نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و یکم، شماره اوّل، ۱۳۹۳
http://jopp.gau.ac.ir

ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم‌های دیپلوئید *Triticum urartu* براساس داده‌های ریخت‌شناختی و نشانگرهای RAPD

***امیر عزیزیان[۱]، بهمن یزدی‌صمدی[۲]، جواد مظفری[۳]، علی‌اکبر شاه نجات بوشهری[۴] و محمدرضا نقوی[۴]**

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران، [۲]استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران،
[۳]دانشیار بخش پژوهش‌های ژنتیک و ذخائر توارثی گیاهی ایران، [۴]دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۳۱

چکیده

در این آزمایش تنوع ژنتیکی در ۲۲ مورفوتیپ گندم دیپلوئید *T. urartu* (ژنوم AA) با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای RAPD بررسی گردید. ارزیابی‌ها بر اساس ۱۷ صفت ریخت‌شناسی و زراعی انجام شد و متغیرهای آماری صفات زراعی شامل پراکندگی و تنوع محاسبه گردید. نتایج نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالایی برای اکثر صفات مورد مطالعه بود. در مطالعات زراعی و ریخت‌شناسی تشابه موجود بین مورفوتیپ‌ها با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی به‌دست آمد. دندروگرام بر اساس روش UPGMA ترسیم شد. نتایج تجزیه خوشه‌ای مورفوتیپ‌های جمع‌آوری شده از اردن و سوریه را از مورفوتیپ‌های جمع‌آوری شده از ایران، ترکیه و عراق متمایز کرد. در ارزیابی‌های مولکولی DNA نیز ۱۲ آغازگر RAPD چندشکلی بین مورفوتیپ‌ها نشان دادند، و ۱۱۲ باند تولید شد که ۷۵ باند (٦٧ درصد) در بین مورفوتیپ‌ها چندشکل بودند. تجزیه خوشه‌ای نشانگرهای RAPD براساس حضور و عدم حضور باند با استفاده از ضریب تشابه جاکارد مبتنی‌بر روش UPGMA انجام گرفت. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که روابط ژنتیکی مورفوتیپ‌ها براساس نشانگر RAPD تبعیتی از فواصل جغرافیایی ندارد. مقایسه دندروگرام براساس دو روش مورد ارزیابی[۱]

*نویسنده مسئول: azizian_amir@yahoo.com

نشان داد که کارایی نشانگرهای RAPD نسبت به صفات مورفولوژیک در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم *T. urartu* بهتر می‌باشد. همچنین همبستگی ضعیفی بین ماتریس‌های حاصل از تجزیه و تحلیل‌های ریخت‌شناسی و مولکولی مشاهده شد (R=۰/۲۱) و از آن‌جایی‌که این دو روش جنبه‌های متفاوتی از تنوع ژنتیکی *T. urartu* را اندازه‌گیری می‌کنند، استفاده از هر دو روش ارزیابی ریخت‌شناسی و نشان‌گرهای ملکولی (RAPD) در ارزیابی تنوع ژنتیکی اطلاعات مفیدی ایجاد نموده و تکمیل کننده هم می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی گندم، ژنوم A، *T. urartu*، نشانگرهای زراعی و ریخت‌شناسی، RAPD

مقدمه

گیاه *Triticum urartu* (۲n=۲x=۱٤ AA) از خویشاوندان وحشی و منشاء ژنوم A گندم‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید می‌باشد (لاوس و هامریک، ۱۹۸٤؛ کربی و کوسپیا، ۱۹۸۷؛ روبین و براون، ۲۰۰۰؛ خلستکینا و سالینا، ۲۰۰۱). خویشاوندان وحشی گندم نقش عمده‌ای جهت دسترسی به ژن‌های مفید برای اصلاح گندم و ایجاد تنوع ژنتیکی در آن دارند (پارمیندر و همکاران، ۱۹۹۵). این ایده اولین بار توسط آرونسون در سال ۱۹۱۳ پیشنهاد شد (فیلدمن و سیرس، ۱۹۸۱). به‌این ترتیب که جمعیت‌های طبیعی، تنوع ژنتیکی بالایی برای ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بسیاری از صفات اقتصادی مهم دارند و برای توسعه و نگه‌داری خزانه ژنی جهت بهره‌برداری مؤثر از این منابع باید مقدار تنوع برآورد گردد (طالعی و بهرام‌نژاد، ۲۰۰۳؛ سمیعی، ۲۰۰۳). ارزیابی مقدار و ساختار پتانسیل تنوع ژنتیکی یک خزانه ژنی، گام اول در بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی و شناسایی منابع مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده محسوب می‌گردد (شفاالدین و یزدی صمدی، ۱۹۹٤). تا سه دهه قبل مطالعات بررسی تنوع ژنتیکی، روابط ژنتیکی و طبقه‌بندی گیاهان عموماً مبتنی‌بر تنوع ریخت‌شناسی و فیزیولوژی گیاهی بود، اما پس از آن نشان‌گرهای مولکولی مانند پروتئین‌ها و DNA که از دقت و حساسیت بیشتری برخوردار بودند نقش مهمی در مطالعات سیستماتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی پیدا کردند. امروزه به‌خوبی مشخص شده است که انجام مطالعات تکمیلی مبتنی‌بر ارزیابی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی در کنار هم اطلاعات جامع‌تر و دقیق‌تر و قابل اعتمادتری را ایجاد می‌کند (اوناریسی و سیبل، ۲۰۰۳). تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف گندم از جمله *T. urartu* به‌وسیله نشانگرهای ریخت‌شناسی و

