بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و لاین های گندم نان (*Triticum aestivum*) ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولیAFLP

فهیمه سبزه علی[۱]، سید حسن مرعشی[۲]، مهدی نصیری محلاتی[۳]، حمیدرضا کاوسی[۴]

چکیده

گندم نان (*Triticum aestivum*) دارای بیشترین سطح زیر کشت و میزان تولید در ایران می‌باشد و به نظر می‌رسد در طی سالهای اخیر با ورود ارقام تجاری و اصلاح شده از میزان تنوع واریته‌های آن کاسته شده است . در این تحقیق به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۳۴ رقم و لاین پیشرفته ی گندم نان و روابط خویشاوندی بین آنها، از نشانگر مولکولیAFLP استفاده گردید. هفت جفت ترکیب آغازگری EcoRI/Tru1I، در مجموع ۳۵۱ نوار قابل امتیاز دهی ایجاد نمود که ۱۲۹ (۳۶/۷٪) عدد از آنها چند شکل بودند. میانگین شباهت ژنتیکی بر پایهٔ ضریب Nei ، ۰/۹۶ تخمین زده شد (۰/۹۹-۰/۹۱). دندروگرام به دست آمده با استفاده از روش UPGMA، چهار گروه اصلی را بین ۳۴ رقم و لاین گندم مشخص کرد که تجزیه و تحلیل PCA نیز آن را تأیید نمود. نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی اندکی بین واریته‌های تجاری گندم در کشور وجود دارد. سطح تنوع ژنتیکی محدود بر این نکته دلالت دارد که ژنوتیپ ها احتمالاًدارای منشأ یکسان بوده و باید نسبت به گسترش دامنهٔ ژنتیکی واریته‌های گندم در کشور توجه بیشتری گردد.

واژه‌های کلیدی: گندم، نشانگرAFLP، تنوع ژنتیکی، چند شکلی.

مقدمه

گندم به دلیل ویژگیهای منحصر به فرد، مهمترین گیاه زراعی روی زمین است ،که در مساحت وسیعی از اراضی دنیا کشت شده و از نظر سطح زیر کشت و تولید سالیانه نسبت به سایر غلات در درجه ی اول اهمیت می‌باشد. در ایران نیز گندم نسبت به سایر محصولات بیشترین سطح زیر کشت را به خود اختصاص داده است. گندم دارای گونه‌های متعددی است ولی بیشترین سطح زیر کشت (۹۰٪) و بیشترین میزان تولید (۹۴٪) مربوط به گونه ی *T. aestivum* یا گندم نان می‌باشد. امروزه با افزایش تمایل به کشت‌های خالص گیاهان، دامنه ی تنوع ژنتیکی در اکوسیستم‌های کشاورزی کاهش یافته است (۹). از طرفی ارقام و واریته‌های اصلاح شده با تاریخ مصرف محدود رو به افزایش گذاشته است (۱۳). علیرغم تعداد بسیار زیاد واریته‌های تجاری که در طی چند دههٔ گذشته اصلاح شده‌اند، در بسیاری از مناطق جهان تولید محصولات زراعی بر کشت تعداد اندکی از واریته‌های زراعی استوار است (۹). با وجود آنکه کشور ایران از غنای ژنتیکی بالایی برخوردار است و تنوع ژنوتیپ‌ها، نژادها و جمعیتهای گیاهان زراعی در گذشته در آن زیاد بوده است، ولی در حال حاضر این تنوع به شدت کاهش یافته است و ارقام زراعی اندکی بخش عمده تولید هر محصول را به خود اختصاص می‌دهند. با توجه به اهمیت اقتصادی و زراعی این گیاه و ارزش استراتژیک آن، اولین قدم برای ارزیابی میزان تفاوت ژنتیکی و دامنه تنوع بین گندم‌های نان ایران و نیز برنامه‌ریزی هدفمند برای کارهای اصلاحی، اطلاع از تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام و لاین‌های مناطق مختلف است. ارزیابی تنوع به روش‌های مختلفی انجام می‌شود، اما در این میان روش‌هایی که در سطح سلولی و بر اساس ماده‌ی ژنتیکی صورت می‌گیرد، جدیدتر، آسانتر،

۱و۴- به ترتیب دانشجویان کارشناسی ارشد و دکترای بیوتکنولوژی، ۲ و ۳ – اعضای هیأت علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

سریعتر و شاید قابل اعتمادتر از سایر روش‌ها باشد.

