیگر دور از انتظار نبود، زیرا قرابت نزدیک *Hordeum*، *Elymus* و *Leymus* در تحقیقات قبلی نیز تأیید شده و همچنین امکان هیبریداسیون بین دو جنس *Leymus* و *Hordeum* وجود دارد (Orgaard ,1994). درخت تکاملی فوق از *Leymus pendulus* آغاز و به *Elymus caninus* ختم می‌شود که این گونه آخرین شاخه گروه اول است و قرابت زیادی با *Hordeum*های بومی ایران دارد. گروه دوم برعکس گروه اول تنوع بسیار زیادی را، حتی در بین خودشان نشان می‌دهند که این نشان دهنده تفاوت زیاد جوهای ایران با یکدیگر است. *Hordeum vulgare* نیز در گروه دوم در شاخه‌ای نزدیک به جوهای شش ردیفه و دو ردیفه و همچنین *Hordeum spontaneum* K. Koch قرار گرفت. نزدیک بودن *Hordeum vulgare* به *Hordeum spontaneum* K. Koch در درخت فیلوژنی، تحقیقات مورفولوژیکی قبلی مبنی بر اینکه *Hordeum spontaneum* K. Koch زیر گونه‌ای از *Hordeum vulgare* L. است (Von Bothmer *et al.,* 1991) را تأیید نمود. *Hordeum murinum* L. و *Hordeum bulbosom* L. از نظر مورفولوژی مشابه هستند (Von Bothmer *et al.,* 1991) که قرار گرفتن *Hordeum murinum* L. و *Hordeum bulbosom* L. در شاخه‌های نزدیک به هم، مؤید این مطلب است. نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی در این تحقیق با سایر نتایج بدست آمده از تحقیقات مورفولوژیکی و مولکولی ذکر شده، مطابقت داشته است (Sun *et al.*, 2009; Komatsuda *et al*., 1999; Blattner,. 2004; Mason-Gamer, 2008). احتمال اینکه، ژن‌های تک نسخه و کم نسخه دستخوش تکامل گروهی شوند، کم است، بنابراین آن‌ها ابزار مهمی برای مطالعه‌ی مبدأ و تکامل پلی پلوئیدها می‌باشند (Liu *et al,.* 2006, Golovnina *et al.,* 2007, Che *et al.,* 2007) با توجه به اینکه ژن‌های هسته‌ای همانند *ACC* با تعداد کپی کم، اغلب توالی‌های اینترونی متفاوتی دارند، می‌توانند جهت تشخیص روابط بین گونه‌های خویشاوند و جهت نشان دادن روابط تکاملی درون ژنومی بکار روند

www.SID.ir

(Zhang *et al.,* 2009 ،Small *et al.,* 1998) نتایج این تحقیق وضعیت ژنومی گونه‌ها و روابط تکاملی بین آنها و همچنین روابط منطقی تاکسونومیکی گونه‌های مهم و بومی جو ایران با استفاده از مقایسه توالی‌های DNA برای ژن مورد نظر را به خوبی مشخص نمود.

References **منابع مورد استفاده**

Blattner, F. R. 2004. Phylogenetic analysis of *Hordeum* (*Poaceae*) as inferred by nuclear rDNA ITS sequences. Mol. Phylogenet. Evol. 33: 289-299.

Blattner, F. R. 2009. Progress in phylogenetic analysis and a new infragenetic classification of barley genus Hordeum (*Poaceae: Triticeae*). Breeding Sci. 59: 471–480

Che, J., J. F. Pang., H. Zhao., G. F. Wu., E. M. Zhao and Y. P. Zhang. 2007. Molecular phylogeny of the Chinese ranids inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. Biochem. Syst. Ecol. 35: 29–39.

Golovnina, K. A., S. A. Glushkov., A. G. Blinov., L. R. Adkison and N. P. Goncharov. 2007. Molecular phylogeny of the genus *Triticum.* Plant Syst. Evol. 264: 195-216.

Huang, S. A. Sirikhachornikit, J. D. Faris, X. Su, B. S. Gill, R. Hhaselkorn and P. Gonicki. 2002. Phylogenetic analysis of the acetyl-coA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase loci in wheat and other grasses. Plant. Mol. Bio 48: 805-820.

Jakob, S. S., A. Ihlow and F. R. Blattner. 2006. A chloroplast genealogy of *Hordeum (Poaceae):* long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. Mol. Biol. Evol. 23: 1602-2612.

Komatsuda, T., K. I. Tann, B. Salomon, T. Bryngelsson and R.V.Bothmer. 1999. Phylogeny in the genus *Hordeum* based on nucleotide sequences closely linked to the vrs1 locus (row number of spikelets). Genome, 42: 973-981.

Liu, Q. L., S. Ge, H. B. Tang, X. L. Zhang, G. F. Zhu and B. R. Lu. 2006. Phylogenetic relationships in *Elymus* (*Poaceae*: *Triticeae*) based on then nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast trnL-F sequences. New Phytol. 170: 411–420.

