

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی علف گندمی بیابانی (*Agropyron desertorum*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و RAPD

رضا تقی‌زاده*^۱، علی اشرف جعفری^۲، علی اکبر ایمانی^۳، علی اصغری^۴ و رجب چوکان^۵

*۱- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آستارا، پست الکترونیک: r.taghizadeh@iau-astara.ac.ir

۲- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

۴- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۵- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۹/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۱۵

چکیده

تنوع ژنتیکی ۱۸ جمعیت ایرانی علف گندمی بیابانی (*Agropyron desertorum*) با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD)، مورد ارزیابی قرار گرفت. این جمعیت‌ها از نظر عملکرد بذر و اجزاء آن، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کشت فاصله‌دار در شرایط کشت آبی طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه‌های آماری نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ همه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) بیشترین عملکرد علوفه خشک (۹/۲۵ تن در هکتار) و بذر (۵۱۴/۸۹ کیلوگرم در هکتار) را داشت. وراثت‌پذیری عمومی عملکرد بذر، طول سنبله و تعداد دانه در سنبله بالا (۰/۶۱ تا $h^2_b=0/52$) بود. وراثت‌پذیری عمومی تعداد ساقه متوسط ($h^2_b=0/27$) بود و سایر صفات وراثت‌پذیری کمی داشتند. همچنین ۱۰ آغازگر اختیاری ۱۰ نوکلئوتیدی از میان ۵۰ آغازگر در مجموع ۵۶ نوار چندشکل با تکرارپذیری بالا تولید کردند. برآورد شاخص تنوع ژنی نی (h) و شاخص شانون (I)، برای تمام مکان‌ها برای همه افراد درون جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های ۳۹۷۴ (کرج) و ۷۴۲ (همدان) به ترتیب بیشترین ($I = 0/449$ و $h = 0/302$) و کمترین ($I = 0/225$ و $h = 0/146$) میانگین سطح تنوع را داشتند. میانگین تنوع درون (H_s) و کل (H_t) جمعیت‌ها، به ترتیب ۰/۳۵۶ و ۰/۲۲۴ و میانگین درجه تمایز ژنی (G_{st}) بین جمعیت‌ها در تمام مکان‌ها ۰/۳۷ برآورد شد. نتایج نشان داد که از مجموع تنوع کل، تنوع بین و درون جمعیت‌ها به ترتیب ۳۷٪ و ۶۳٪ بود. دامنه ضریب تشابه جاکارد بین همه ۱۸ جمعیت بین ۰/۱۹ تا ۰/۴۹ بود. تجزیه کلاستر براساس داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی، مبتنی بر روش ادغام بر حسب متوسط گروه‌ها، جمعیت‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد و جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) در هر دو کلاستر به تنهایی در گروه اول قرار گرفت. آزمون مانتل نشان داد که همبستگی ماتریس تشابه داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD و ماتریس فاصله داده‌های مورفولوژیکی غیر معنی‌دار بود. با توجه به نتایج این تحقیق در شرایط آزمایش کنترل شده، نشانگرهای RAPD می‌توانند وسیله‌ای مناسب و مؤثر در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های *A. desertorum* باشند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تنوع مورفولوژیکی، چندشکلی ژنتیکی، *Agropyron desertorum*، علف گندمی بیابانی، نشانگرهای مولکولی RAPD.

مقدمه

گندمی تاج‌دار (*A. cristatum*) از گسترش کمتری برخوردار است. ولی به علت نفوذ به اعماق بیشتر برای محیط‌های خشک مناسب‌تر است (Eckert et al., 1961). منابع تنوع ژنتیکی گیاهی گنجینه‌های بالقوه‌ای هستند که به‌عنوان پشتوانه‌ای ارزشمند برای متخصصان اصلاح نباتات محسوب می‌گردند، زیرا اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان بر پایه تنوع ژنتیکی وسیع استوار است (محمدی و همکاران، ۱۳۸۵). علاوه بر این، کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی نسبی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آنها، امکان سازماندهی ژرم‌پلاسم و تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه‌ی ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد (Virk et al., 1995). برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از انواع نشانگرها استفاده کرد. به دلیل اینکه نشانگرهای DNA در ردیف‌های کدکننده و غیر کدکننده دارای تفاوت هستند، بنابراین، دارای قدرت تمایز بیشتری نسبت به نشانگرهای مورفولوژیک و پروتئینی هستند (Smith & Smith, 1992).

Williams و همکاران (۱۹۹۰)، روشی را بر مبنای تکثیر تصادفی قطعات DNA با آغازگرهایی که دارای توالی ۱۰ نوکلئوتیدی اختیاری بود، ارائه دادند. آنها این نشانگر DNA را چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD)، نام نهادند. آنها از آغازگرهای تکی در هر واکنش تکثیر استفاده نمودند و نتایج نشان داد که با این روش می‌توان چند شکلی را بین دو دسته از محصولات تکثیری افراد مختلف، منظور نمود.

تکنیک RAPD از آنجایی که نیاز به اطلاعات و دانش اولیه در رابطه با توالی نوکلئوتید قطعات DNA برای تکثیر ندارد و همچنین، به دلیل وجود تنوع و تعدد آغازگرهایی که به شکل تجاری موجود است، به‌عنوان

گونه *Agropyron desertorum* (Fischer ex Link) Shultes متعلق به جنس *Agropyron* یکی از جنس‌های طایفه *Triticeae* از خانواده *Poaceae* است. این جنس شامل ۱۰ تا ۱۳ گونه و تعدادی زیرگونه است (Dewey, 1969). خاستگاه علف‌گندمی بیابانی، نواحی استپی سیبری و روسیه است (مدیرشانه‌چی، ۱۳۶۹). نواحی انتشار آن غرب اروپا، آسیا (سیبری، روسیه، آسیای میانه، قفقاز، چین، مغولستان، هند)، آمریکا (شمال‌غربی آمریکا، جنوب‌مرکزی آمریکا، شمال‌شرقی آمریکا و جنوب‌غربی آمریکا) (Clayton et al., 2002) می‌باشد و در ایران در نواحی جلگه‌ای، شمال غربی و جنوب دیده می‌شود (کریمی، ۱۳۶۹).

علف‌گندمی بیابانی تولید علوفه نسبتاً بالایی دارد و در بهار و همچنین پس از بارندگی‌های پاییزه در فصل پاییز نیز علوفه سبز تولید می‌کند و منبع غذایی مهمی در اوایل فصل چرا می‌باشد (Hull & Johnson, 1955). این گونه در مقابل فشار چرای دام مقاوم است (Laycock & Conrad, 1981) و می‌تواند فشار چرای شدید دام (۶۵ درصد) را بخوبی تحمل کند (Ogle, 2002). علف‌گندمی بیابانی گیاه مناسبی برای تثبیت خاک و جلوگیری از فرسایش است. تحمل به خشکی، سیستم ریشه افشان و قدرت جوانه‌زنی خوب آن را برای احیاء مناطقی با بارندگی سالانه ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌متر مناسب ساخته است (Ogle, 2002) و برای کاشت در زمین‌های بایر و احیای زمین‌های سوخته، معادن، مناطقی که توسط جاده تخریب شده‌اند و مناطق پست به‌طور گسترده استفاده شده است (Anderson & Brooks, 1975; Carlson & Schwendiman, 1986; Schuman et al., 1987; Shiflet, 1994). سیستم ریشه علف‌گندمی بیابانی نسبت به علف

بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. از داده‌های سال اول (سال استقرار) در تجزیه‌های آماری استفاده نشد و در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ از صفات عملکرد بذر، تاریخ ظهور سنبله، تاریخ گرده‌افشانی، ارتفاع بوته، تعداد ساقه در بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن بذر در سنبله، عملکرد علوفه خشک، عملکرد بذر، وزن هزار دانه و شاخص برداشت یادداشت‌برداری بعمل آمد.

