

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

مریم حاجی کرم^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 پذیرش: ۸۹/۳/۳

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۴

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۸۶ نمونه *Aegilops tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی شمالی ایران از ۱۰ جفت توالیهای تکراری ریزماهوره استفاده شد که ۹ جفت از آنها چند شکلی مناسبی نشان دادند. در مجموع ۱۴۰ 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 ۰/۱۶ 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: ریزماهوره‌ها، *Aegilops tauschii*، تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۲۷۶۰۵ پست الکترونیکی: mnaghavi@ut.ac.ir

مقدمه

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، ۱۴، ۳۱). محققین از اسامی متفاوتی مانند *Triticum tauschii* Ae. squarrosa auct. non L. و Schmal 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 eu- subsp.

آزیلوپسها 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 آزیلوپس 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 = 6x) (= 42, AABBDD) می‌باشد. این گونه در قفقاز، ایران، آسیای مرکزی، افغانستان، چین، پاکستان و ترکیه پراکنده

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 (۴). تاکنون مطالعات مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی *Ae. tauschii* صورت گرفته است. Pestsova و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از ریزماهواره‌ها 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 (۲۶). Naghavi و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی ۵۴ توده *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از ۵ 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 (۲۰۰۶) تنوع ژنتیکی ۵۷ نمونه *Ae. tauschii* ایران که از مناطق شمال غربی، جنوب دریای خزر، شمال شرقی و غرب جمع‌آوری 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، ۶۰ نمونه از هر دو گونه را با استفاده از ۱۴ 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 نانوائی گندم نان، مطالعات زیادی بر روی *Ae. tauschii*

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

Ae. tauschii براساس صفات مورفولوژیک (۱۱، ۱۴، ۲۲)، فیزیولوژیک (۸)، ایزوزیمها (۱۲، ۲۵)، پروتئینهای ذخیره‌ای دانه (۱۵)، RFLP (۴، ۲۰) و ریزماهواره (۱۰، ۱۸، ۲۶، ۲۸) مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین از نشانگرهای DNA برای تهیه نقشه پیوستگی ژنی این گونه استفاده شده است (۲، ۷، ۱۶). با استفاده از نشانگرهای RFLP و ریزماهواره سطح بالایی از چند شکلی در بین نمونه‌های *Ae. tauschii* گزارش شده است (۴، ۲۶، 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 (۲۴، ۲۵، ۳۳) و زیرگونه *subsp. strangulata* به احتمال زیاد دهنده این ژنوم به گندم نان می‌باشد (۴، ۱۱). *Ae. tauschii* نسبت به آفات و بیماریهای مهم کشاورزی مقاوم بوده (۶، ۱۳، ۲۱) همچنین دارای صفات فیزیولوژیکی مهم مانند مقاومت به دمای پایین (۱۷، ۱۹)، مقاومت به شوری (۳۰) و به خشکی (۹) می‌باشد و نسبت به گندم نان از نظر مقاومت به بیماریها و حشرات، ایزوزیمها و پروتئینهای ذخیره‌ای دانه دارای تنوع بیشتری می‌باشد و یک منبع مفید برای اصلاح گندم است (۱۱، ۲۰).

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

جدول ۱- نام و مبدا نمونه‌های مورد استفاده

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

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

جدول ۲- 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	۰/۳۴
WMS157	2dl	(CT)14	5' GTCGTCGCGGTAAGCTTG 3' 5'GAGTGAACACACGAGGCTTG3'	۶۰	۱۱	۰/۳۲
WMS484	2ds	(CT)29	5' ACATCGCTTTCACAAACCC 3' 5'AGTTCGGTTCATGGCTAGG3'	۵۵	۲۰	۰/۲۰
WMS114	3ds	(GA)53	5' ACAAACAGAAAATCAAAACCGG 3' 5'ATCCATCGCCATTGGAGTG3'	۶۰	۹	۰/۳۸
WMS608	4dl	(GA)16	5' ACATTGTGTGTGCGGCC 3' 5'GATCCCTCTCCGCTAGAAGC3'	۶۰	۱۸	۰/۲۲
WMS212	5dl	(CT)20	5' AAGCAACATTGCTGCAATG 3' 5'TGCAGTTAACTTGTGAAAGGA3'	۶۰	۱۵	۰/۲۶
WMS192	5ds	(CT)46	5' GGTTTTCTTTCAGATTGCGC 3' 5'CGTTGTCTAATCTTGCCCTTGC3'	۶۰	۲۰	۰/۲۰
WMS325	6ds	(CT)16	5' TTTCTTCTGTCTTCTTCCC 3' 5'TTTTACGCGTCAACGACG3'	۶۰	۱۲	۰/۲۸
WMS111	7dl	(CT)32(GT)17	5' TCTGTAGGCTCTCCTCCGACTG 3' 5'ACCTGATCAGATCCCACTCG3'	۵۵	۲۵	۰/۱۶