Mason-Gamer, R. J. 2008. Allohexaploidy introgression and the complex phylogenetic history of *Elymus repens* (*Poaceae*). Mol Phylogenet. Evol. 47: 598–611.

Murray, M. G. and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Res. 8(19): 4321-4326.

Naghavi, M. R., M. A. Malboobi and S. Rashidi. 2009. Bioinformatics. University of Tehran Press. (In Persian).

Nishikata, T. B. Salomon, T. Komatsuda, R. V. Bothmer and K. Kadowaki. 2002. Molecular phylolgeny of genus *Hordeum* using three chloroplast DNA sequences. Genom, 45: 1157-1166.

Orgaard, M. and K, Anamthawat-jonsson. 2001. Genome discrimination by insitu hybridizationin Icelandic

www.SID.ir

Archive of SID

species of *Elymus* and *Elytrigia* (*Poaceae:Triticeae*). Genome, 44 :275–283.

Orgaard, M. 1994. Intergeneric hybridization between species of *Leymus*, *Psathrostachys* and *Hordeum* (*Poaceae, Triticeae*). Annal. Bot. 73: 471-479.

Petersen, G. and O. Seberg. 2003. Phylogenetic analysis of the diploid species of *Hordeum* (*Poaceae*) and a revised classification of the genus. Syst. Bot. 28: 293–306.

Safari, M. 2003. Principle of Agricultural Biochemistry. University of Tehran Press. (In Persian).

Small, R. J. A. Ryburn, R. C. Cronn, T. Seelanan and J. F. Wendel. 1998. The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group. Am. J. Bot. 85: 1301–1315.

Sun. G., M. Pourkheirandish and T. Komatsuda. 2009. Molecular evolution and phylogeny of the *RPB2* gene in the genus *Hordeum*. Annal Bot. 103: 975–983.

Von Bothmer, R. C. Banden, R. B. Jorgense and I. B. Linde Laursen. 1991. An ecogegraphical study of the genus *Hordeum.* International Board for Plant Genetic. Resources Institute, Rome, Italy.

Von Bothmer, R., T. L. Van Hintum, H. Knupffer and K. Sato. 2003. Diversity in Barley *(Hordeum vulgare*). Elsevier Science. B. V., Amesterdam. The Netherlands.

Xion, J. 2006. Essential bioinformatics, published in United State of America by Cambridge University Press, Newyork.

Zhang, CH., X. Fan, H. Q. Yu, H. Q. Zhang, X. L. Wang and Y. H. Zhou. 2009. Phylogenetic analysis of questionable tetraploid species in *Roegneria* and *Pseudoroegneria* (*Poaceae: Triticeae*) inferred from a gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase. Biochem. Syst. Ecol. 1–9.

Archive of SID

www.SID.ir

Assessment of phylogenetic relationships of *ACC* gene in *Hordeum, Leymus* and *Elymus* genera

Behzadi Rad, M.[1], M. R. Nagavi[2] and A. R. Taleei[3]

ABSTRACT

Behzadi Rad, M., M. R. Nagavi and A. R. Taleei. 2012. Assessment of phylogenetic relationships of *ACC* gene in *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera**. Iranian Journal of Crop Sciences. 14(1):84-93. (In Persian).**

Plastid single-copy gene acetyl- coAcarboxylase (ACCase) is the first agent in the biosynthesis of fatty acids which is suitable for the studying of phylogenetic relationships, evolutionary and systematic of grasses. Single and low copy genes are less likely subject to concerted evolution, thus making themselves ideal tools for studying the origin and evolution of polyploid taxa. In this study, phylogenetic relationship of seven species and subspecies of (*Hordeum)* of Iran including (*Hordeum murinum* L.), (*Hordeum marinum* Hudson), (*Hordeum brevisubulatum* Trinus Link), (*Hordeum spontaneum* K. Koch), (*Hordeum bulbosom* L.), (*Hordeum vulgare* convar. *distichon* L.), (*Hordeum vulgare* convar. *hexastichon* L.), were investigated using gene-specific primers acetyl- CoAcarboxylase (*ACC1*) and then compared their sequences with the sequences of species of *Leymus* and *Elymus* genera. A great diversity was observed in the wild barley from Iran. Phylogenetic tree grouped all samples in two main groups. The first group consisted of all accessions of *Leymus* and *Elymus* genera as well as two accessions of *Hordeum*. While the second group consisted of all Iranian species/subspecies of *Hordeum* along with *Hordeum vulgare* L. with unknown origin. Since *ACC1* gene is a valuable source for phylogenetic analysis in the *Triticeae* tribe, this research investigated the genomic and evolutionary relationships of the *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera and dtermined reasonable and important Taxonomy relationships among *Hordeum* species from Iran.

Key words: *ACC* gene, Gene sequence, *Hordeum*, Molecular evolution and Phylogenetic.

Received: September, 2010 Accepted: September, 2011

1-M.Sc. Students, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: mbehzadi@ut.ac.ir)

2- Professor, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran

3- Professor, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran

www.SID.ir