در آزمایش مولکولی، برای تهیه نمونه‌های گیاهی بذر ۱۸ جمعیت مورد بررسی به صورت جداگانه در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند و DNA نمونه‌های برگ‌ی تازه از ۵ بوته انتخابی مربوط به هر یک از جمعیت‌ها به روش CTAB، استخراج گردید (Saghai-Marooft, 1984).

برای تعیین کیفیت، DNA ژنومی استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ بارگذاری و نمونه‌های با باند شفاف و با وزن مولکولی بالا به‌عنوان DNA سالم و تجزیه نشده انتخاب شدند. علاوه بر این کمیت و کیفیت DAN با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت و نسبت جذب OD_{۲۶۰}/OD_{۲۸۰} و نیز غلظت DNA برحسب نانوگرم بر میکرولیتر، برای هر نمونه ثبت شد. نمونه‌هایی که دارای نسبت جذبی در حدود ۲-۱/۸ بودند و کیفیت مطلوبی داشتند، انتخاب شدند. پس از تعیین کمیت و کیفیت، نمونه‌های DNA با غلظتی برابر ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند.

برای تکثیر DNA ژنومی از ۵۰ آغازگر تصادفی ساخت شرکت Metabion آلمان استفاده شد. حجم هر واکنش PCR، ۱۵ میکرولیتر بود که اجزاء واکنش و غلظت نهایی آنها در جدول ۲ قید شده است.

یک وسیله ایده‌آل برای گسترش نقشه‌های ژنتیکی لینکاژی مبتنی بر نشانگر مولکولی (Joshi & Nguyen, 1993) و ارزیابی و شناسایی منابع ژنتیکی گیاهی (Anderson & Fairbank, 1990) شناخته شده است.

نظر به اینکه تعیین قرابت و فاصله بین ژنوتیپ‌های گیاهان علوفه‌ای مخصوصاً گراس‌ها که اکثراً دگربارور بوده و تولید واریته‌های هیبرید و سنتتیک در آنها مورد توجه می‌باشد، می‌تواند بسیار مفید باشد. بنابراین، در این بررسی، ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی و تعیین فاصله ژنتیکی بین ۱۸ جمعیت از گونه *A. desertorum* با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی و نشانگر RAPD انجام خواهد شد.

مواد و روشها

در این تحقیق ۱۸ جمعیت *A. desertorum* موجود در بانک ژن منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند که نام و منشأ جمعیت‌ها در جدول ۱ آمده است. آزمایش مزرعه‌ای در مجتمع تحقیقاتی منطقه البرز (مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور) واقع در کرج با طول جغرافیایی ۵۱/۳۱ درجه و عرض جغرافیایی ۳۵/۴۲ درجه با ارتفاع ۱۲۹۱ متر از سطح دریا انجام شد. میانگین بارندگی سالیانه ایستگاه ۲۴۸ میلی‌متر و متوسط دما ۱۶/۲ درجه سانتی‌گراد با حداکثر مطلق ۴۴ و حداقل مطلق ۸- درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

عملیات آماده سازی زمین شامل شخم در پاییز سال ۱۳۸۳ انجام شد. در ابتدا از هر جمعیت ۳۰ عدد بذر انتخاب و در گلدان‌های جداگانه کشت شدند. پس از اینکه بوته‌ها به اندازه کافی رشد نمودند، نشاءها به مزرعه اصلی منتقل شدند و در هر کرت ۱۰ بوته در قالب طرح

جدول ۱- فهرست جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) مورد مطالعه و مبدأ جمع‌آوری آنها

ردیف	کد جمعیت بانک ژن	منشأ	ردیف	کد جمعیت بانک ژن	منشأ
۱	۲۱۳	بانک ژن	۱۰	۳۴۷۷	بانک ژن
۲	۲۸۷	اسدآباد	۱۱	۳۹۵۱	زنجان
۳	۳۴۱	بانک ژن	۱۲	۳۹۶۵	دماوند
۴	۴۰۰	اردبیل	۱۳	۳۹۷۴	کرج
۵	۶۳۱	قروه	۱۴	۴۰۳۶	فریدون
۶	۷۴۲	همدان	۱۵	۴۰۵۱	شهرکرد
۷	۷۴۷	بوئین زهرا	۱۶	۷۷۹۴	بافت
۸	۱۳۶۹	دماوند	۱۷	۷۸۵۲	بافت
۹	۳۰۱۴	بجنورد	۱۸	۸۸۴۸	بانک ژن

چرخه‌های حرارتی واکنش PCR در سه مرحله شامل مرحله اول: واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در ۹۴°C، مرحله دوم: ۴۰ چرخه (هر چرخه شامل واسرشته‌سازی به مدت ۱ دقیقه در ۹۴°C، اتصال

آغازگرها به رشته‌های الگو به مدت ۱ دقیقه در ۳۷°C، بسط رشته DNA توسط پلیمرز به مدت ۲ دقیقه در ۷۲°C) و مرحله سوم: بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲°C، انجام گردید.

جدول ۲- اجزاء واکنش RAPD برای مطالعه DNA ژنومی جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*)

مقدار مورد استفاده (میکرولیتر)	غلظت نهایی	اجزاء واکنش
۱/۵	۱X	بافر PCR (۱۰X) (۱۰۰ mM Tris-HCl و pH ۸/۳، ۵۰ mM KCl)
۰/۶	۲ میلی‌مولار	کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)
۰/۳	۰/۲ میلی‌مولار	مخلوط چهار نوکلئوتید (۱۰ میلی‌مولار)
۰/۳۹۶	۰/۱۳۲ میکرومولار	آغازگر (۵ میکرولیتر)
۰/۲	۱ واحد	آنزیم Taq (۵ واحد در میکرولیتر)
۲	۳/۳۳ نانوگرم در میکرولیتر	DNA (۲۰ نانوگرم در میکرولیتر)
۱۰/۰۰۴		آب مقطر دی یونیزه
۱۵		حجم نهایی واکنش

فراآورده‌های تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ جداسازی و به روش رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید آشکارسازی شدند. برای انجام الکتروفورز، به هر نمونه ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری اضافه شد و از هر نمونه

به مقدار ۲۰ میکرولیتر در ژل بارگذاری شد و عمل الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰، به مدت ۳ ساعت انجام شد. بعد از انجام الکتروفورز، از دستگاه ژل داگ (Uvitec) برای مشاهده و عکسبرداری از نوارها استفاده شد. الگوهای

برای بررسی ارتباط بین داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی از آزمون مانتل (Mantel, 1967) استفاده گردید. برای محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SAS^{9.1}، POPGENE_{1.32} و NTSYS-pc2.02e استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌های مورفولوژیکی نشان داد که از لحاظ همه صفات بین جمعیت‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار وجود داشت. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی (جدول ۳) نشان داد که جمعیت‌های ۴۰۰ (اردبیل)، ۱۳۶۹ (دماوند) و ۳۰۱۴ (بجنورد) بیشترین میزان تولید علوفه را (به ترتیب ۹/۲۵، ۸/۱۹ و ۷/۸۵ تن در هکتار) در بین جمعیت‌ها داشتند. جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) از لحاظ عملکرد بذر (۵۱۴/۸۹ کیلوگرم در هکتار)، تعداد دانه در سنبله (۸۸/۶۷) و شاخص برداشت (۶/۲۶) نیز، برترین جمعیت و نسبتاً زودرس (با میانگین ۳۷/۸۱ روز تا سنبله‌دهی) بود. وراثت‌پذیری عمومی (h^2_b) برای صفات طول سنبله، عملکرد بذر و تعداد دانه در سنبله زیاد (به ترتیب ۰/۶۱، ۰/۵۲ و ۰/۵۲) بود (جدول ۳). همچنین وراثت‌پذیری تعداد ساقه متوسط ($h^2_b=0.27$) بود. سایر صفات مورد بررسی وراثت‌پذیری عمومی پایینی داشتند (جدول ۳).