زراعی (واینس و بارنهارت، ۱۹۹۲؛ زاهاریوا و همکاران، ۲۰۰۳؛ نبوتی و همکاران، ۲۰۱۰)، پروتئین‌های ذخیره‌ای بذر (واینس و پاین، ۱۹۸۷؛ سیافی و همکاران، ۱۹۹۷؛ لی و همکاران، ۱۹۹۹؛ اکبری‌راد و همکاران، ۲۰۰۹) و نشانگرهای مبتنی‌بر DNA از جمله «DNAی چندشکلی تکثیر شده تصادفی» یا RAPD (بحرایی، ۱۹۹٦؛ چابان و همکاران، ۱۹۹۸؛ خلستکینا و سالینا، ۲۰۰۱؛ اقبال و همکاران، ۲۰۱۲؛ دشتی و همکاران، ۲۰۰۹؛ آلویی محجوب و همکاران، ۲۰۱۲) انجام شده است. با توجه به سرمایه عظیم منابع ژنتیکی گندم در کشور لازم است با ارزیابی‌های دقیق ریخت‌شناسی و مولکولی، منابع ارزشمند صفات زراعی مانند مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده شناسایی و در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند. گونه‌های دیپلوئید خویشاوند گندم مانند *T. urartu* منابع ژنی بسیار سودمندی دارند که می‌توانند در اصلاح عملکرد و کیفیت گندم مؤثر باشند. در این راستا لازم است تنوع ژنتیکی در این منابع برای برنامه‌های اصلاحی در آینده بررسی گردد. در این پژوهش با ارزیابی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی اهداف ذیل مورد بررسی قرار گرفت: ۱- ارزیابی تنوع ژنتیکی در گونه گندم *T. urartu* و ۲- مقایسه کارایی ارزیابی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی با استفاده از نشان‌گرهای مولکولی RAPD.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این پژوهش تعداد ۲۱ توده از گندم‌های گونه *T. urartu* که در بانک ژن گیاهی ملی ایران نگهداری می‌شوند، بررسی شدند. این توده‌ها عموماً از ایران و بقیه از ترکیه، عراق، اردن و سوریه جمع‌آوری شده بودند. از آن‌جایی‌که توده‌های جمع‌آوری شده ممکن است دارای مورفوتیپ‌های مختلفی باشند، توده‌ها از نظر صفات مورفولوژیک و فنولوژیک از جمله ارتفاع بوته، طول ریشک، رنگ سنبله، تاریخ گلدهی و غیره بررسی شدند، که تنها در توده TN ۱۱٦ ناخالصی مشاهده گردید و به‌صورت دو مورفوتیپ TN ۱۱٦-۱ و TN ۱۱٦-۲ در آزمایش‌های وارد شدند. در نهایت ۲۲ مورفوتیپ حاصل شد که در جدول (۱) شماره و محل جمع‌آوری آن‌ها نشان داده شده است.

جدول ۱- برخی اطلاعات شناسنامه‌ای مورفوتیپ‌های مورد ارزیابی گندم *T. urartu*.

ردیف	شماره	محل جمع‌آوری	ارتفاع	ردیف	شماره	محل جمع‌آوری	ارتفاع
۱	KC۵۵۰۵۲	سنندج	۳۶۱۳	۱۲	TN۱۱۶-۱	اردن	۳۰۳۷
۲	KC۵۵۰۴۸	پاوه	۳۴۴۰	۱۳	KC۵۵۰۴۹	پاوه	۳۴۴۵
۳	TN ۱۳۸	عراق	۳۶۲۱	۱۴	KC۵۵۰۴۵	ایلام	۳۳۴۹
۴	TN ۱۱۶-۲	اردن	۳۰۳۷	۱۵	KC۵۵۰۴۳	خرم‌آباد	۳۳۴۶
۵	TN ۱۳۱	ترکیه	۳۸۲۶	۱۶	KC۵۵۰۵۵	سقز	۳۶۰۳
۶	KC۵۵۰۴۷	اسلام‌آباد	۳۴۰۴	۱۷	KC۵۵۰۴۴	ایلام	۳۳۵۸
۷	KC۵۵۰۵۰	پاوه	۳۴۴۳	۱۸	KC۵۵۰۵۴	سقز	۳۶۰۴
۸	KC۵۵۰۵۳	مهاباد	۳۶۰۶	۱۹	KC۵۵۰۴۶	ایلام	۳۳۵۶
۹	TN۱۲۷	ترکیه	۳۶۴۴	۲۰	TN ۱۱۵	اردن	۳۰۳۷
۱۰	TN ۱۱۱	اردن	۳۰۴۳	۲۱	TN ۱۰۷	اردبیل	۳۸۳۵
۱۱	TN ۱۳۳	سوریه	۳۲۲۹	۲۲	TN ۳۰۸	کردستان	----

از هر توده حدود ۳۰-۲۰ بذر پس از ضدعفونی با سم بنومیل در شهریور ماه ۱۳۸۱ در گلدان‌های کاغذی کاشته شد و جهت تأمین نیاز سرمایی و بهاره‌سازی در مرحله ۲ تا ۳ برگی به‌مدت شش هفته در دمای ۱۰-۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به گلدان‌هایی به قطر ۱۴ سانتی‌متر مربع منتقل شدند و در هر گلدان ۳ بوته کشت گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار (هر دو گلدان یک تکرار) در گلخانه بخش پژوهش‌های ژنتیک بانک ژن گیاهی ملی ایران- کرج اجرا شد. دمای گلخانه در حدود ۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و نوردهی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی اعمال شد. گلدان‌ها هر ۵ روز آبیاری شدند.

مطالعات زراعی و ریخت‌شناسی: ارزیابی تنوع ژنتیکی در گندم *T. urartu* با تجزیه و تحلیل آماری برای داده‌های ۱٤ صفت زراعی و ٤ صفت ریخت‌شناسی در سال ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲ بررسی گردید. صفات زراعی مورد مطالعه در این پژوهش عبارت بودند از: ارتفاع گیاه، طول برگ پرچم، طول پدانکل، قطر پدانکل، طول سنبله، طول ریشک، نسبت طول ریشک به طول سنبله، تعداد سنبلچه در سنبله، تعداد دانه در سنبله، تعداد پنجه، تعداد گره، وزن صد دانه (گرم)، تعداد روز تا رسیدگی (روز). صفات ریخت‌شناسی عبارت بودند از رنگ بذر، رنگ گلوم، کرک گلوم و شدت تراکم سنبله که براساس روش

امتیازبندی مطابق دیسکریپتور بین‌المللی گندم (۱۹۸۵) انجام شد.

مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگر RAPD: استخراج DNAی ژنومی از برگ‌های جوان نمونه‌های گیاهی مورد بررسی به روش دویل و دویل (۱۹۸۵) استخراج شد. واکنش‌های RAPD-PCR نیز بر مبنای روش ویلیامز و همکاران (۱۹۹۳) در حجم ۲۵ میکرولیتری شامل: ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۲/۵ میکرومولار آغازگر، ۲۰۰ میکرومولار از هر یک از dNTPs، بافر ۱۰x، و یک واحد آنزیم DNA پلیمراز انجام گرفت. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر Techne انجام شد. قبل از شروع چرخه‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، برای شروع واسرشت‌سازی DNA محلول واکنش به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس الگوهای هدف طی ٤۰ چرخه حرارتی شامل سه مرحله: ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۳۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه و سرانجام یک چرخه جهت تکمیل بسط DNA در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦ دقیقه، تکثیر شدند. سپس نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت الکتروفورز شدند.