در مطالعه‌ای که توسط سید طباطبایی و همکاران (۶) بر روی ۱۶ واریته‌ی گندم در کشور با استفاده از مارکر مولکولیAFLP صورت گرفت، مشخص شد که پایهٔ ژنتیکی محدودی بین واریته‌ها وجود دارد. مندولکانی و همکاران (۱۰) نشانگر RAPD را برای تعیین تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم نان در کشور به کار بردند و نشان دادند که تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های مورد مطالعه پایین است. تیان و همکاران (۲۴) در بررسی تنوع ژنتیکی واریته‌های گندم معمولی چین به کمک مارکرAFLP در فاصله ی سالهای ۱۹۹۰-۱۹۴۰ نشان دادند که تنوع ژنتیکی در طول زمان کاهش یافته و توده‌های بومی و واریته‌های وارداتی تنوع ژنتیکی بیشتری در مقایسه با واریته‌های اصلاح شده دارند. مارتوس و همکاران (۲۰) در بررسی فرسایش ژنتیکی واریته‌های گندم دوروم ایتالیا و اسپانیا در طول قرن بیستم با استفاده از نشانگرAFLP دریافتند که درجه‌ی بالایی از شباهت ژنتیکی بین واریته‌ها وجود داشته و تنوع ژنتیکی در طول قرن اخیر حفظ گردیده است. هدف از این تحقیق ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی ۳۴ رقم و لاین گندم نان در کشور به کمک نشانگر مولکولی AFLP و نهایتاً گروه بندی آنها به روش تجزیه کلاستر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: نمونه‌های گندم مورد استفاده در این مطالعه از مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی جمع‌آوری گردید. این ارقام شامل الوند، اترک، الموت، آزادی، آذر ۲، بزوستایا، بک کراس روشن، کراس البرز، چمران، فلات، گاسکوژن، گاسپارد، قدس، هیرمند، کویر، کرج ۱، کرج ۲، کرج ۳، مهدوی، Mv17، مرودشت، نیک نژاد، نوید، امید، پیشتاز، روشن، شهریار، شیراز، شیرودی، توس، تجن، طبسی، زاگرس و زرین بودند.

استخراج DNA: استخراج DNA بر مبنای روش سقایی معروف و همکاران (۲۳) با اندکی تغییر صورت گرفت. گیاهچه‌ها در مرحله دو برگی جهت استخراج DNA ژنومی مورد استفاده قرار گرفتند. برگهای تازه و جوان به کمک ازت مایع پودر و سپس منجمد شدند. نمونه‌های پودر شده تا زمان استخراج در دمای ۲۰°C- نگهداری گردیدند.۰/۱ گرم از برگهای پودر شده همراه با ۹۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (NaCl 700 mM ,Tris-HCl 100 mM pH 7.5 ,EDTA 100 mM pH 8.0 ,CTAB 1% (w/v); β-Mercaptoethanol 1% (v/v)) PVP 4% (w/v با دمای ۶۵ درجه سانتیگراد در میکروتیوب ml ۱/۵ ریخته و به مدت ۹۰ دقیقه در دستگاه بن ماری و دمای ۶۵ درجه انکوبه شد. سپس ۴۵۰ میکرولیتر محلول کلروفرم ایزوآمیل الکل به نسبت ۲۴ : ۱ به میکروتیوب اضافه و به خوبی مخلوط گردید. پس از آن نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. در مرحله بعد محلول رویی به یک تیوب جدید منتقل شده و دو سوم حجم محلول (۶۰۰ میکرولیتر) ایزوپروپانول سرد به آن اضافه شد. محلول حاصل به آرامی تکان داده شد تا کلاف DNA مشاهده شود. سپس میکروتیوبها به مدت نیم ساعت در ۲۰°C- قرار گرفتند. پس از پایان زمان انکوباسیون، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۸۰۰۰ جهت رسوب دادن DNA سانتریفیوژ شدند. پس از آن پلیت DNA با اتانول ۷۰٪ شستشو داده شد و پس از تبخیر اتانول در محلول TE حل گردید.

اجرای مراحل AFLP: آزمایشات AFLP بر اساس روش وس و همکاران (۲۵) با کمی تغییر بر پایه روش بهینه شده در پژوهشکده بیوتکنولوژی کرج (مکاتبات شخصی با مهندس پیر سیدی) انجام گردید.۵۰۰ نانوگرم DNA ژنومی به کمک ۵ واحد از هر کدام از آنزیم‌های برشی *Eco*RI و *Tru*1I (فرمنتاس) مورد هضم قرار گرفته و سپس دو نوع آداپتور آنزیم‌های برشی فوق به انتهای قطعات برش خورده متصل شدند. در مرحله تکثیر پیش انتخابی از آغازگرهای دارای یک نوکلئوتید اضافی در انتهای ′۳، *Eco*RI : 5'- GACTGCGTACCAATTC**A**-3' و-5' *Tru*1I : GATGAGTCCTGAGTAA**C**-3' استفاده گردید. سپس به کمک آغازگرهایی با ۳ نوکلئوتید اضافی در انتهای ′۳ واکنش تکثیر انتخابی انجام شد. بدین منظور ابتدا گزینش آغازگرها با استفاده از سه نمونه‌ی DNA (دو نمونه نزدیک به‌هم و یک نمونه دور از لحاظ مورفولوژی) و از بین ۴۰ ترکیب جفت آغازگری انجام شد. از این میان ۷ جفت ترکیب آغازگری (*Eco*+ AGC / *Tru* CTG، *Eco*+ AGG / *Tru* CTG ، *Eco*+ AAC / *Tru* CTC ، *Tru* CGG /