نواری حاصل به صورت صفر و یک (به ترتیب عدم وجود یا وجود) مورد امتیازدهی قرار گرفتند. برای مشخص شدن اندازه قطعات تکثیر شده از نشانگر وزن مولکولی (Marker, 3-SM0191) با اندازه قطعات ۲۱۲۲۶-۵۶۴ جفت باز استفاده شد.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی براساس نتایج تجزیه واریانس به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید؛ و تخمین وراثت‌پذیری عمومی (h^2_b) بر مبنای برآورد اجزاء واریانس ژنوتیپ‌ها براساس تجزیه مرکب با استفاده از رابطه زیر صورت گرفت.

$$h_b^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GR}^2}{y} + \frac{\sigma_{GY}^2}{r} + \frac{\sigma_e^2}{ry}}$$

در فرمول‌های بالا σ_e^2 ، σ_G^2 ، y ، r ، σ_{GR}^2 و σ_{GY}^2 به ترتیب تعداد تکرار، سال و اجزاء واریانس ژنتیکی و جزء واریانس اشتباه می‌باشد. σ_{GR}^2 و σ_{GY}^2 به ترتیب جزء واریانس ژنوتیپ در بلوک و ژنوتیپ در سال می‌باشد. تعداد کل نوارهای چندشکل، تعداد نوارها در هر توده، تنوع ژنتیکی کل و درون توده‌ها، درجه تمایز ژنی بین آنها، میزان تنوع ژنی درون توده‌ها برای هر نشانگر با استفاده از شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1973) و شاخص شانون (Lewontin, 1972) برآورد شد. فاصله ژنتیکی بین توده‌ها براساس فاصله اقلیدسی برای صفات مورفولوژیکی و براساس ضریب جاکارد (Jaccard, 1908) برای داده‌های مولکولی محاسبه و دندروگرام به روش UPGMA برای گروه‌بندی جمعیت‌ها رسم شد. به منظور تعیین کارایی و تعیین روش تجزیه خوشه‌ای، برای داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی از ضریب همبستگی کوفتیک استفاده شد. علاوه بر این،

جدول ۳- میانگین صفات مورد بررسی در ۱۸ جمعیت علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