محاسبات آماری داده‌ها: به‌منظور اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی دوری و نزدیکی مورفوتیپ‌های مورد بررسی از روش دسته‌بندی خوشه‌ای استفاده شد. در مطالعات زراعی و ریخت‌شناسی تشابه موجود بین مورفوتیپ‌ها با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی به‌دست آمد. دندروگرام بر اساس روش UPGMA توسط نرم‌افزار NTSYS pc-2.02 ترسیم شد. همچنین در مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگرهای RAPD، وزن باندها توسط نرم‌افزار PhotocaptMW تعیین شد و برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بین مورفوتیپ‌های مورد مطالعه، حضور و عدم حضور یک باند DNA واضح، در یک فاصله مشخص از ته چاهک با انتساب به‌ترتیب ۱ و صفر مشخص شد. تجزیه و تحلیل‌های تشابه برای به‌دست آوردن فواصل ژنتیکی یا میزان تشابه ژنتیکی انجام گرفت و بر اساس این ضرایب تجزیه آماری صورت گرفت. ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه جاکارد تشکیل شد. ضریب تشابه جاکارد در اندازه‌گیری میزان تشابه، تنها باندهایی را در نظر می‌گیرد که در هر دو فرد وجود داشته باشد (فرشادفر، ۲۰۰۱). تجزیه کلاستر بر اساس روش UPGMA توسط نرم‌افزار NTSYS pc 2.02 (رولف، ۱۹۹۸) ترسیم شد. همچنین برای ارزیابی دقیق‌تر تنوع ژنتیکی، میانگین تنوع ژنتیکی نی (H) (نی، ۱۹۷۳) و شاخص شانون (I) (لونتین، ۱۹۷۲) و میانگین فاصله ژنتیکی (نی، ۱۹۸۷) برای داده‌های مولکولی RAPD توسط نرم‌افزار Popgene, Ver. 1.31 (جدول ۵) محاسبه شد.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل تنوع ریخت‌شناسی: ارزیابی تنوع ژنتیکی در گندم *T. urartu* با تجزیه و تحلیل آماری بر روی داده‌های ١٤ صفت زراعی و ٤ صفت ریخت‌شناسی در سال ١٣٨١ و ١٣٨٢ بررسی گردید. بر روی داده‌های کمی تست کوملوگروف و سیمیروف بر روی باقیمانده مدل آزمایشی، انجام شد که تمام داده‌ها دارای توزیع خطای آزمایشی نرمال بودند. آماره‌های توصیفی نظیر میانگین، دامنه تغییرات، انحراف معیار و ضریب تغییرات فنوتیپی (در جدول ٢) آورده شده است که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالایی برای اکثر صفات مورد مطالعه بود. نتایج متغیرهای آماری بر روی داده‌های مربوط به صفات زراعی (جدول ٢) نشان می‌دهد که بالاترین مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی به‌ترتیب مربوط به صفات نسبت طول ریشک به طول سنبله (٤٢/٢٢ درصد)، طول برگ پرچم (٣٨/٨٥ درصد) و طول ریشک (٣٦/٥١ درصد) می‌باشد. پایین‌ترین ضریب تغییرات فنوتیپی مربوط به صفت طول دوره رسیدگی (٢/٨٨ درصد) می‌باشد. همچنین در صفات ریخت‌شناسی (جدول ٣) رنگ بذر سفید، تراکم سنبله متوسط، گلوم قرمز رنگ و با پوشش کرک کم درصد فراوانی بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند.

جدول ٢- پارامترهای آماری صفات زراعی در مورفوتیپ‌های *T. urartu* مورد بررسی.

صفت	میانگین	انحراف معیار	دامنه تغیرات	درصد ضریب تغیرات	صفت	میانگین	انحراف معیار	دامنه تغیرات	درصد ضریب تغیرات
طول ریشک	٤/١٩	١/٥٣	٧/٨-١/٢	٣٦/٥١	ارتفاع بوته	٦٩/٨٧	١١/٣٤	١٠٢/٥-٤٨	١٦/٢٣
طول سنبله	٩/٣٦	١/٤٥	١٣/٢-٦/٥	١٣/٥٧	طول پدانکل	٢١/٥٠	٥/٧٠	٣٥/٥-٨/٣	٢٦/٥١
طول ریشک به سنبله	٠/٤٥	٠/١٩	٠/٩-٠/١	٤٢/٢٢	قطر پدانکل	١/٠٧	٠/١٥	١/٦-٠/٨	١٤/٠١
طول محور سنبله	٩/٤٤	١/٤٢	١٣/٢-٦/٧	١٥/٠٧	طول برگ پرچم	١١/٧١	٤/٥٥	٢٥-٦	٣٨/٨٥
تعداد بذر در سنبله	٢٦/٦٣	٨/١٩	٤٨-١٥	٣٠/٧٥	تعداد گره	٥/٣٢	٠/٩٦	٧-٣	١٨/٠٤
تعداد سنبلچه در سنبله	٢٣/١٥	٣/٥٠	٣٢-١٩	١٥/١١	تعداد پنجه	٤/٢٧	٠/٦٥	٦-٣	١٥/٢٢
وزن صددانه	١٩/٩٧	١/٧٥	٢٣/٨-١٦/٧	٨/٧٦	طول دوره‌رسیدگی	١٧٤/٤	٥/٠٣	١٧٩-١٦٣	٢/٨٨

جدول ۳- فراوانی صفات ریخت‌شناسی در نمونه‌های *T. urartu* مورد بررسی.

صفت	ارزش صفت	فراوانی (درصد)	ارزش صفت	فراوانی (درصد)
کرک گلوم	بدن کرک	۷۵/۵	کرک کم	۲٤/٤
رنگ گلوم	سفید	۵۳/٦	قرمز/ بنفش	٦٤/٤
رنگ بذر	سفید	٦۱/۸	قرمز	۳۸/۲
تراکم سنبله	متوسط	۵٦/٤	متراکم	٤۰

این نتایج با دیگر تحقیقات انجام شده بر روی گونه *T. urartu* و دیگر گونه‌های مختلف گندم مطابقت دارد. طاهرنژاد و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف *Aegilops tauschii* ایرانی با استفاده از صفات مورفولوژیکی کمترین میزان تنوع مربوط را برای تاریخ رسیدن (۷/٤ درصد) و بیشترین میزان تنوع مربوط به تعداد بذر در سنبلچه (۲۳/۱ درصد) محاسبه کردند. نقوی و همکاران (۲۰۰۲) در بررسی تنوع ذخائر توارثی گندم دوروم برای صفات طول سنبله ضریب تغیرات فنوتیپی برابر ۱٤ درصد، وزن هزار دانه ۱۰ درصد و طول پدانکل ۲۵ درصد، تعداد سنبلچه ۱۱ درصد و ناروئی‌زاد و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی روابط میان صفات مورفولوژیک توده‌های بومی گندم استان سیستان و بلوچستان برای صفات تعداد سنبلچه ضریب تغیرات فنوتیپی برابر ۱۲ درصد، قطر ساقه ۱۳ درصد، طول سنبله ۱۵ درصد و تعداد روز تا برداشت ۳ درصد را به‌دست آورند، که تا حدود زیادی نتایج آن‌ها شبیه نتایج فعلی می‌باشد.