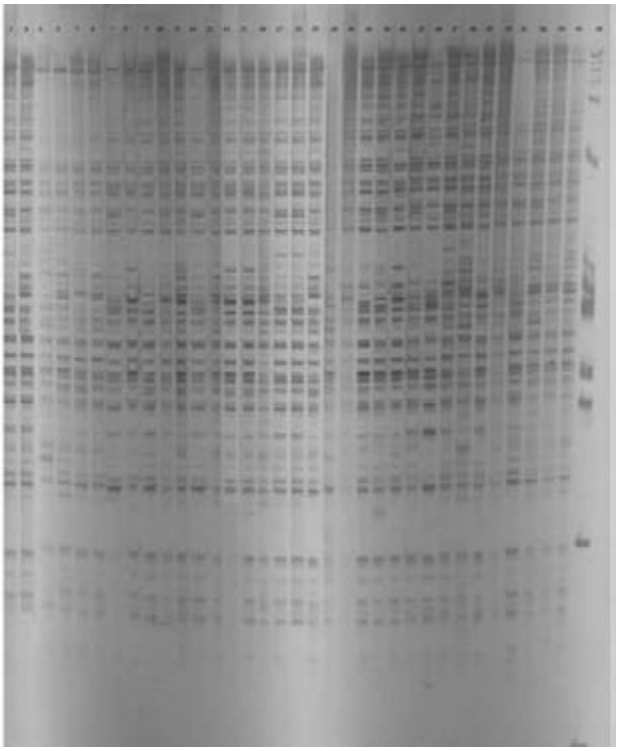
ACG / *Tru* CAG ، *Eco*+ ACG / *Tru* CTG ، *Eco*+ ACT +*Eco*، AAC / *Tru* CAG +*Eco*)، با بیشترین تعداد نوار و چند شکلی و الگوی نوار بندی بهتر، انتخاب شدند. برای مشاهدهٔ الگوی نوار بندی محصولات PCR از ژل پلی اکریل آمید ۶٪ استفاده شد. الکتروفورز به مدت ۲ ساعت با ولتاژ ثابت ۱۲۰۰ولت و با استفاده از بافر TBE 1x انجام و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره صورت گرفت (۲۱).

تجزیه داده ها: هر یک از مکانهای تکثیر شده توسط مارکر به عنوان یک صفت در نظر گرفته شد و حضور و عدم حضور آنها به ترتیب با اعداد یک و صفر به نمایش در آمد. سپس داده‌ها به نرم افزار Excel منتقل شده و فاصله ژنتیکی بر اساس ضریب شباهت Nei توسط نرم افزار Popgene 32 (۲۶) محاسبه گردید. همچنین با استفاده از این نرم افزار شاخص‌هایی مانند I [1] (شاخص تنوع)، ne [2] (متوسط تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی)، na [3] (تعداد آلل مشاهده شده در هر مکان ژنی)، h [4] (تنوع ژنتیکی) نیز محاسبه گردید. گروه بندی بر اساس روش UPGMA و تجزیهٔ مؤلفه های اصلی (PCA) توسط نرم‌افزار Ntsys انجام شد. تجزیه سه بعدی نیز به کمک نرم افزار Statistica صورت گرفت و نتایج آن با نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل PCA مقایسه گردید.