کد جمعیت	روز تا ظهور سنبله	روز تا گرده‌افشانی	ارتفاع بوته (cm)	طول سنبله (cm)	عملکرد علوفه (t/ha)	عملکرد بذر (kg/ha)	تعداد ساقه	وزن دانه در سنبله (g)	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه (g)	شاخص برداشت
۲۱۳	۳۹/۱۳±۴/۵۴ bcd	۶۱/۰۹±۳/۵۱ cde	۷۶/۳۵±۲/۳۵ a	۴/۸۷±۰/۹۹ ghi	۷/۵۹±۲/۳۶ bcd	۲۷۴/۹۵±۸۶/۴۴ def	۸۷/۷۸±۲۵/۷۰ b	۴/۱۵±۴/۵۵ ef	۳۱/۲۶±۶/۹۹ j	۲/۵۵±۰/۲۰ def	۳/۸۶±۰/۳۰ g
۲۸۷	۴۰/۰۸±۳/۶۶ bc	۶۳/۷±۰/۸۷ ab	۶۵/۵±۵/۰۱ defg	۵/۹۷±۰/۱۹ c	۶/۷۷±۳/۰۳ de	۳۳۷/۶۹±۱۷۴/۷۷ bc	۱۰۲/۶۲±۵۱/۲۶ a	۴/۲۵±۴/۷۱ ef	۳۶/۴۶±۷/۵۳ ij	۲/۳۲±۰/۲۸ g	۵/۴۵±۰/۳۱ abc
۳۴۱	۳۶/۸±۳/۵۹ efg	۵۹/۰۸±۱/۰۳ fgh	۶۸/۳۹±۴/۶۲ bcd	۴/۶۵±۰/۲۵ hi	۶/۸۸±۲/۵۱ cde	۲۵۷/۴۷±۹۳/۹۰ ef	۵۳/۲۱±۴/۹۷ efgh	۴/۳۲±۴/۷۴ def	۴۹/۵۰±۱۸/۸۵ fgh	۲/۵۸±۰/۰۹ def	۴/۰۶±۰/۴۶ g
۴۰۰	۳۷/۸۱±۴/۳۶ def	۶۲/۸۳±۰/۶۲ ab	۶۳/۹۷±۶/۹۳ efg	۵/۵۳±۰/۹۱ de	۹/۲۵±۱/۹۱ a	۵۱۴/۸۹±۱۱۰/۶۸ a	۷۳/۱۶±۳۵/۶۸ c	۶/۱۲±۶/۳۶ bcd	۸۸/۶۷±۵۰/۴۰ a	۲/۶۳±۰/۱۱ cdef	۶/۲۶±۰/۳۱ a
۶۳۱	۴۳/۱۲±۳/۴۴ a	۶۴/۲۶±۲/۹۲ a	۵۶/۰۷±۷/۲۵ h	۴/۵۶±۰/۲۰ i	۴/۵۵±۱/۹۲ f	۲۵۹/۵۵±۱۳۴/۴۷ ef	۴۵/۹۵±۲۳/۰۵ fghi	۴/۳۴±۴/۷۴ def	۵۵/۱۲±۲۸/۲۰ efg	۲/۶۰±۰/۲۷ cdef	۵/۱۲±۰/۸۳ bdef
۷۴۲	۳۵/۴۸±۴/۰۴ g	۶۰/۹۱±۲/۰۱ cde	۷۰/۲۱±۸/۳۱ bc	۴/۹۱±۰/۱۷ gh	۷/۳۳±۲/۵۳ bcde	۳۳۰/۶۱±۵۶/۲۸ bcd	۶۶/۹۳±۲۵/۹۴ cd	۵/۲۵±۵/۶۲ cdef	۵۳/۲۱±۱۹/۸۹ efg	۲/۸۱±۰/۱۶ ab	۵/۱۹±۰/۴۶ bcde
۷۴۷	۴۰/۲۴±۴/۳۱ b	۶۲/۳۳±۳/۱۵ cb	۶۸/۳۱±۱۱/۸۸ bcd	۵/۷۷±۰/۳۱ cd	۷/۲۸±۳/۵۵ bcde	۳۳۹/۷۱±۱۴۰/۶۷ bc	۵۵/۶۱±۱۵/۰۱۵ def	۵/۶۵±۶/۳۱ bcde	۶۵/۵۴±۲۵/۵۳ bcde	۲/۵۵±۰/۳۱ def	۵/۲۹±۰/۸۱ bcd
۱۳۶۹	۳۸/۷۸±۵/۳۷ bcde	۶۳/۱۷±۱/۶۷ ab	۶۶/۰۷±۲/۲۳ def	۴/۶۴±۰/۳۳ hi	۸/۱۹±۲/۱۰ b	۳۱۵/۱۷±۱۳۵/۶۰ bcde	۴۳/۷۳±۱۰/۸۲ fghij	۶/۸۸±۷/۳۷ abc	۶۵/۵۴±۲۲/۱۲ bcde	۲/۸۲±۰/۱۱ ab	۳/۸۷±۰/۲۹ g
۳۰۱۴	۳۹/۴۳±۴/۶۰ bcd	۶۳/۰۹±۱/۰۰ ab	۶۶/۷۱±۹/۹۵ cde	۵/۰۸±۰/۸۱ fg	۷/۸۵±۰/۹۸ bc	۳۱۳/۹۸±۱۰۳/۸۱ bcde	۵۰/۴۴±۱۰/۲۹ efg	۵/۴۶±۵/۸۱ bcde	۶۱/۰۳±۲۲/۶۳ def	۲/۸۹±۰/۲۷ a	۴/۴۱±۰/۸۰ defg
۳۴۷۷	۳۶/۶۷±۲/۹۸ fg	۵۸/۶۸±۲/۷۸ gh	۶۵/۸۵±۱۳/۳۲ defg	۵/۴۹±۰/۶۹ de	۵/۱۲±۱/۱۷ f	۲۲۳/۱۹±۳۶/۶۹ fg	۳۱/۱۵±۸/۸۲ j	۶/۴۱±۷/۰۸ abc	۷۰/۳۹±۲۵/۴۹ bcd	۲/۷۵±۰/۲۵ abc	۴/۴۵±۰/۵۶ defg
۳۹۵۱	۳۹/۰۴±۸/۶۶ bcd	۵۷/۵±۴/۰۸ h	۶۳/۵۵±۳/۵۱ efg	۵/۱۵±۰/۲۵ fg	۵/۴۰±۱/۷۶ f	۲۸۰/۹۴±۷۷/۴۵ cdef	۳۳/۶۰±۵۰/۱۶ ij	۷/۹۳±۸/۵۲ a	۷۷/۵۴±۱۴/۴۷ b	۲/۷۰±۰/۴۱ bcde	۵/۴۵±۰/۴۱ abc
۳۹۶۵	۴۰/۱۳±۴/۵۲ bc	۶۰/۵۱±۴/۸۵ def	۶۸/۱۹±۱۳/۰۷ bcd	۶/۷۱±۰/۷۰ b	۶/۷۲±۱/۹۲ de	۲۶۰/۳۲±۱۱۵/۰۲ ef	۴۱/۸۴±۱۳/۵۵ ghij	۵/۹۵±۶/۳۱ bcde	۵۸/۳۹±۱۵/۹۰ defg	۲/۸۱±۰/۱۸ ab	۴/۰۹±۰/۶۲ g
۳۹۷۴	۳۹/۱۸±۳/۹۲ bcd	۵۹/۵۵±۲/۸۶ efg	۶۸/۸۵±۱۰/۵۰ bcd	۵/۱۷±۰/۸۷ fg	۶/۵۵±۰/۷۷ e	۲۸۰/۰۶±۹۹/۴۳ cdef	۴۲/۰۱±۷/۳۸ ghij	۵/۶۵±۵/۹۷ bcde	۶۲/۰۹±۲۳/۵۷ cde	۲/۸۱±۰/۲۲ ab	۴/۵۰±۰/۴۸ cdefg
۴۰۳۶	۳۸/۰۲±۳/۴۵ cdef	۵۹/۳۶±۲/۹۳ efg	۷۱/۲۴±۱۳/۱۸ b	۵/۰۳±۰/۲۷ fg	۶/۷۵±۱/۲۹ de	۳۶۴/۶۳±۹۱/۹۸ b	۴۵/۴۹±۴/۲۴ fghi	۸/۰۷±۸/۶۳ a	۷۳/۷۵±۲۱/۶۲ bc	۲/۸۱±۰/۱۵ ab	۵/۷۸±۰/۳۸ ab
۴۰۵۱	۳۹/۲۸±۴/۳۱ bcd	۶۲/۹±۰/۷۴ ab	۶۲/۰۹±۷/۶۶ g	۵/۵۵±۰/۶۰ de	۴/۹۹±۱/۰۶ f	۱۸۷/۸۴±۶۲/۱۹ g	۵۴/۹۸±۱۰/۳۹ defg	۳/۶۵±۳/۹۸ f	۴۳/۱۵±۱۴/۴۰ hi	۲/۴۹±۰/۰۹ f	۴/۰۵±۰/۴۵ g
۷۷۹۴	۳۹/۲۴±۰/۷۴ bcd	۶۱/۹۳±۱/۴۱ cbd	۶۲/۶۷±۷/۷۵ fg	۴/۹۶±۰/۴۸ fgh	۶/۷۴±۰/۸۰ de	۲۸۴/۶۷±۴۹/۶۱ cdef	۶۳/۴۳±۸/۷۹ cde	۵/۱۷±۵/۵۵ cdef	۴۷/۶۵±۱۰/۱۲ ghi	۲/۴۹±۰/۱۵ f	۴/۲۹±۰/۴۴ efg
۷۸۵۲	۳۹/۰۲±۲/۴۸ bcd	۶۲/۹۳±۱/۴۲ ab	۶۸/۷۲±۴/۰۳ bcd	۵/۲۶±۰/۳۰ ef	۷/۲۳±۲۰ bcde	۲۷۹/۷۸±۱۱۸/۵۰ cdef	۴۰/۱۳±۱۳/۱۸ hij	۷/۲۵±۷/۷۴ ab	۶۹/۸۰±۱۹/۲۸ bcd	۲/۵۳±۰/۰۷ ef	۳/۹۱±۰/۶۳ g
۸۸۴۸	۴۲/۰۵±۲/۳۱ cde	۶۱/۰۵±۲/۳۱ cde	۶۲/۱۴±۶/۴۳ g	۷/۰۷±۰/۴۲ a	۶/۴۶±۱/۵۱ e	۲۷۱/۰۵±۱۱۱/۸۴ def	۵۳/۶۱±۱۵/۳۷ efg	۶/۱۹±۶/۶۹ bc	۴۷/۳۱±۴/۷۰ ghi	۲/۷۱±۰/۰۳ bcd	۴/۱۹±۰/۴۱ fg
میانگین کل	۳۹/۱۱±۴/۳۲	۶۱/۳۸±۳	۶۶/۳۸±۸/۸۸	۵/۳۵±۰/۸۴	۶/۷۶±۲/۱۶	۲۹۸/۶۹±۱۱۹/۵۴	۵۴/۷۶±۲۵/۷۲	۵/۷۵±۵/۹۰	۵۸/۶۹±۲۴/۷۸	۲/۶۶±۰/۲۵	۴/۶۸±۰/۱۳
h^2_b	۰/۰۰	۰/۰۴	۰/۰۰	۰/۶۱	۰/۰۸	۰/۵۲	۰/۲۷	۰/۰۸	۰/۵۲	۰/۱۹	۰/۰۰

حروف غیر مشابه به مفهوم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

جدول ۴- کد و توالی آغازگرها، تعداد کل باندهای چندشکل و درصد چندشکلی

شماره آغازگر	کد آغازگر	آغازگر ۵' → ۳'	تعداد کل نوارها	تعداد نوارهای چندشکل	درصد چندشکلی
۱	Oligo-۱	CCT GGG CTT C	۱۳	۱۲	۹۲/۳۱
۲	Oligo-۲	CCT GGG CTT G	۶	۶	۱۰۰
۳	Oligo-۳	CCT GGG CTT A	۱۱	۱۰	۹۰/۹۱
۴	Oligo-۵	CCT GGG TTC C	۳	۳	۱۰۰
۵	Oligo-۹	CCT GCG CTT A	۹	۸	۸۸/۸۹
۶	Oligo-۱۳	CCT GGG TGG A	۲	۲	۱۰۰
۷	Oligo-۱۴	CCT GGG TTT C	۳	۲	۶۶/۶۷
۸	Oligo-۱۶	GGT GGC GGG A	۲	۲	۱۰۰
۹	Oligo-۱۸	GGG CCG TTT A	۱۰	۸	۸۰
۱۰	Oligo-۲۳	CCC GCC TTC C	۳	۳	۱۰۰

۳۷٪ تنوع کل را شامل شد و ۶۳٪ مربوط به تنوع، درون جمعیت‌ها بود.