تجزیه خوشه‌ای داده‌های مربوط به صفات زراعی و ریخت‌شناسی: نتایج تجزیه خوشه‌ای (شکل ۳) داده‌های مربوط به صفات زراعی و ریخت‌شناسی نشان می‌دهد که کمترین فاصله ژنتیکی (۲/٦۰۹) بین مورفوتیپ‌های ۲۰ از ایلام و ۸ از مهاباد می‌باشد. همچنین بیشترین فاصله ژنتیکی (۸/۹۳) بین مورفوتیپ‌های ٤ از اردن و ۱۸ از ایلام می‌باشد. برش دندروگرام حاصل از ارزیابی صفات ریخت‌شناسی و زراعی درفاصله ۵/۷۷ (فاصله معادل ۵۰ درصد از دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر) انجام گرفت. در این فاصله ٤ گروه حاصل گردید که شامل یک گروه یک نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ ۱۱ از سوریه، یک گروه ٤ نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ٤، ۱۰، ۱۲ و ۲۰ از اردن، یک گروه ٤ نمونه‌ای دیگر یعنی مورفوتیپ‌های ۵ از خرم‌آباد، ۹ و ۱۷ از ایلام و ۲۲ از اسلام‌آباد غرب و سرانجام گروه چهارم که شامل بقیه مورفوتیپ‌ها می‌باشد. همچنین دندروگرام حاصل از ارزیابی صفات ریخت‌شناسی و زراعی در فاصله ٦/۱ (فاصله معادل ۵٦ درصد از دامنه فواصل ژنتیکی حداقل

و حداکثر) انجام گرفت. در این فاصله دو گروه حاصل گردید که شامل یک گروه پنج نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۲، ۱۰، ۱۲ و ۲۰ از اردن و مورفوتیپ ۱۱ از سوریه و گروه دوم شامل بقیه مورفوتیپ‌ها می‌باشد. نتایج حاصل از ارزیابی صفات ریخت‌شناسی و زراعی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های مناطق جغرافیایی بسیار دور می‌تواند منطبق با تنوع جغرافیایی باشد. نتایج تحقیقات کوالست و اسپاگنولیتی (۱۹۸۷) برای تعیین تنوع جغرافیایی صفات سنبله در کلکسیون جهانی گندم دوروم، نشان داد که در صورت مشخص بودن مبدأ دقیق نمونه‌های مورد ارزیابی، تنوع جغرافیایی با تنوع ژنتیکی مطابقت خواهد داشت که شفاالدین و یزدی صمدی (۱۹۹٤) در تعیین تنوع ژنتیکی و جغرافیایی توده‌های بومی گندم نان ایران براساس صفات زراعی نتیجه مشابهی به‌دست آوردند. البته در تحقیقات مذکور برای توده‌های یک منطقه میانگین صفات محاسبه شده است. اما زاهاریوا و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی تنوع ریخت‌شناسی و زراعی توده‌های آژیلوپس تراپلوئید و طالعی و بهرام‌نژاد (۲۰۰۳) در بررسی تنوع ژنتیکی اجزاء عملکرد گندم‌های دوروم غرب ایران همبستگی بین مطالعات ریخت‌شناسی و زراعی توده‌ها با مناطق جغرافیایی مشاهده نکردند. در فاصله جغرافیایی زیاد به‌علت عدم مهاجرت بین توده‌ها جریان ژنی محدودتر خواهد بود. در نتیجه نیروهایی از قبیل جهش، رانده شدن ژنتیکی و احتمالاً گزینش با شدت بیشتری عمل کرده و باعث تفاوت ژنتیکی بالایی در بین توده‌ها خواهد شد اما در صورتی‌که فواصل جغرافیایی کمی بین توده‌ها وجود داشته‌باشد جابه‌جایی ژرم‌پلاسم باعث قرابت بین توده‌ها خواهد شد (لاولس و هامریک، ۱۹۸٤؛ پوجار و همکاران، ۱۹۹۹).

ارزیابی مولکولی تنوع با استفاده از نشانگر RAPD: برای بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای RAPD در گونه گندم *T. urartu* از ٦٥ آغازگر تصادفی ده نوکلئوتیدی از سری آغازگرهای تصادفی UBC، ۱۲ آغازگر که چندشکلی بهتری نشان دادند و محصولات آن‌ها وضوح کافی داشتند، انتخاب شدند. این آغازگرها درمجموع ۱۱۲ باند تولید کردند. ۷۵ عدد از این قطعات (٦۷ درصد) در بین ژنوتیپ‌ها چندشکل بودند. برای تجزیه آماری باندهایی در محدودهٔ ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز که دارای تکرارپذیری بالایی بودند انتخاب و در محاسبات وارد شدند. جدول (٤) لیست توالی و مشخصات آغازگرهای چندشکل را نشان می‌دهد. همچنین در شکل‌های ۱ و ۲ انگشت‌نگاری DNA نمونه‌ها به‌ترتیب با آغازگرهای UBC۸۵ و UBC۲۸٤ دیده می‌شود. نتایج داده‌های مربوط به مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگر RAPD نشان می‌دهد که در مورفوتیپ‌های گونه *T. urartu*، کمترین ضریب تشابه ژنتیکی (۰/۳۱۳) بین مورفوتیپ‌های ۳ از پاوه و ۱۱ از سوریه و بیشترین ضریب تشابه ژنتیکی (۰/۷۷۵)