مواد و روشها

شرح داده شده است. استخراج DNA از برگهای جوان حاصل از یک بذر از هر نمونه به روش Saghai-Marouf و همکاران (۲۹) با اندکی تغییر انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (غلظت ۶۰-۵۰ نانوگرم)، ۱/۵ میکرولیتر بافر 10X، ۱ میکرولیتر dNTPs 1mM، ۱ میکرولیتر از جفت آغازگرهای مربوطه (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۰/۵ واحد آنزیم Taq پلی مراز، ۱/۲ میکرولیتر از کلرید منیزیم ۱۵ میلی مولار و در نهایت با ۲/۷ میکرولیتر آب دوبار تقطیر انجام شد. چرخه حرارتی

مواد گیاهی: در این تحقیق از ۸۶ 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 جمع آوری شده بود، استفاده گردید (جدول ۱). تجزیه مولکولی: تعداد ۱۰ جفت آغازگر ریزوماهواره در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت که جداسازی این نشانگرهای SSR قبلاً به وسیله Roder و همکاران (۲۷)

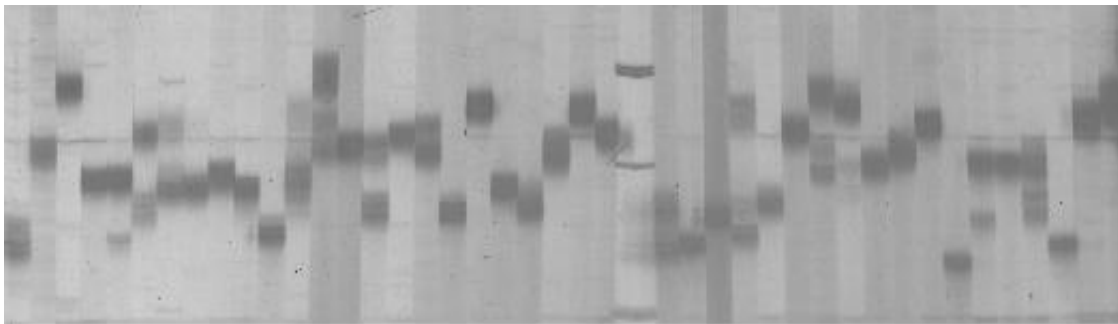
روش تجزیه به مختصات اصلی (PCA) گروه بندی نمونه‌ها در یک پلات دو بعدی بررسی شد.

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 ۱۴۰ آلل به دست آمد، به طوری که تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲۵-۹ متغیر بوده و میانگین تعداد آلل برای هر لوکوس ۱۵/۵ مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین تعداد آلل مربوط به آغازگر WMS111 با ۲۵ آلل چندشکل و کمترین آنها مربوط به WMS114 و WMS232 به ترتیب با ۹ و ۱۰ آلل چندشکل بود. در شکل ۱ الگوی بانندی 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.

شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، ۳۷ چرخه حرارتی که ۱۲ چرخه اول حرارتی به صورت Touch Down برنامه ریزی شده بود، به این صورت که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتی گراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه دور اول با کاهش ۰/۸ 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 ۹۴ درجه در نظر گرفته شد. همچنین زمان و دمای بسط رشته نیز به ترتیب ۱ دقیقه و ۷۲ درجه بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید ۶ درصد واسرشته ساز تفکیک و رنگ آمیزی به روش نیترا 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 P_i فراوانی آلل i ام و n تعداد آللهای 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