فاصله ۱۸ جمعیت *A. desertorum* براساس فاصله ژنتیکی جاکارد (Jaccard, 1908) براساس داده‌های مولکولی، نشان داد که بیشتر جمعیت‌ها با همدیگر تشابه کمی نشان می‌دهند (جدول ۶). دامنه ضرایب تشابه از ۰/۱۹ تا ۰/۴۹ متغیر بود. بیشترین تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های ۲۱۳ (بانک زن) با ۱۳۶۹ (دماوند) و کمترین تشابه ژنتیکی بین ۶۳۱ (قروه) با ۸۸۴۸ (بانک زن) و ۷۴۷ (بوئین زهرا) با ۴۰۰ (اردبیل) مشاهده شد. میانگین تشابه بین جمعیت‌ها نیز ۰/۳۰ بدست آمد.

براساس شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1973) و شاخص شانون (Lewontin, 1972) تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های گونه‌ی *A. desertorum* با استفاده از داده‌های مولکولی برآورد گردید (جدول ۵). بیشترین میانگین سطح تنوع در جمعیت ۳۹۷۴ (کرج)، ($h=0/302$ و $I=0/449$) مشاهده شد و در جمعیت‌های ۷۴۲ (همدان) حداقل ($h=0/146$ و $I=0/225$) بود. سطح تنوع بقیه جمعیت‌ها در جدول ۳ آمده است. میانگین تنوع درون (H_s) و کل (H_t) جمعیت‌ها، به ترتیب ۰/۲۲۴ و ۰/۳۵۶ و میانگین درجه تمایز ژنی (G_{ST}) بین جمعیت‌ها در تمام مکان‌ها ۰/۳۷ برآورد شد. نتایج نشان داد که تنوع بین ارقام، فقط

جدول ۵- میانگین تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) با استفاده از شاخص تنوع نی و شاخص شانون براساس نتایج حاصل از ۱۰ آغازگر RAPD

ردیف	جمعیت	کل نوارهای چندشکل در هر جمعیت	میانگین نوارهای چندشکل در هر جمعیت	h*	I*	درصد چندشکلی
۱	۷۷۹۴	۴۰	۴	۰/۲۶۵۷	۰/۹۳۱۹	۶۸/۹۷
۲	۴۰۵۱	۳۹	۳/۹	۰/۲۶۱۲	۰/۳۸۳۳	۶۷/۲۴
۳	۳۹۷۴	۴۸	۴/۸	۰/۳۰۱۵	۰/۴۴۹۳	۸۲/۷۶
۴	۲۸۷	۴۰	۴	۰/۲۶۳۴	۰/۳۸۸۱	۶۸/۹۷
۵	۳۹۵۱	۴۱	۴/۱	۰/۲۴۱۹	۰/۳۶۶۲	۷۰/۶۹
۶	۳۰۱۴	۳۴	۳/۴	۰/۲۱۰۸	۰/۳۱۴۴	۵۸/۶۲
۷	۷۴۲	۲۷	۲/۷	۰/۱۴۶۱	۰/۲۲۵۲	۴۶/۵۵
۸	۸۸۴۸	۴۲	۴/۲	۰/۲۳۸۴	۰/۳۶۴۴	۷۲/۴۱
۹	۳۴۱	۴۰	۴	۰/۲۴۴۱	۰/۳۶۶۳	۶۸/۹۷
۱۰	۶۳۱	۳۲	۳/۲	۰/۱۸۲	۰/۲۷۷۷	۵۵/۱۷
۱۱	۳۴۷۷	۳۶	۳/۶	۰/۲۰۸	۰/۳۱۵۸	۶۲/۰۷
۱۲	۲۱۳	۲۵	۲/۵	۰/۱۶۷۵	۰/۲۴۵۳	۴۳/۱
۱۳	۱۳۶۹	۲۷	۲/۷	۰/۱۸۰۵	۰/۲۶۴۸	۴۶/۵۵
۱۴	۳۹۶۵	۳۴	۳/۴	۰/۱۹۷	۰/۲۹۹۴	۵۸/۶۲
۱۵	۴۰۳۶	۳۸	۳/۸	۰/۲۴۸۶	۰/۳۶۶۴	۶۵/۵۲
۱۶	۷۴۷	۳۷	۳/۷	۰/۲۲۸۳	۰/۳۴۱۶	۶۳/۷۹
۱۷	۴۰۰	۳۷	۳/۷	۰/۲۰۹۵	۰/۳۲۱۲	۶۳/۷۹
۱۸	۷۸۵۲	۳۷	۳/۷	۰/۲۳۷۶	۰/۳۵۲۸	۶۳/۷۹

*-h = شاخص تنوع نی و I = شاخص شانون

برای انتخاب روش طبقه‌بندی، ضریب کوفتیک با استفاده از نرم افزار NTSYSpc 2.02i محاسبه شد. که بیشترین ضریب کوفتیک هم برای داده‌های مولکولی ($r = ۰/۸۱$) و هم مورفولوژیکی ($r = ۰/۸۳$)، مربوط به دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌ها به روش UPGMA

دامنه فاصله اقلیدسی براساس داده‌های مورفولوژیکی از ۱/۶۸ تا ۷/۴۳ متغیر بود (جدول ۶). بیشترین فاصله بین جمعیت‌های ۴۰۰ (اردبیل) با ۶۳۱ (قروه) و کمترین فاصله بین ۱۳۶۹ (دماوند) با ۳۰۱۴ (بجنورد) مشاهده شد. میانگین فاصله اقلیدسی بین جمعیت‌ها نیز ۴/۵۶ بود.

پس از مقایسه این دو کلاستر، آزمون Mantel (۱۹۶۷) به کمک نرم افزار NTSYS برای بررسی ارتباط دو ماتریس تشابه جاکارد برای داده‌های مولکولی و فاصله اقلیدسی برای داده‌های مورفولوژیکی انجام شد که همبستگی آنها منفی (همبستگی منفی، هنگامی بدست می‌آید که یکی از ماتریس‌ها ماتریس تشابه و دیگری ماتریس فاصله باشد)، بسیار ضعیف ($p=0/44$ و $r=0/024$) و غیر معنی‌دار بود.

براساس ماتریس شباهت جاکارد (Jaccard, 1908) و فاصله اقلیدسی بود. ۱۸ جمعیت مورد بررسی براساس داده‌های مورفولوژیکی (شکل ۱) در سه گروه مجزا، جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) در گروه اول، ۳۴۷۷ (بانک زن)، ۳۹۵۱ (زنجان)، ۶۳۱ (قروه) و ۴۰۵۱ (شهرکرد) در گروه دوم و بقیه در گروه سوم قرار گرفتند؛ و براساس داده‌های مولکولی نیز جمعیت‌های مورد مطالعه در سه گروه مجزا، جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) در گروه اول، ۸۸۴۸ (بانک زن) و ۷۴۲ (همدان) در گروه دوم و بقیه در گروه سوم قرار گرفتند.