نتایج و بحث

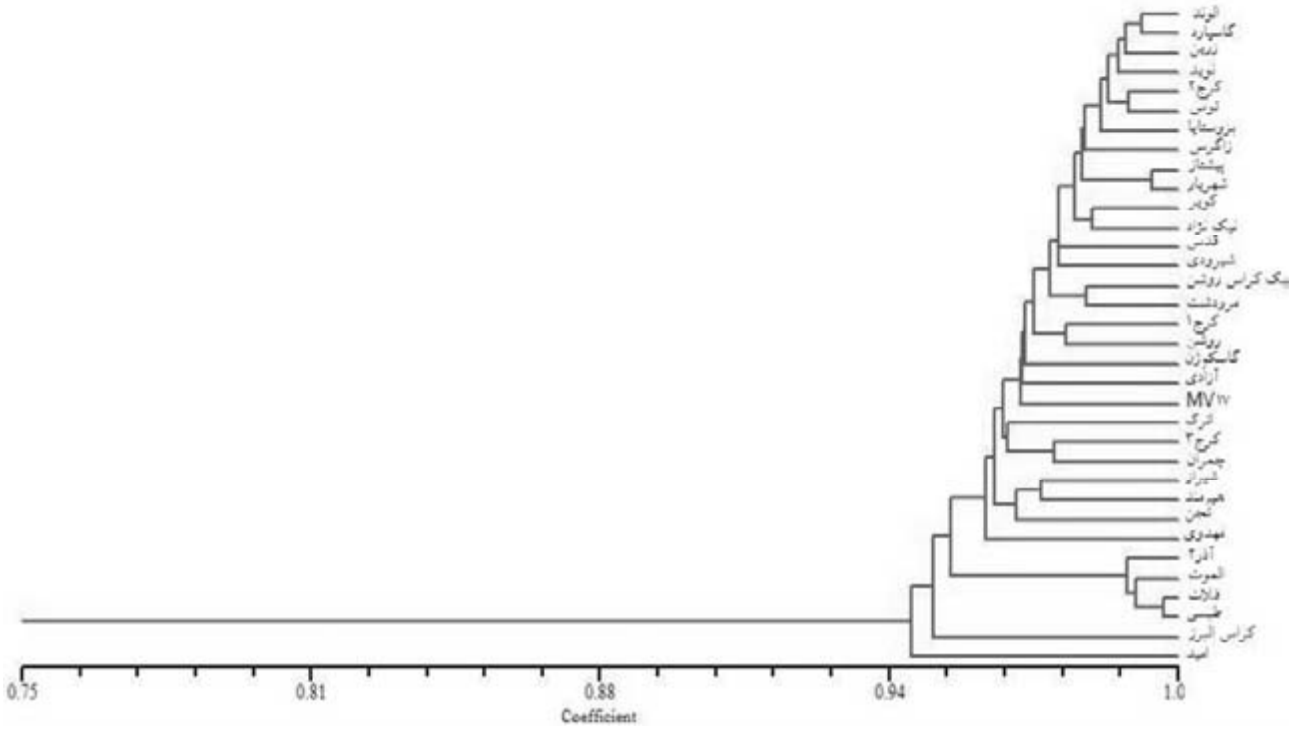
آنالیز مولکولی : ۷ جفت ترکیب آغازگری به کار رفته، مجموعاً ۳۵۱ باند قابل امتیازدهی را ایجاد کردند، که اندازه آنها در محدودهٔ ۵۰ تا ۱۰۰۰ bp بود. در این بین، ۱۲۹ نوار (۳۶/۷٪) چندشکلی نشان دادند. میانگین تعداد نوارهای تکثیر شده به ازای هر جفت آغازگر ۵۰/۱ و میانگین تعداد نوارهای چند شکل به ازای هر جفت آغازگر ۱۸/۴ بود (شکل ۱). نمونه‌های فلات و طبسی بیشترین شباهت ژنتیکی (۰/۹۹) و نمونه‌های گاسکوژن و آذر۲ کمترین شباهت ژنتیکی (۰/۹۱) نسبت به یکدیگر را نشان دادند.

نتایج تجزیه و تحلیل خوشه‌ای ،چهارگروه اصلی را بین ۳۴ نمونهٔ گندم مشخص نمود (شکل ۲). گروه اول شامل واریتهٔ امید، گروه دوم شامل کراس البرز، گروه سوم شامل طبسی، فلات، الموت و آذر۲ و گروه چهارم شامل سایر واریته‌های مورد بررسی در آزمایش بود که به زیر گروه‌های متعددی برحسب شباهت ژنتیکی تقسیم شدند. دو واریتهٔ فلات و طبسی هر دو بهاره و زودرس بوده و در زیرگروه ۱ قرار گرفته‌اند. کرج ۱ هیبرید رقم روشن بوده و هر دو نیمه زودرس می‌باشند، و در زیر گروه ۱۶ قرار گرفتند. شیراز، هیرمند و تجن هر سه بهاره هستندکه دریک زیرگروه قرار گرفته‌اند. نیک نژاد و کویر ارقام بهاره و زودرس بوده و در زیر گروه ۱۱ قرار دارند. در زیر گروه ۹ ارقام الوند، زرین، نوید، کرج ۲ و توس همگی دارای تیپ رشدی بینابین می‌باشند.



شکل ۱: طیف نواربندی ژل پلی‌اکریلامید واسرشت نشاندهنده‌ی الگوی نواری AFLP ۳۴ نمونه با ترکیب پرایمری (**E-ACG/ M-CAG**). نمونه‌ها از شماره ۱-۳۴ و از چپ به راست، به ترتیب عبارتند از: الوند، بزوستایا، کرج ۲، توس، کویر، نیک نژاد، نوید، زاگرس، شیراز، تجن، کرج ۱، هیرمند، گاسکوژن، گاسپارد، روشن، قدس، شیرودی، زرین، پیشتاز، شهریار، آزادی، Mv17، کراس البرز، امید، اترک، کرج۳، چمران، مهدوی، بک کراس روشن، مرودشت، آذر ۲، الموت، فلات، طبسی.