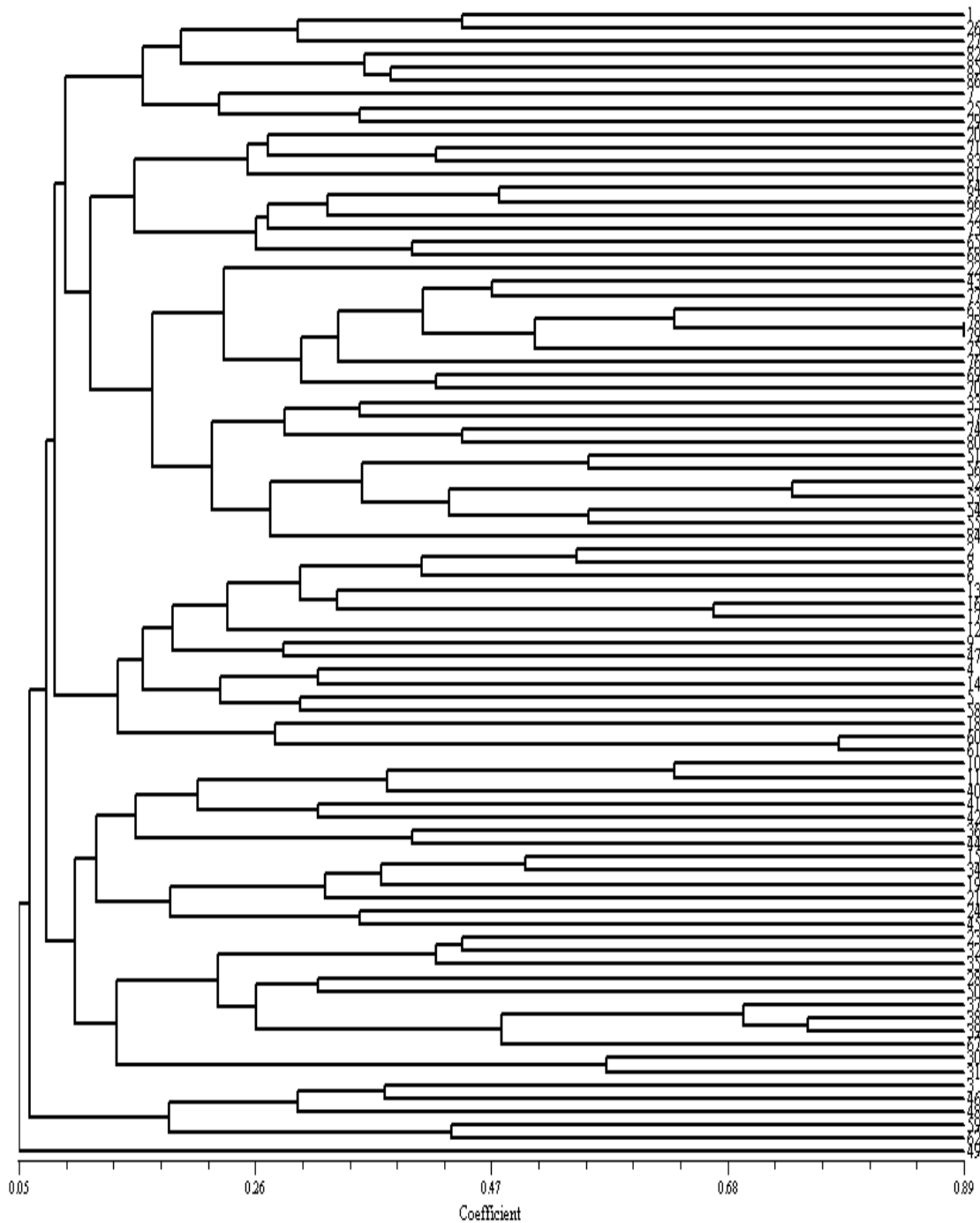
شکل ۱- الگوی بانندی تعدادی از نمونه‌های مورد بررسی درجفت نشانگر WMS484

میزان PIC (۰/۳۸) برای آغازگر WMS114 و کمترین میزان PIC (۰/۱۶) نیز برای آغازگر WMS111 به دست آمد. در نتیجه می‌توان گفت که آغازگر WMS114 با بیشترین میزان

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

توسط Leley و همکاران (۰/۶۸)، Naghavi و همکاران (۰/۸۲) و Saeidi و همکاران (۰/۶۶) کمتر می‌باشد (۱۸، ۲۲، ۲۸). دلیل این تفاوت را می‌توان به تفاوت در نشانگرهای مورد استفاده و همچنین تفاوت در نمونه‌های مورد بررسی نسبت داد.