جدول ۶- ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد براساس داده‌های مولکولی (قطر پایین) و فاصله اقلیدسی براساس داده‌های مورفولوژیکی (قطر بالا) بین ۱۸ جمعیت علف گندمی بیابانی

(A. desertorum)

جمعیت	۷۷۹۴	۴۰۵۱	۳۹۷۴	۲۸۷	۳۹۵۱	۳۰۱۴	۷۴۲	۸۸۴۸	۳۱	۳۱	۳۴۷۷	۲۱۳	۱۳۱۹	۳۹۵۱	۴۰۳۱	۷۴۷	۷۸۵۲	۴۰۰
۷۷۹۴																		
۴۰۵۱	۰/۳۸																	
۳۹۷۴	۰/۳۱	۰/۳۲																
۲۸۷	۰/۳۳	۰/۲۸	۰/۳۴															
۳۹۵۱	۰/۳۱	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۴۳														
۳۰۱۴	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۱	۰/۳۹													
۷۴۲	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۲۷	۰/۳۱	۰/۲۸												
۸۸۴۸	۰/۲۷	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۳	۰/۲۷	۰/۲۶	۰/۲۷											
۳۱	۰/۳۵	۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۳۴	۰/۳۱	۰/۲۱	۰/۲۱										
۳۱	۰/۳۲	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۳	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۲۹									
۳۴۷۷	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۳۴								
۲۱۳	۰/۴۵	۰/۳۹	۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۴۲	۰/۳۰	۰/۴۲	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۲۹	۰/۴۲							
۱۳۱۹	۰/۴۶	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۳۹	۰/۳۰	۰/۴۹	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۴۹						
۳۹۵۱	۰/۳۷	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۳۹	۰/۳۰	۰/۳۸	۰/۲۲	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۳۴	۰/۳۸	۰/۳۴					
۴۰۳۱	۰/۲۷	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۳	۰/۲۷	۰/۲۶	۰/۳۴	۰/۲۲	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۳۰	۰/۳۴	۰/۳۱	۰/۳۳				
۷۴۷	۰/۳۳	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۲۵	۰/۳۵	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۲۵	۰/۳۳	
۷۸۵۲	۰/۳۸	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۳۳	۰/۳۱	۰/۳۰	۰/۳۹	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۷	۰/۳۹	۰/۳۱	۰/۳۳	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۳۸	
۴۰۰	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۲۳	۰/۲۴	۰/۲۱

بحث

در این پژوهش جمعیت‌هایی از *A. desertorum* با استفاده از صفات زراعی و داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD از نظر تنوع مورد بررسی قرار گرفتند. در اصلاح علوفه‌های مرتعی تولید ارقام زودرس برای چرای بهاره و ارقام دیررس برای مناطق سردسیری از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (جعفری و همکاران، ۱۳۷۹). بنابراین، جمعیت ۴۰۰ (اردبیل)، که بالاترین عملکرد بذر و علوفه خشک را در میان جمعیت‌های مورد بررسی داشت (جدول ۳) و در زمره جمعیت‌های زودرس بود، برای مناطقی با چرای زودرس قابل توصیه می‌باشد.

همانند نتایج این بررسی Schaaf (۱۹۷۶)، برای صفت عملکرد بذر در *Agropyron desertorum* وراثت‌پذیری خصوصی را ۸۳ و وراثت‌پذیری عمومی را بین ۷۶ تا ۸۶ درصد و Schaaf و همکاران (۱۹۶۲)، وراثت‌پذیری خصوصی را برای این صفت ۹۶ تا ۹۸ درصد گزارش نمودند. بالا بودن وراثت‌پذیری عمومی برای صفات طول سنبله، عملکرد بذر و تعداد دانه در سنبله بیانگر اهمیت ژن‌های افزایشی به‌عنوان مهمترین جزء کنترل‌کننده این صفات است و می‌توان پاسخ به گزینش مطلوبی را برای این صفات پیش‌بینی نمود. بنابراین اصلاح صفات مذکور از طریق روش‌های گزینش امکان‌پذیر است. وراثت‌پذیری متوسط ($h^2_b = 0.27$) تعداد ساقه نیز نشان‌دهنده این نکته است که هر دو نوع ژن‌های غیر افزایشی و افزایشی در کنترل این صفت سهم دارند. سایر صفات مورد بررسی از جمله عملکرد علوفه وراثت‌پذیری پایینی داشتند. عملکرد علوفه صفتی پلی‌ژن (کمی) است و

وراثت‌پذیری آن در بیشتر نباتات علوفه‌ای کم است (جعفری و همکاران، ۱۳۸۱). Simonsen (۱۹۷۷)، در مطالعه *Festuca pratensis* میزان وراثت‌پذیری خصوصی را برای عملکرد علوفه کم تا متوسط (۱۴ تا ۳۸) گزارش نموده است. Casler (۱۹۸۲)، نیز در *Phalaris arundinacea* وراثت‌پذیری خصوصی برای این صفت را کم گزارش نموده است. برآورد وراثت‌پذیری عمومی کم، برای عملکرد علوفه، روز تا ظهور سنبله، روز تا گرده‌افشانی، ارتفاع بوته، وزن دانه در سنبله، وزن هزار دانه و شاخص برداشت، نشان‌دهنده بیشتر بودن اهمیت ژن‌های غیر افزایشی در کنترل آنهاست. بنابراین اصلاح این صفات از هر دو طریق گزینش توده‌ای و دورگ‌گیری همراه با آزمایش نسل امکان‌پذیر است.

در ارزیابی مولکولی، آغازگرهای ۲-Oligo، ۵-Oligo، ۱۳-Oligo، ۱۴-Oligo، ۱۶-Oligo و ۲۳-Oligo صد درصد چندشکلی نشان دادند (جدول ۴) که بیانگر تنوع بالای جمعیت‌های *A. desertorum* مورد مطالعه و قدرت زیاد این آغازگرها در تفکیک جمعیت‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان اظهار داشت که از نظر مولکولی و هم مورفولوژیکی تنوع کافی به منظور گزینش بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود داشت. همچنین براساس داده‌های مولکولی می‌توان نتیجه گرفت که برخی از جمعیت‌های مورد بررسی (مانند ۳۹۷۴ از کرج) می‌توانند منبع بالقوه‌ای از ژن‌های مفید به منظور استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده باشند.

تنوع درون جمعیت‌های مورد بررسی بیشتر از بین جمعیت‌ها (۶۳٪ در مقابل ۳۷٪) بود. گیاهان دگربارور

گرفته بودند و از لحاظ تولید بذر در رتبه دوم قرار داشتند، هم در داده‌های مولکولی و هم مورفولوژیکی در یک کلاستر قرار گرفتند. از این نتایج می‌توان برای بهره‌گیری در برنامه‌های به‌نژادی آینده به‌عنوان والدین تلاقی (به‌عنوان مثال، ۴۰۰ با ۱۳۶۹ یا ۳۰۱۴) به منظور بهره‌گیری از هتروزیس سود جست.