1- Shannon's Information index 2- Effective number of alleles 3- Observed number of alleles
4- Nei's (1973) gene diversity

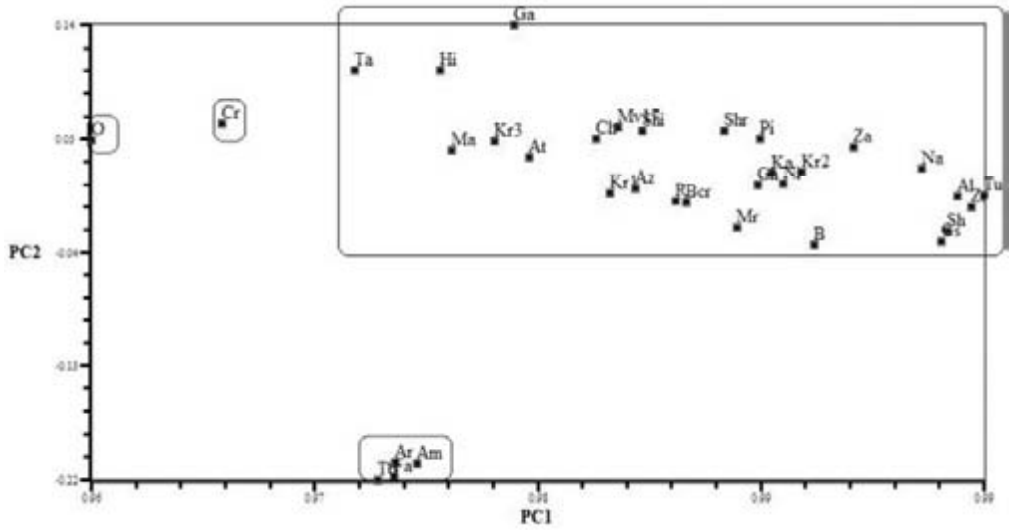


شکل۲: دندروگرام بدست آمده از روش UPGMA و ضریب نی در ۳۴ واریته ی گندم با استفاده از نشانگر مولکولی AFLP

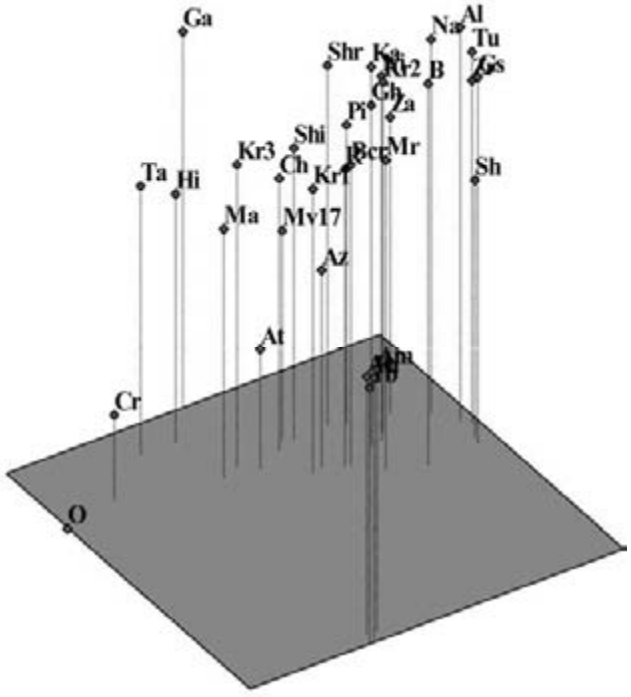
تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی[1]: PCA یکی از روش‌های چند متغیره برای گروه بندی بر پایه ی ضریب تشابه یا واریانس/ کوواریانس در بین داده‌ها می‌باشد، که اطلاعات مفید تری دربارهٔ تمایز گروه‌های اصلی ارائه می‌کند (بوتینی، ۲۰۰۲). نمودار دو بعدی PCA که جهت گروه بندی و بررسی روابط بین نمونه‌ها رسم شد (شکل ۳) واریته‌ها را به ۴ گروه اصلی مطابق آنچه در دندروگرام UPGMA وجود داشت، تقسیم بندی نمود. گروه‌بندی واریته‌ها به دلیل تفاوتهای بسیار جزیی بین آنهاست، زیرا نمونه‌ها دارای شباهت ژنتیکی زیادی می‌باشند. نمودار سه بعدی پراکنش نمونه‌ها، به خوبی تنوع ژنتیکی اندک بین واریته‌ها را نشان داد (شکل۴). نتایج حاصل از نرم افزار Statistica نیز بر هم پوشانی ارقام مورد مطالعه و تنوع ژنتیکی اندک بین نمونه‌ها دلالت داشت (شکل آورده نشده است).