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

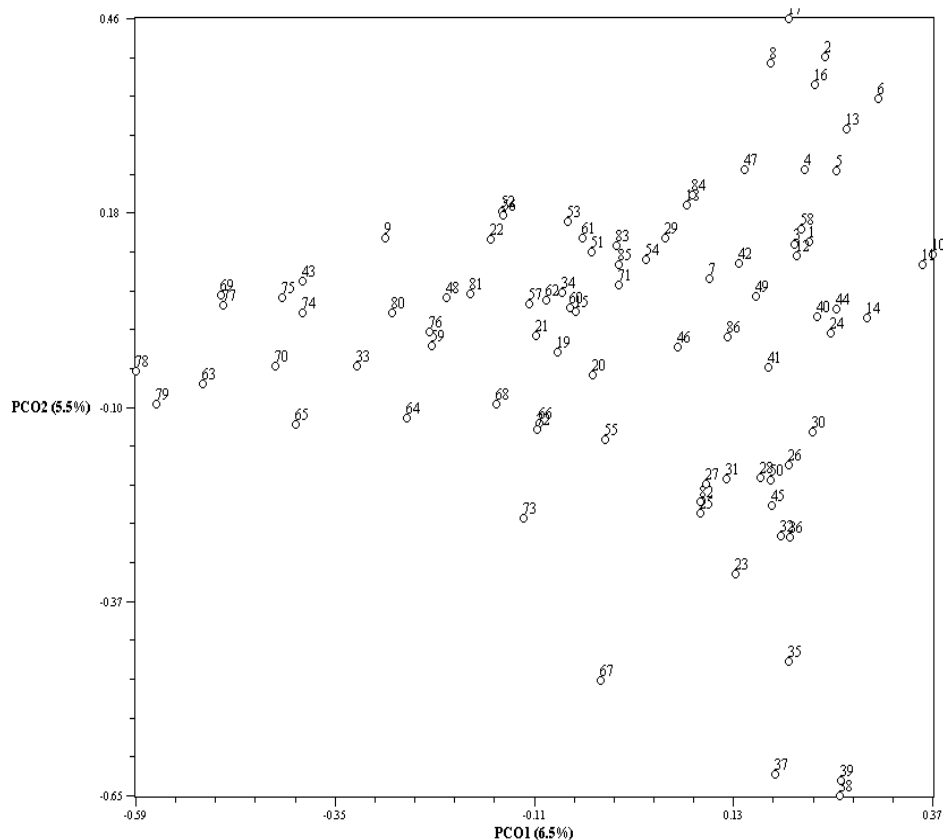


شکل ۲- گروه بندی نمونه های مختلف *Aegilops tauschii* با استفاده از روش دایس و الگوریتم UPGMA

استانهای قزوین، گلستان، گیلان، آذربایجان شرقی، سمنان، اردبیل و مازندران، در گروه دوم ۲۴ نمونه از استانهای گلستان، اردبیل، مازندران، گیلان، زنجان، قزوین و سمنان، در گروه سوم ۵ نمونه از استان مازندران و در گروه 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 می‌توان به واسطه تبادلات فیزیکی و یا شباهت ژنتیکی بین نمونه‌ها باشد.

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 خوشه‌ای (شکل ۲) قادر به گروه بندی بر اساس مناطق جغرافیایی نبوده و نمونه‌ها را در ۴ گروه بزرگ تقسیم بندی کرد که در گروه اول ۵۶ نمونه از



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

دو بعد تجزیه به مختصات اصلی در مجموع ۱۲ درصد از تغییرات را توجیه نمود که ۶/۵ درصد آن توسط بعد اول و ۵/۵ درصد آن توسط بعد دوم توجیه گردید.

آنالیز UPGMA (شکل ۲) و PCA (شکل ۳) 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

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).

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه‌های *Ae. tauschii* نواحی شمالی ایران از تنوع بالایی برخوردار می‌باشند و با استفاده از مارکر SSR می‌توان به راحتی شناسنامه مولکولی برای نمونه‌ها تهیه نمود. با توجه به نقش این گونه در اهلی شدن گندم نان و همچنین دارا

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., Ziegler 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* gene pool and the evolution of hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 97: 657–670.
- 5- Eig A. (1929). Monographisch-kritische Ubersicht 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

- 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: Eriophyidae). *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-Marouf M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A. and Allard 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.

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

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

²Genetics 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: Microsatellites, *Aegilops tauschii*, genetic diversity, cluster analysis, Iran