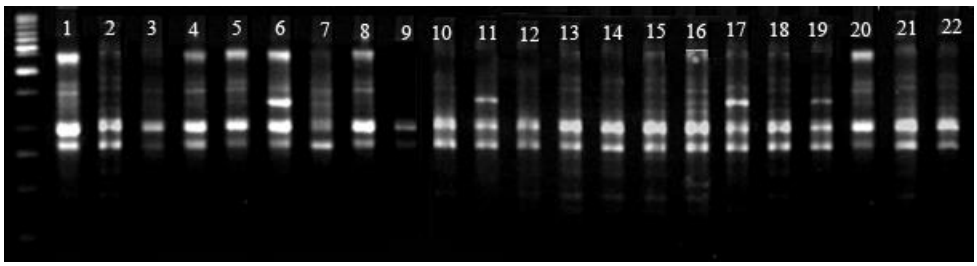
بین مورفوتیپ‌های ۸ از مهاباد و ۱۸ از ترکیه می‌باشد. میانگین ضرایب تشابه نیز ۰/۵۱۵ می‌باشد. ویرلینگ و نجوین (۱۹۹۲) دامنه ضرایب تشابه ۰/۶۸-۰/۳۲، بحرایی (۱۹۹۶) دامنه ۰/۲۱۷-۰/۰۵۱ و کاستاگنا و همکاران (۱۹۹۷) دامنه ۰/۹۸۲-۰/۴۲۳ را در *T. urartu* گزارش کردند که کمتر از دامنه تغیرات ژنتیکی مشاهده شده (۰/۷۷۵-۰/۳۱۳) در این تحقیق می‌باشد. همچنین میانگین تنوع ژنی، میانگین شاخص شانون و میانگین فاصله ژنتیکی به‌ترتیب ۰/۲۱۰۹، ۰/۳۱۹۲ و ۰/۳۹۷۳ محاسبه گردید که نشان می‌دهد تنوع قابل ملاحظه‌ای برای مورفوتیپ‌های مورد مطالعه *T. Urartu* در این تحقیق وجود دارد. ایران خواستگاه و مرکز تنوع گندم می‌باشد (هارلن و زوهاری، ۱۹۶۶؛ دشتی و همکاران، ۲۰۰۹) و با توجه به این‌که اکثر توده‌های مورد بررسی در این پژوهش از نواحی غرب ایران می‌باشند، می‌توان نتیجه گرفت که غرب ایران دارای دامنه تغیرات ژنتیکی وسیعی برای گونه‌های *T. urartu* است. شیری و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گندم اینکورن *T. Boeoticum* و *T. urartu* نواحی غرب و شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای SSR مشاهده نمودند که جمعیت‌های مورد بررسی گندم اینکورن (ژنوم A) در استان‌های غربی ایران تنوع بیشتری در مقایسه با جمعیت‌های مربوط به استان‌های شمال غربی دارند. برش دندروگرام حاصل از داده‌های RAPD درفاصله ۵/۴۴ (فاصله معادل ۵۰ درصد از دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر) انجام گرفت (شکل ۳). در این فاصله ۵ گروه حاصل گردید که شامل یک گروه ۳ نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۹ و ۱۷ از ایلام و ۱۱ از سوریه، یک گروه ۳ نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۶ از کردستان، ۲۱ از اردبیل و ۱۶ از سقز، یک گروه ۷ نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۳ و ۲ از پاوه، ۱۸ از سقز، ۵ از خرم‌آباد، ۱۴ از ایلام و ۱۰ و ۱۲ از اردن، یک گروه ۳ نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۶ از کردستان، ۲۱ از اردبیل و ۱۶ از سقز، یک گروه تک مورفوتیپی یعنی مورفوتیپ ۷ از پاوه و سرانجام گروه چهارم که شامل بقیه مورفوتیپ‌ها می‌باشد. بنابراین نتایج حاصل از ارزیابی نشانگرهای RAPD نشان می‌دهد که روابط ژنتیکی مورفوتیپ‌ها تبعیتی از فواصل جغرافیایی ندارد که این امر در مطالعات قبلی در گندم *T. urartu* (بحرایی، ۱۹۹۶؛ کاستاگنا و همکاران، ۱۹۹۷) و نیز در سورگوم (آگراما و توینسترا، ۲۰۰۳) گزارش شده است. برای اندازه‌گیری نیکویی برازش خوشه‌بندی از آزمون کوفنتیک استفاده شد. در این آزمون همبستگی بین یک ماتریس به‌دست‌آمده از دندروگرام و ماتریس فاصله یا تشابه محاسبه می‌شود، که در این تحقیق ضریب کوفنتیک برای ضریب تشابه جاکارد برابر R=۰/۸۱ بود که نشان می‌دهد همبستگی خوبی بین ماتریس حاصل از دندروگرام و ماتریس فاصله وجود دارد.

جدول ٤- شماره و توالی آغازگرهای استفاده شده، تعداد باند تکثیر شده، تعداد باند چند شکل، درصد چندشکلی و ...

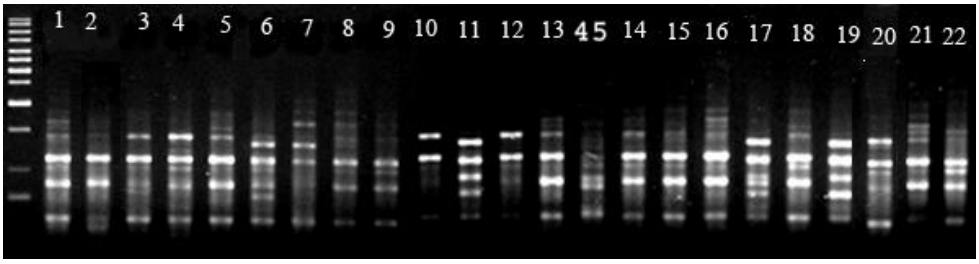
آغازگرها	توالی $(5' \rightarrow 3')$	تعداد کل باند تکثیر شده	تعداد باند چند شکل	درصد چند شکلی	اندازه باند تکثیر شده (bp)
UBC ١٣	5'-CCTGGGCTTC-3'	٩	٣	٣٣/٣	٢٨٠-٢٠٠٠
UBC ٥٥	5'-TCCCTCGTGC-3	١٠	٦	٦٠/٠	٣٥٠-٢٠٠٠
UBC ٦٤	5'-GAGGGCGGGA-3'	٥	١	٢٠/٠	٦٢٠-١٣٠٠
UBC ٨٥	5'-GTGCTCGTGC-3'	٥	٣	٦٠/٠	٨٠٠-١٥٠٠
UBC ١٠٠	5'-ATCGGGTCCG-3'	٩	٥	٥٥/٥	٢٧٠-١٤٨٠
UBC ١٦٩	5'-ACGACGTAGG-3'	١١	٧	٦٣/٦	٢٨٠-١٩٠٠
UBC ١٨١	5'-ATGACGACGG-3'	١٢	٩	٧٥/٠	٤٣٠-١٦٠٠
UBC ٢١٣	5'-CAGCGAACTA-3'	٧	٤	٥٧/١	٣٤٠-١٣٠٠
UBC ٢٥٤	5'-CGCCCCCATT-3'	١٤	١٢	٨٥/٧	٣٧٠-٢١٠٠
UBC ٢٦٢	5'-CGCCCCCAGT-3'	١١	١٠	٩٠/٩	٦٣٠-٢١٠٠
UBC ٢٨٤	5'-CAGGCGCACA-3'	١٠	٨	٨٠/٠	٤٢٠-١٥٠٠
UBC ٢٨٦	5'-CGGAGCCGGC-3'	٩	٧	٧٧/٨	٦٤٠-١٨٠٠
total	--	١١٢	٧٥	٠/٦٧	٢٦٠-٢١٠٠
Mean/ primer	--	٩/٣٣	٦/٢٥	--	--

جدول ٥- نتایج تجزیه تنوع ژنتیکی مورفوتیپ‌های گندم *T. Urartu* با استفاده از نشانگرهای RAPD.