نتایج حاصل از ماتریس شباهت ژنتیکی بر مبنای ضریب Nei، با دامنهٔ شباهتی حدود ۰/۹۹-۰/۹۱ و همپوشانی مشاهده شده بین نمونه‌ها در نمودارهای توزیع دو بعدی و سه بعدی PCA، حاکی از شباهت بسیار زیاد ارقام و لاین‌های مورد بررسی است. با توجه به نتایج فوق و پایین بودن شاخص تنوع شانون (۰/۳۱)، می‌توان گفت که، سطح تنوع ژنتیکی بین واریته‌های گندم بسیار محدود و نزدیک به یکدیگر می‌باشد. تنوع ژنتیکی محدود بر این نکته دلالت دارد که به احتمال زیاد ژنوتیپ‌ها دارای منشأ یکسان می‌باشند. با توجه به درصد بالای خود باروری در گندم و پیچیدگی ژنوم انتظار می‌رفت که تغییرات در بین ارقام و خصوصاً لاین‌های مورد بررسی پایین باشد. تمامی ارقامی که در زیر گروههای مشابه قرار گرفته‌اند از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار نبوده و گسترش پایه ی ژنتیکی واریته‌ها نیازی اساسی و جدی است. شواهد موجود نشان دهنده‌ی فرسایش ژنتیکی شدید ارقام گندم بوده که این امر ناشی از این است که در طی چند دهه ی گذشته و به ویژه پس از انقلاب سبز تا کنون، از میان تعداد زیاد ارقام زراعی اصلاح شده در کشور، تنها تعداد محدودی به عنوان رقم اصلی کشت می‌شوند. در بررسی

1- Principal Co-ordinate Analysis



شکل۳: گروه‌های مشتق شده از PCA در نمودار دو بعدی



شکل۴: نمودار سه بعدی حاصل ازPCA

تنوع اکوسیستم گونه و واریته‌های گیاهان زراعی کشور، مشخص شد که به طور کلی دو نظام زراعی اصلی در کشور متمایز است که یکی مبتنی بر گندم و دیگری مبتنی بر برنج می‌باشد. نظام مبتنی بر گندم نظام غالب در کشور بوده که به جز استانهای حاشیه ی دریای خزر در سایر مناطق کشور توسعه یافته است. نظام کشاورزی مبتنی بر گندم یک نظام تک کشتی مداوم بوده که کلیه اعمال زراعی از قبیل کود پاشی ، تناوب و .... در جهت تولید هر چه بیشتر گندم به کار می‌رود. (۱۱). این نظام‌ها بر تولید بیشتر از طریق گسترش سیستم‌های پرنهاده و گرایش به سمت تک کشتی و استفاده ی وسیع از واریته‌های پر محصول تأکید دارد که باعث حذف تنوع ژنتیکی و در نتیجه بی ثباتی و نوسانات شدید عملکرد می گردد. برای مثال ٪۸۴ سطح زیر کشت گندم در کشور تنها مربوط به ۱۰ واریته می‌باشد و دو رقم فلات و قدس به تنهایی ٪۲۹ سطح زیر کشت گندم را به خود اختصاص می‌دهند (۱۱). از آنجا که ایران یکی از مراکز تنوع گندم به شمار می‌رود (۶)، جستجو در جهت یافتن ژرم پلاسم‌های متنوع تر یک نیاز اساسی و جدی است. با وجود اینکه در اغلب موارد انتخاب والدین برای تهیه ی یک لاین خالص یا یک رقم هیبرید بر اساس عملکرد والدین و میزان تکمیل شوندگی صفات مهم زراعی صورت می گیرد، ولی اطلاع از تنوع ژنتیکی والدین جهت نیل به تفکیک‌های متجاوز در نتاج امری ضروری به شمار می‌رود. شاخص‌های تشابه ارقام زراعی گندم زیر کشت در کشور نشان می‌دهد که بین استانهای مختلف کشور شباهت زیادی از نظر ارقام زیر کشت گندم وجود دارد و این شباهت بین استانهای مجاور که از ویژگی اقلیمی نسبتاً مشابهی بر خوردارند بیشتر است. بنابراین همانطور که انتظار می‌رود تنوع ژنتیکی واریته‌ها ثابت مانده است (۱۱). رقم زیر مجموعهٔ گونه در طبقه بندی تاکسونومیک است که جهت مشخص کردن

گروهی از افراد که از افراد گروه‌های دیگر گونه از نظر ژنتیکی مجزا هستند، به کار می‌رود (۱۳). این در حالی است که با توجه به نتایج مطالعه ی حاضر می‌توان گفت که واریته‌های مورد بررسی، بسیار شبیه یکدیگر بوده و تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین آنها دیده نمی‌شود و احتمال می رود که فقط در یک یا تعداد معدودی ژن با هم متفاوت باشند.