ارتباط داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD و داده‌های مورفولوژیکی براساس آزمون Mantel (۱۹۶۷) ناچیز و غیر معنی‌دار بود. این مسئله را Roldan-Ruiz و همکاران (۲۰۰۱) بر روی ارقام Ryegrass دائمی، Wang و همکاران (۲۰۰۶) در گونه‌های *Stipa krylovii* Roshev، Riday و همکاران (۲۰۰۳) در *Medicago sativa* و Johnson و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه ۲۲۸ اکسشن از کلکسیون *Poa pratensis* نیز اثبات کردند. همچنین Casiva و همکاران (۲۰۰۲) مطالعه‌ای روی گیاه باقلا با استفاده از روش‌های مورفولوژیکی، آیزوزایم و RAPD انجام دادند و آنها نیز همبستگی بالایی بین روش مورفولوژی و مولکولی پیدا نکردند. همچنین Szczepaniak و همکاران (۲۰۰۲) نیز در مقایسه نشانگر RFLP و روش مورفولوژیکی، این عدم تطابق را مشاهده کردند. همچنین آنها در نتایج خود تنوع حاصل از روش مورفولوژیکی را بطور قابل توجهی بیشتر از تنوع ژنتیکی دیدند. در مطالعه پورمحمد کیانی و همکاران (۱۳۸۱) تجزیه کلاستر و گروه‌بندی افراد براساس الگوی بانندی RAPD همسویی زیادی با صفات مورفولوژیک و زراعی افراد نداشته است. یعنی افراد دارای الگوی بانندی یکسان که در یک گروه قرار گرفته‌اند ممکن است از نظر صفات مورفولوژیکی و

گیاهانی با دگرباروری زیاد دارای جمعیتی ناهمگن هستند و افراد داخل جمعیت برای بیشتر مکان‌های ژنی هتروزیگوت می‌باشند (فارسی و باقری، ۱۳۸۵). بنابراین وجود تنوع ژنتیکی بالا درون جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها در گونه‌های با دگرباروری بالا مورد انتظار است، در این گونه‌ها سطح پایینی از تمایز جمعیتی دیده می‌شود (Hamrick, 1990). گزارش‌های متعدد (Huff, 1997; Garcia et al., 2002; Rajasekar et al., 2003; Casler et al., 2005; et al., 2005) و ایمانی، (۱۳۸۷)، در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی در گراس‌های علوفه‌ای دگربارور با استفاده از نشانگر RAPD، نیز حاکی از آن است که تنوع درون جمعیت‌های مورد مطالعه بیشتر از تنوع بین جمعیت‌هاست.

میانگین تشابه بین جمعیت‌ها براساس داده‌های مولکولی (۰/۳۰) و فاصله بین جمعیت‌ها براساس داده‌های مورفولوژیکی (۴/۵۶) نیز بیانگر تفاوت نسبی خوب در سطح مولکولی و مورفولوژیکی جمعیت‌ها می‌باشد.

در این آزمایش پس از تجزیه کلاستر و رسم دندروگرام، داده‌های حاصل از روش مولکولی و مورفولوژیکی بررسی شدند (شکل ۱). در هر دو دندروگرام جمعیت ۴۰۰ (اردبیل) در کلاستری جداگانه نسبت به بقیه جمعیت‌ها قرار گرفت. که نشان می‌دهد این توده از نظر ژنتیکی و مورفولوژیکی نسبت به بقیه تفاوت زیادی دارد و مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی (جدول ۳) هم نشان داد که این جمعیت از لحاظ بیشتر صفات مطلوب نسبت به بقیه برتری دارد. جمعیت‌های ۱۳۶۹ و ۳۰۱۴ نیز که از لحاظ تولید علوفه بدون اختلاف معنی‌دار بعد از جمعیت ۴۰۰ قرار

اصلاح نباتات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

- پورمحمد کیانی، س.، ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی کلزا (*Brassica napus* L.) با استفاده از مارکر RAPD-PCR. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی ایران.

- جعفری، ع.، بشیرزاده، ع. و حیدری شریف آباد، ح.، ۱۳۸۱. بررسی عملکرد بذر و اجزاء عملکرد در ۲۹ رقم و اکوتیپ علف باغ *Dactylis glomerata*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۰: ۹۱-۱۲۹.

- جعفری، ع.، مداح عارفی، ح. و عبدی، ن.، ۱۳۷۹. ارزیابی مقدماتی و بررسی اثرات رسیدن و سطوح پلوئیدی روی تولید علوفه در ۲۹ ژنوتیپ چچم دائمی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۵: ۱۲۵-۱۵۷.

- فارسی، م. و باقری، ع.، ۱۳۸۵. اصول اصلاح نباتات (ویرایش سوم). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۷۶ صفحه.

- کریمی، ه.، ۱۳۶۹. مرتعداری. انتشارات دانشگاه تهران. ۴۰۸ صفحه.

- محمدی، ر.، خیام نکویی، م.، میرلوحی، ا.، و رزمجو، خ.، ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف گونه علوفه‌ای - مرتعی *Agropyron elongatum*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۴: ۱۵-۲۴.

- مدیرشانه‌چی، م.، ۱۳۶۹. تولید و مدیریت گیاهان علوفه‌ای (ترجمه). معاونت فرهنگی آستان قدس رضوی، ۴۴۸ صفحه.

- Anderson, E.W. and Brooks, L.E., 1975. Reducing erosion hazard on a burned forest in Oregon by seeding. *Journal of Range Management*, 28: 394-398.

- Anderson, W.R. and Fairbank, D.J., 1990. Molecular markers: important tools for plant genetic resources characterization. *Diversity*, 6: 51-53.

- Carlson, J.R. and Schwendiman, J.L., 1986. Plant materials for crested wheatgrass seedings in the intermountain West. In: Johnson, Kendall L., ed. *Crested wheatgrass: its values, problems and myths: Symposium Proceedings; 1983 October 3-7; Logan, UT. Logan, UT: Utah State University: 45-52.*

- Casiva, P.V., Saidman, B.O., Vilards, J.C. and Cialdella, A.M., 2002. First comparative phenetic studies of Argentinean species of *Acacia* (*Fabaceae*), Using morphometric, isozymal, and

زارعی کاملاً متفاوت باشند. با وجود این، برخی تشابهات نیز در دو کلاستر وجود داشت (شکل ۱) به‌عنوان مثال، جمعیت شماره ۴۰۰ (اردبیل) که از لحاظ صفات مورفولوژیکی مطلوب در زمره برترین‌ها (جدول ۳) بود و در کلاستربندی در گروهی جداگانه نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار داشت، در کلاستربندی براساس داده‌های مولکولی نیز در گروهی جداگانه نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار داشت. بنابراین با به کار بردن نشانگرهای بیشتر و مناسب‌تر ممکن است نتایج دقیق‌تر و مشابه‌تر با نتایج مورفولوژیکی بدست آید.

همچنین می‌توان نتیجه گرفت که با استفاده از آغازگرهای مناسب‌تر و بیشتر و با شرایط آزمایش کنترل‌شده، RAPD می‌تواند تکمیل‌کننده ارزیابی‌های مورفولوژیکی و وسیله‌ای مناسب و مؤثر در ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی جمعیت‌های مناسب *A. desertorum* جهت توسعه و بهره‌گیری از آنها در برنامه‌های اصلاحی آینده باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از ریاست محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و مسئولین بانک ژن (مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور) به واسطه همکاری‌های صمیمانه در اجرای این تحقیق اعلام می‌داریم.