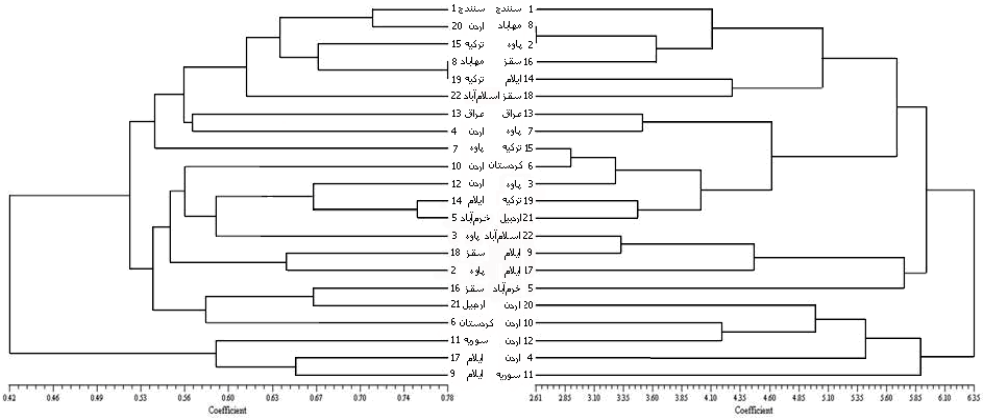
شاخص / جمعیت	میانگین تنوع ژنی (H)	میانگین شاخص شانون (I)	میانگین فاصله ژنتیکی (GD)	قطعات چند شکل	چند شکلی درصد
T. urartu	٠/٢١٠٩	٠/٣١٩٢	٠/٣٩٧٣	٧٥	٠/٦٧



شکل ١- الگوی نواری نمونه‌های مورد مطالعه برای آغازگر UBC٨٥.



شکل ۲- الگوی نواری نمونه‌های مورد مطالعه برای آغازگر UBC ۲۸٤.



شکل ۳- مقایسه دندروگرام حاصل از تجزیه صفات ریخت‌شناختی و زراعی (طرف راست) و دندروگرام حاصل از تجزیه مولکولی با استفاده از نشانگر RAPD (طرف چپ).

مقایسه تنوع ژنتیکی بر اساس صفات مورفولوژیک با تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگرهای RAPD:

در بررسی تنوع ژنتیکی در دو روش مذکور با مقایسه دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیک با دندروگرام حاصل از داده‌های RAPD مشاهده می‌شود که الگوی تنوع ژنتیکی در گونه *T. urartu* بر اساس دو روش مذکور متفاوت از همدیگر می‌باشد. البته در دو روش مورد مطالعه مورفوتیپ‌های ۹ و ۱۷ از ایلام و مورفوتیپ‌های ۱۰ و ۱۲ از اردن در کنار هم قرار می‌گیرند. همچنین چنانچه دندروگرام در هر دو روش در در فاصله ۵۰ درصد دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر برش داده شود، مورفوتیپ‌های ٦ و ۲۱، ۱ و ۸، ١٤ و ۱۸ و نیز مورفوتیپ‌های ۱۳ و ۱۵ با مورفوتیپ ۱۹ در گروه‌های یکسان قرار می‌گیرند. آزمون مانتل (مانتل، ۱۹٦۷) نیز برای تعیین ضریب همبستگی بین ماتریس‌های

حاصل از تجزیه و تحلیل‌های ریخت‌شناسی و مولکولی (RAPD) نشان داد که همبستگی ضعیفی بین ماتریس‌های حاصل از تجزیه و تحلیل‌های ریخت‌شناسی و مولکولی وجود دارد (R=۰/۲۱). دریکوند و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دیم، بین ماتریس تشابه داده‌های مولکولی و صفات مورفولوژیکی همبستگی منفی ولی غیر معنی‌داری مشاهده کردند. عباس و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های دیپلوئید و تتراپلوئید گندم دریافتند که شباهت ژنتیکی بر اساس داده‌های RAPD و داده‌های فنوتیپی با هم تفاوت دارند. گارسیا و همکاران (۲۰۰۲) در توت‌فرنگی، ریدای و همکاران (۲۰۰۳) در یونجه و داهلبرگ و همکاران (۲۰۰۲) در ژنوتیپ‌های سورگوم نیز همبستگی بین تنوع ژنتیکی بر اساس دو روش مذکور مشاهده نکردند. از دلایل عدم همبستگی یا همبستگی ضعیف بین نشان‌گرهای ریخت‌شناسی با مولکولی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:۱- کم بودن تعداد آغازگرها که احتمالاً سطح ژنومی را به‌خوبی پوشش ندهند و در نتیجه همبستگی ضعیفی بین ژن‌های کنترل کننده صفات ریخت‌شناسی با مولکولی خواهد بود. ۲- صفات ریخت‌شناسی تحت تأثیر محیط و یا اثرات متقابل ژنوتیپ و محیط قرا می‌گیرند و یا ممکن است در بروز آن‌ها اثرات غالبیت، اپیستازی و پلیوتروپی دخالت داشته باشد و یا ترکیبات آللی مختلف ممکن است فنوتیپ‌های مشابهی ایجاد نماید و در نتیجه تفاوت‌های ریخت شناسی منطبق با تفاوت‌های ژنتیکی نباشد. ۳- ممکن است صفات مورفولوژیک در مقایسه با توالی‌های RAPD دارای نسبت‌های مختلفی از تغییرات تکاملی باشد، به‌طوری‌که یک تغییر نوکلئوتیدی می‌تواند فنوتیپ RAPD را تغییر دهد اما مورفولوژی صفت ممکن است به دلایل سازگاری علی‌رغم وقوع جهش‌های تصادفی حفظ شود. ٤- بخش اعظم ژنوم موجودات یوکاریوت را نواحی غیر کدکننده تشکیل می‌دهد که در طی تکامل نیز در معرض جهش‌های بیشتری بوده‌اند. نواحی RAPD در توالی‌های کدکننده و غیر کدکننده وجود دارند، بنابراین بسیاری از نشان‌گرهای مولکولی که در نواحی غیر کدکننده ایجاد می‌شوند ممکن است با ژن‌های کدکننده پیوستگی نداشته باشند (نقوی و همکاران، ۲۰۰۲؛ کومار، ۱۹۹۹؛ ویلیامز و همکاران، ۱۹۹۳). همان‌طور که قبلاً ذکر گردید دندروگرام حاصل از ارزیابی صفات مورفولوژیک در فاصله ۵/۷۷ (دامنه معادل ۵۰ درصد دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر) چهار گروه ایجاد نمود و در دندروگرام حاصل از ارزیابی‌های RAPD در فاصله ۵/٤٤ (دامنه معادل ۵۰ درصد دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر) ۵ گروه ایجاد می‌شود. اما اگر برش دندروگرام در ارزیابی صفات مورفولوژیک در فاصله ٦/٤۰۱ (دامنه معادل ٦۰ درصد دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر) انجام