یکی از پیامدهای اجتناب ناپذیر کشاورزی نوین که مبتنی بر استفاده از ارقام اصلاح شده با بیشترین عملکرد و کیفیت قابل قبول است، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی می‌باشد. در حال حاضر نگرانی اصلی، کاهش سریع تنوع ژنتیکی ارقام زراعی در تمام دنیاست. تنوع ژنتیکی وسیع برای یک رقم جایی به وجود می‌آید که یک گیاه زراعی برای مدت طولانی در آنجا کشت شده و ارقام زراعی اصلاح شده توسط اصلاحگران، مورد استفاده قرار نگرفته باشد (۱۳). باریک بودن دامنهٔ تنوع ژنتیکی، ما را متوجه خطر بزرگتری می‌نماید و آن آسیب پذیری ژنتیکی گندم در کشور است، زیرا در صورت بروز کوچکترین خطری مثل اپیدمی یک بیماری تمامی ارقام کشت شده از بین رفته و ضررهای جبران ناپذیری به دنبال خواهد داشت. از طرف دیگر عدم وجود تنوع کافی در والدین مورد استفاده برای تشکیل جمعیت‌ها از طریق هیبریداسیون، ممکن است منجر به کاهش تنوع ژنتیکی برای صفات کمی مثل عملکرد شده و در نتیجه بهبود صفت مشکل یا غیر ممکن گردد (۱۳).

توده‌های بومی اولیه منابع بسیار با ارزشی از تنوع ژنتیکی برای اصلاح یک گونه ی زراعی می‌باشند، و اغلب قادر به استقامت در شرایطی هستند که واریته‌های مدرن در آن شرایط به شدت آسیب می‌بینند از اینرو ثبات عملکرد بهتری از خود نشان می‌دهند. بالاترین ارزش این توده‌های بومی برای بشر در حال و آینده، اساساً به خاطر ژن‌هایی است که در آنها وجود دارد، چه ژن‌هایی که مقاومت به بیماری، کیفیت مواد غذایی و سازگاری به شرایط نامساعد را کنترل می‌کنند و چه آنهایی که در حال حاضر ناشناخته و در آینده می‌توانند بسیار با ارزش باشند. با جایگزین کردن و به دنبال آن از بین رفتن واریته‌های اولیه، تنوع ژنتیکی موجود در آنها نیز از بین می‌رود. برای جلوگیری از چنین زیانهایی ذخیره کردن واریته‌های اولیه ضروری می‌نماید (۷). با تهیه‌ی ارقام اصلاح شده و ارائه‌ی آنها به زارعین توده‌های بومی به سرعت در حال از بین رفتن هستند و این زنگ خطری برای سیستم‌های کشاورزی به شمار می‌آید. مشخص نشده است که پذیرش گستردهٔ ارقام گندم بهارهٔ پاکوتاه مکزیکی در آسیا که مرکز تنوع این گونه است موجب حذف سریع بسیاری از توده‌های محلی این گیاه زراعی در برخی مناطق شده است (۴).

منابع

۱- اچ. اس. چاولا. اصول بیوتکنولوژی گیاهی. (ترجمه فارسی، م.،و ذوالعلی، ج. ۱۳۸۲. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد .

۲- ایران نژاد، ح.، و شهبازیان، ن. ۱۳۸۴. زراعت غلات. جلد اول. دانشگاه تهران، مجتمع آموزش عالی ابوریحان.

۳- تاج بخش، م.، و پور میرزا، ع.الف. ۱۳۸۲. زراعت غلات. انتشارات جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی.

۴- ساتوره- اسلافر. گندم : اکولوژی، فیزیولوژی و بر آورد عملکرد. (ترجمه کافی، م. جعفر نژاد، الف. جامی الاحمدی، م. ۱۳۸۳. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد .

۵- سعیدی، ع.، اکبری، ع.، بختیار، ف.، مهرور، م.، و ناطق، ز. ۱۳۸۴. مشخصات ارقام گندم نان، گندم دوروم، جو، تریتیکاله و چاودار معرفی شده توسط بخش غلات (۱۳۸۲-۱۳۰۹). نشر آموزش کشاورزی.

۶- سید طباطبایی، الف.، و شاه نجات بوشهری، ع. ۱۳۸۰. ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف گندم با نشانگرهای AFLP. مجله ی علوم کشاورزی ایران، ۳۲ (۲): ۶۰۷-۶۱۲.

۷- عبدمیشانی، س.، شاه نجات بوشهری، ع. ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی (بیوتکنولوژی گیاهی). انتشارات تهران.

۸- فاضلی نسب، ب.، نقوی، م. ح.، مردی، م.، و یزدی صمدی، ب. کاظمی، م. ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی و روابط ارقام گندم ایران با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره. مجله ی علوم کشاورزی ایران.۳۳ (۲) : ۳۳-۴۷.