منابع مورد استفاده

- ایمانی، ع. ا.، ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *Festuca arundinacea* Schreb. براساس نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی (RAPD). رساله دکترای تخصصی

- Laycock, W.A. and Conrad, P.W., 1981. Responses of vegetation and cattle to various systems of grazing on seeded and native mountain rangelands in eastern Utah. *Journal of Range Management*, 34: 52-58.
- Lewontin, R., 1972. Testing the theory of natural selection. *Nature*, 236:181-182.
- Mantel, N.A., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
- Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 70: 3321-3323.
- Ogle, D.G., 2002. *Dseret Weatgrass Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) J.A. Schultes. Plant fact Sheet. USDA. NRCS. IdahoState Office.
- Rajasekar, S., Fei, S.H. and Nick, E.C. 2005. Analysis of genetic diversity in rough bluegrass determined by RAPD markers. *Crop Science*, 46: 162-167.
- Riday, H., Brummer E.C., Campbell, T.A., Luth, D. and Cazarro P.M. 2003. Comparisons of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. *sativa* and subsp. *Falcata* *Euphytica*, 131: 37-45.
- Roldan-Ruiz, I., Van Eeuwijk, F.A., Gilliland, T.J., Pubreuil, P., Dillmann, C., tallemand, J., Deloose, M. and Baril, C.P., 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) Varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1138-1150.
- Saghai-Marooif, M.A., Soleiman, K.M., Jorfenden, R.A. and Allars, R., 1984. Ribosomal DNA Spacer-Length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 81: 8014-8018.
- Schaaf, H.M., 1976. Spaced-planted and mass-seeded progeny tests for seed yield and seed size in tetraploid crested wheatgrass. *Crop Science*, 16: 607-610.
- Schaaf, H.M., Rogler, G.A. and Lorenz, R.J., 1962. Importance of variations in forage yield, seed yield, and seed weight to the improvement of crested wheatgrass. *Crop Science*, 2: 67-71.
- Schuman, G.E., Rauzi, F. and Howard, G.S., 1987. Vegetation response to soil surface modification in mined land reclamation. *Reclamation and Revegetation Research*, 6: 49-54.
- RAPD approaches. *American Journal of Botany*, 89: 843-853.
- Casler, M.D., 1982. Parent-offspring regression in reed canarygrass: Methods for parent and offspring evaluation and their effect on heritability estimates. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 24: 467-473.
- Casler, M.D., Rangel, Y., Stier, J.C. and Jung, G., 2003. RAPD marker diversity among creeping bentgrass clones. *Crop Science*, 43: 688-693.
- Clayton, W.D., Harman, K.T. and Williamson, H., 2002. World Grass Species: Descriptions, Identification, and Information Retrieval. <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>. [accessed 08 November 2007; 15:30 GMT].
- Dewey, D.R., 1969. Synthetic hybrids of *Agropyron albicas*, *A. dasystachyum*, *Sitanion hystrix* and *Elymus canadensis*. *American Journal of Botany*, 56: 664-670.
- Eckert, R.E.Jr., Bleak, A.T., Robertson, Jos.H. and Naphan, E.A., 1961. Responses of *Agropyron cristatum*, *A. desertorum*, and other range grasses to three different sites in eastern Nevada. *Ecology*, 42: 775-783.
- Garcia, P., Monte, J-V., Casanova, C. and Soler, C., 2002. Genetic similarities among Spanish populations of *Agropyron*, *Elymus* and *Thinopyrum*, using PCR-based markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 103-109.
- Hamrick, J.L., 1990. Isozyme and the analysis of genetic structure in plant population. In: Soltis, E.D. and Soltis, P.S. (eds). *Iszymes in Plant Biology*. Chapman and Hall, London. PP. 87-90.
- Huff, D.R., 1997. RAPD characterization of heterogeneous perennial ryegrass cultivars. *Crop Science*, 37: 557-594.
- Hull, A.C.Jr. and Johnson, W.M., 1955. Range seeding in the ponderosa pine zone in Colorado. Circular 953. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 40 p.
- Jaccard, P., 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44: 223-270.
- Johnson, R.C., Johnston, W.J., Golob, C.T., Nelson, M.C. and Soreng, R.J., 2002. Characterization of the USDA *Poa pratensis* collection using RAPD markers and agronomic descriptors. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49: 349-361.
- Joshi, C.P. and Nguyen., H.T., 1993. Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. *Genome*, 39: 603- 609.

- rice (*Oryza sativa*) germplasm. *Euphytica*, 112: 275-284.
- Wang, J.L., Gao, Y.B., Zhao, N.X., Ren, A.Z., Ruan, W.B., Chen, L., Liu, J.L. and Li, C.L., 2006. Morphological and RAPD analysis of the dominant species *Stipa krylovii* Roshev. in Inner Mongolia steppe. *Botanical Studies*. 47: 23-35.
 - Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. ,1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
 - Shiflet, T.N., 1994. Rangeland cover types of the United States. Denver, CO: Society for Range Management, 152 p.
 - Simonsen, O., 1977. Genetic variation in diploid and autotetraploid populations of *Festuca pratensis*, *Hereditas* 85: 1-24.
 - Smith, J.S.C. and Smith, O.S. 1992., Finger printing crop varieties. *Advances in Agronomy*, 47: 140-149.
 - Szczepaniak, M., Cieslak, E. and Tomasz Bednarek, P., 2002. Morphological and AFLP variation of *Elymus reperus* (L.) gould (*Poaceae*). *Cellular and Molecular biology letters* 7: 547-558.
 - Virk, P.S., Zhu, J., Newbury, H.J., Bryan, G.J., Jackson, M.T. and Ford-Lloyd, B.V., 2000. Effectiveness of different classes of molecular marker for classifying and revealing variation in

Investigation of genetic variability in Iranian populations of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*) based on morphological and RAPD markers

R. Taghizadeh^{*1}, A.A. Jafari², A.A. Imani³, A. Asghari⁴ and R. Choukan⁵

1* - Corresponding author, Assis. Prof., Islamic Azad University, Astara Branch, Astara, I.R.Iran,
E-mail : r.taghizadeh@iau-astara.ac.ir

2- Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran.

3- Assis. Prof., Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I.R.Iran.

4- Assis. Prof., Agriculture Faculty, of Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, I.R.Iran.

5- Assoc. Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, I.R.Iran.

Received: 06.03.2010

Accepted: 12.09.2010

Abstract

Genetic diversity in eighteen Iranian populations of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*), was evaluated using morphological traits and Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. The populations were examined for seed yield and its components using a complete block design with 3 replications as spaced plant under irrigation conditions during 2006-2008. Analysis of variance showed significant differences among the populations for all the studied traits. The population 400 (Ardabil) had higher dry matter (9.24 ton/ha) and seed production (514.89 kg/ha). Broad-sense heritability values were high ($h^2_b = 0.52 - 0.61$) for seed yield, spike length and seed number per spike. For stems number broad-sense heritability was moderate ($h^2_b = 0.27$) and for other traits it was low and non significant. Ten primers out of the 50 decamer random primers screened generated 56 highly repeatable polymorphic bands. Estimates of Nei's gene diversity (h) and Shannon's Information index (I) for all loci in individual populations showed the populations of 3974 (Karaj) and 742 (Hamedan) had higher ($h=0.302$ and $I=0.449$) and lower ($h=0.146$ and $I=0.225$) gene diversity, respectively. Total gene diversity (H_t) and mean of gene diversity within populations (H_s) were estimated 0.224 and 0.356, respectively. Average value of gene diversity among the populations (G_{st}) was estimated as 0.37. The results showed that of total variation, between and within population variation were 0.37 and 0.63, respectively. Jaccard's similarity coefficients ranged from 0.19 to 0.49 across all 18 populations. The molecular and morphological data were subjected to Unweighted pair group method with arithmetic averages cluster analysis. Populations were partitioned into three groups. In both cluster analysis, population of 400 (Ardabil) was located into same separate group. The Mantel correlation analysis between morphological and RAPD data was not significant. In general, RAPD markers data proved to be a good method of assessing genetic variation among populations of desert wheatgrass.

Key words: *Agropyron desertorum*, cluster analysis, morphological variation, genetic polymorphism, desert wheatgrass, molecular RAPDs marker.