گیرد تمام مورفوتیپ‌ها در یک گروه قرار می‌گیرند. در حالی‌که اگر برش دندروگرام در ارزیابی داده‌های RAPD در دامنه معادل ٦٠ درصد از دامنه فواصل ژنتیکی حداقل و حداکثر یعنی فاصله ۰/۵۰۲ انجام گیرد دو گروه حاصل می‌گردد که شامل یک گروه سه نمونه‌ای یعنی مورفوتیپ‌های ۹ و ۱۷ از ایلام و ۱۱ از سوریه و گروه دوم شامل بقیه مورفوتیپ‌ها می‌باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد کارایی نشانگرهای RAPD نسبت به صفات مورفولوژیک در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم *T. urartu* بهتر باشد. صفات ریخت‌شناسی وراثت مندلی دارند و در هر ژنوم نشان‌گرهای ریخت‌شناسی در مقایسه با تعداد فراوان نشان‌گرهای DNA محدودترند (کومار، ۱۹۹۹). وی و وانگ (۱۹۹۵)، پوجار و همکاران (۱۹۹۹)، کاستاگنا و همکاران (۱۹۹۷) و نقوی و همکاران (۲۰۰۹)، طارق و همکاران (۲۰۱۱) و شارما و همکاران (۲۰۱۲) و الفارس و ابوکاود (۲۰۱۲) بیان کردند که نشانگر RAPD برای طبقه‌بندی و مدیریت ژرم‌پلاسم، برآورد تنوع ژنتیکی، بررسی روابط خویشاوندی و شناسایی والدین مناسب جهت اصلاح و نقشه‌یابی جمعیت‌ها روشی سریع، ساده و مفید می‌باشد. علی‌رغم این‌که ایران از مراکز تنوع گندم به‌شمار می‌رود اما تنوع ژنتیکی در گندم‌های نان ایران، ضعیف است (دشتی و همکاران، ۲۰۰۹) و لازم است تنوع ژنتیکی در گونه‌های خویشاوند وحشی ارزیابی و از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی بهره گرفت. استفاده توام از داده‌های ریخت‌شناسی و نشان‌گرهای ملکولی (RAPD) در ارزیابی تنوع ژنتیکی به‌علت این‌که سطوح مختلفی از تنوع را در سطح ژنوم ارایه می‌دهند، اطلاعات مفیدی ایجاد نموده و تکمیل کننده هم می‌باشند که می‌تواند در مدیریت ژرم پلاسم ذخایر توارثی مفید باشند (نقوی و همکاران، ۲۰۰۹). این مطالعات نشان داد که بررسی‌های ریخت‌شناسی برای طبقه‌بندی، شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی در گونه *T. urartu* بسیار مفید می‌باشد و هنوز هم باتوجه به تمام پیشرفت‌های اخیر در زمینه ژنتیک مولکولی نمی‌توان مطالعات ریخت‌شناسی را نادیده گرفت.

سپاسگزاری

هزینه این پژوهش توسط بخش تحقیقات ژنتیکی بانک ژن گیاهی ملی ایران تقبل شده است که به این وسیله از مسئولین و اعضای هیات‌علمی آن تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1.Abbas, S.J., Shah, S.R.U., Rasool, G., and Ighbal, A. 2008. Analysis of genetic diversity in Pakistan wheat varieties by using RAPD primers. Amer. Eur. J. Sustain. Agric. 2: 29-33.
2.Agrama, H.A., and Tuinstra, M.R. 2003. Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. Afr. J. Biotechnol. 2: 10. 334-340.
3.Akbari Rad, M., Najafian, G., Esmailzadeh Moghadam, M., and Khodarahmi, M. 2009. Study of genetic variation in baking quality related characteristics in bread wheat advanced lines and commercial cultivars. Iranian. J. Crop. Sci. 12: 2.213-226. (in Persian).
4.Al-Fares, H., and Abu-Qaoud, H. 2012. Molecular characterization of genetic diversity in some durum wheat (*Triticum durum* Desf.) in Palestine. Afr. J. Biotechnol. 11: 66. 12958-12963.
5.Aloui Mahjoub, A., Mguis, K., Rouaissi, M., Abdellaoui, R., and Ben Brahim, N. 2012. RAPD analysis of genetic diversity in natural populations of *Aegilops geniculata* Roth and *Triticum durum* Desf from Tunisia. Agric. Biol. J. Am. 3: 11.466-475.
6.Bahraii, S. 1996. Using RAPD molecular markers to study the genetic diversity of the species T. *boeoticum* and *T. urartu.* Seed and Plant Improvement Institute J. 12: 1. 31-43. (In Persian).
7.Castagna, R., Gnocchi, S., Perenzin, M., and Heun, M., 1997. Genetic variability of the wild diploid wheat *Triticum urartu* revealed by RFLP and RAPD markers. Theor. Appl.Genet. 94: 424-430.
8.Chabane, K., Valkoun, J., and Jaradat, A.A. 1998. Standardization of RAPD marker techniques to determine the diversity of diploid wheat: *Triticum urartu.* Triticeae III. Proceeding of the Third International Triticeae symposium, Aleppo, Syria, 4-8 may 1997: 155-158.
9.Ciaffi, M., Dominici, L., and Lafiandra, D. 1997. Gliadin polymorphism in wild and cultivated enkorn wheat. Theor.Appl. Genet. 94: 68-74.
10.Dahlberg, J.A., Zhang, X., Hart, G.E., and Mullet, J.E. 2002. Comparative assessment of variation among sorghum germplasm accessions using seed morphological and RAPD measurements. Crop. Sci. 42: 291-296.
11.Dashti, H., Nagavi, M.R., Shahnejat-Bushehri, A.A., Shirvani, H. 2009. Evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using RAPD. Genetics-Novin. 4: 3.55-62. (In Persian).
12.Descriptors For wheat. 1985. International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy.
13.Doyle, J., and Doyle, J. 1989. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus Life Technol. 12: 1.
14.Drikvand, R., Salahvarzi, E., Hossinpor, T., and Esmaeili, A. 2011. Study of