۹-کوچکی، ع.، نصیری، م.، جهان بین، غ.، و زارع فیض آبادی، الف. ۱۳۸۳. تنوع واریته های گیاهان زراعی در ایران. مجله ی بیابان، ۹ (۱): ۶۷-۴۹.

۱۰- مندولکانی، ب.، سید طباطبایی، الف.، شاه نجات بوشهری، ع.، قنادها، م.، و امیدی، م. ۱۳۸۲. مطالعه ی روابط خویشاوندی و تنوع ژنتیکی ارقام و لاین های گندم (*Triticum aestivum*) با نشانگرهای مولکولی RAPD. مجله ی علوم کشاورزی ایران، ۳۴ (۲): ۴۴۷-۴۵۴.

۱۱- نصیری، م.، کوچکی، ع.، و مظاهری، د. ۱۳۸۴. تنوع گونه‌های زراعی در ایران. مجله ی بیابان، ۱۰(۱) : ۳۳-۵۰.
۱۲- نقوی، م. ح.، قره یاضی، ب.، و حسینی سالکده، ق. ۱۳۸۴. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
۱۳- والتر آر. فهر.۱۳۸۳. اصول ایجاد ارقام زراعی. (ترجمه زینالی، ح و همکاران). چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران.

14-Arabi, M.I.E. & Shoaib, A. 2006. Genetic diversity among syria cultivated and landraces wheat revealed by AFLP markers. Journal of Genetic Resources and Crop Evolution, 53 (5): 901-906.
15-Barrett, B.A. & Kidwell, K.K. 1998. AFLP_based genetic diversity assessment among wheat cultivars from the pacific northwest. Journal of Crop Science, 38(5): 1261-1271.
16-Blake, T., Singh, M., Chabane, K. & Valkoun, J. 2006. Optimum sample size for estimating gene diversity in wild wheat using AFLP markers. Journal of Genetic Resources and Crop Evolution, 53 (1): 23-33.
17-Bottini, M.C.J., Bustos, A., Jouve, N. & Poggio, L. 2002. AFLP characterization of natural population of Berberis in Patagonia, Argentina. Journal of Plant Systematic and Evolution, 231: 133- 142.
18-Incirli, A. Bilgic, H. & Akkaya, S. 2001. Assessment of polymorphic AFLP in triticum durum and aegilops sp. Turkish Journal of Biology, 25(3): 291-299.
19-Kumar, L. S. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. Biotechnology Advances. 17: 143-182.
20-Martos, V. Royo, C. Rharrabti, Y. & Moral, G. 2005. Using AFLP determine phylogenetic relationships and genetic erosion in durum wheat cultivars released in Italy and Spain throughout the 20th century. Journal of Field Crops Research, 91 (1): 107-116.
21-Muller, UG. & Wolfenbarger, LLR. 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Journal of TREE*, 14: 389-394.
22-Samuel, P., Phillipe, L., & Richard, W. 2002. AFLP in *Triticum aestivum* L.: patterns of genetic diversity and genome distribution. Journal of Euphytica, 125: 89-102.
23-Saghai-Maroof, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A. & Allad, R.W. 1984. DNA spacer length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. (81). Pp: 8014-8018.
24-Tian, Q., Zhou, R. & Jia, J. 2005. Genetic diversity trend of common wheat (*Triticum aestivum* L.) in China revealed with AFLP markers. Journal of Genetic Resources and Crop Evolution, 52 (3): 325-331.
25-Vos, P., Hogers, R., Bleeker & et al. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407-4414.
26-Yeh, F. C., Yong, R. C. and T. Boyle. 1999. POPGEN, the user-friendly shanewave for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology center, University of Alberta, Canada. http://www.alberta.Cal~tyeh.

The study of genetic diversity in varieties and lines of bread wheat (*Triticum aestivum*), using AFLP molecular markers

F. Sabzeali, S. H. Marashi, M. Nassiri, H. R. Kavusi[1]

Abstract

Bread wheat (*Triticum aestivum*) has the highest cultured area and production in Iran, but in recent years it looks that as a result of introduction of commercial and breeder varieties diversity of wheat varieties has been reduced. In this study AFLP molecular marker was used to investigate genetic variation of 34 wheat varieties and advanced lines and also to evaluate relationship existing within them. Seven pairs of primer combinations of *Eco*RI/*Tru*1I yielded 351 scorable bands out of which 129 bands were polymorphic. Average genetic similarity based on Nei coefficient was estimated as 0.96. Dendrogram obtained from UPGMA method specified four main groups for these 34 varieties and lines, subsequently confirmed by PCA analysis. The results indicated low level of genetic variation within commercial variesties cultivated in the country. Limited range of genetic variation suggests that the genotypes are probably of same origin and more attention should be paid for extending genetic variation of wheat varieties.

Key words: Bread wheat, AFLP marker, genetic diversity, polymorphism

1- Contribution from Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.