genetic diversity among rainfed wheat genotypes, Using morphological traits and RAPD markers. J. New Agri. Sci. 7: 3.9-17. (In Persian).
15.Farshadfar, A. 2001. Principles and Methods of Multivariate Analysis. Razi Univ. Taqbstan Press. 708p. (In Persian)
16.Feldman, M., and Sears, E.R. 1981. The wild gene resources of wheat. Sci. Amer. 244: 102-112.
17.Garsia, M.G., Ontivero, M., Ricci, J.C.D., and Castagnaro, A. 2002. Morphological traits and high resolution RAPD markers for the identification of the main strawberry varieties cultivated in Argantina. Plant Breeding. 121: 76-80.
18.Harlan, J.R., and Zohary, D. 1966. Distribution of wild wheats and barley. Sci, 153. 1074-1080.
19.Iqbal, A., Ameen, A., Nawaz, S., Amjad, M., Ali, Z., Ahsan Khan, M., Bukhari, Y., and Ahmed, N. 2012. Molecular characterization of Pakistani wheat cultivars using random markers. Afr. J. Biotech. 11(71):13571-13575.
20.Kerby, K., and Kuspia, J. 1987. The phylogeny of the polyploidy wheats *Triticum aestivum* (bread wheat) and *Triticum turgidum* (macaroni wheat). Genome, 29: 722-737.
21.Khlestkina, E.K., and Salina, E.A. 2001. Genome- specific markers of tetraploid wheat and their putative diploid progenitor species. Plant Breeding. 120: 227- 232.
22.Kumar, S.L. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. Biotech. Advan. 17: 143-182.
23.Lee, Y.K., Bekes, F., Gupta, R., Appels, R., and Morell, M.K. 1999. The low-molecular weight glutenin subunit proteins of primitive wheats. I. Variation in A-genome species. Theor. Appl. Genet. 98: 119-125.
24.Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. In: Dobzhansky, T., Hecht, M.K., Steere, W.C., (Eds). Evolutionary Biology, 6. P. 381-398. New York: Appleton- Century- Crofts Pub.
25.Loveless, M.D., and Hamrick, J.L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annu. Rev. Ecol. Syst. 15: 65–95.
26.Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalysed regression approach. Cancer Res. 27: 209-220.
27.Nabovati, S., Aghaee-Sarbarzeh, M., Choukan, R., Qanavati, F., and Najafian, G. 2010. Genetic variation in agronomic characteristics and grain quality traits of durum wheat genotypes. Seed Plant Improve. J. 26-1: 3.331-350. (In Persian).
28.Naghavi, M.R., Malaki, M., Alizadeh, H., Pirseiedi, M., and Mardi, M. 2009. An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat (*Triticum boeoticum*) from West of Iran using RAPD, AFLP and SSR Markers. J. Agri. Sci. Tech. 11: 585-598.
29.Nagavi, M.R., Shahbazporshahbazi, A., and Taleei, A. 2002. Study of genetic variation in durum wheat germplasm for some morphological and agronomic

characteristics. Iranian J. Crop. Sci. 4: 3.81-88. (In Persian)
30. Naroui Rad, M.R., Farzanju, M., Fanay, H.R., Arjmandy Nejad, A.R., Ghasemy, A., and Polshekane Pahlevan, M.R. 2007. The study genetic variation and factor analysis for morphological characters of wheat native accessions of Sistan and Baluchistan. Pajouhesh and Sazandegi. 73: 50-57. (In Persian)
31. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 70: 3321-3323.
32. Nei, M. 1987. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genet. 89: 583-590.
33. Onarici, S.G., and Sibel, S. 2003. Protein and DNA in systematic Biology. Turk. J. Biol. 27: 47-55.
34. Parminder, S.V., Fard-Lloyd, B.B., Jaikson, M.T., and Newbury, H.J. 1995. Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collection. Heredity, 74: 170-179.
35. Pujar, S., Thamhankar, S.A., Rao, U.S., and Gupta, V.S. 1999. Arbitrary primed- PCR based diversity assessment reflect hierachical grouping of Indian tetraploid wheat genotypes. Theor. Appl. Genet. 99: 868-876.
36. Qualset, C.O., and Spagnoletti Zeuli, P.L., 1987. Geographical diversity for quantitative spike characters in aworld collection. Crop Sci. 41: 217-235.
37. Riday, H., Charles Brummer, E., Austin Campbell, T., Diane, L., and Czcarro, P.M. 2003. Comparison of Genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. *Sativa* and subsp. *falcate*. Euphitica.131: 37-45.
38. Robin, G.A., and Brown, T.A. 2000. Identification of a 5sr DNA spacer type specific to *Triticum urartu* and wheats containing the *T. urartu* genome. Genome, 43: 250- 254.
39. Rohlf, F.J. 1998. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.01, Setauket, New York.
40. Samiey, K. 2003. Evaluation of genetic variation in clover (*Trifoliom resupinatium* L.) using molecular and morphological markers. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. (In Persian).
41. Shafaoddin, S., and Yazdi-Samadi, B. 1994. Genetic and geographical in Indigenous wheat collection of central Iran. Iranian J. Agric. Sci. 25: 4:61-77. (In Persian).
42. Sharma, R., Joshi, A., Maloo, S.R., and Rajamani, G. 2012. Assessment of Genetic Finger Printing Using Molecular Marker in Plants: A Review. Sci. Res. Impact. 1(3): 29-36
43. Shiri, M., Mehrabi, A.A., Ahmadi,Shahriari-Ahmadi, F., and Bageri, A. 2010. Evaluation of genetic diversity of wild einkorn wheat's in west and Norwest Iran using SSR Markers. J. Appl. Biol. 22(3): 45-54. (In Persian).

44.Tahernezhad, Z., Jafaraghaii, M., Zahravi, M., Zamani, M.J., Solouki, M., and Emamjomeh, A. 2008. Genetic diversity of Iranian *Aegilops tauschii Coss*. using morphological traits. Pajouhesh and Sazandegi. 79:125-132. (In Persian)
45.Taleei, A., and Bahram-Nejad, B. 2003. A Study of relationship between yield and its components in landrace populations of wheat from western parts of Iran using multivariate analysis. Iranian, J. Agric. Sci. 34(4): 949-959. (In Persian)
46.Tariq, M., Ayesha, S., Awais, R., and Nazia, N. 2011. Evaluation of genetic diversity in different Pakistani wheat land races. Pak. J. Bot., 43(2): 1233-1239.
47.Veirling, R.A., and Nguyen, H.T., 1992. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. Theor. Appl. Genet. 84: 835-838.
48.Waines, J.G., and Barnhart, D. 1992. Biosystematic research in *Aegilops* and *Triticum*. Hreditas. 116: 207-212.
49.Waines, J.G., and Payne, P.I. 1987. Electrophoretic analysis of the high-molecular-weight glutenin subunits of *Triticum monococcom*, *Triticum urartu* and the A genome of bread wheat (*T. aestivum).* Theor. Appl. Genet. 74:71-76.
50.Wei, J.Z., and Wang, R.R.C. 1995. Genome and species-specific markers and genome relationships of diploid perennial species in Triticeae based on RAPD analysis. Genome. 38:1230-1236.
51.Williams, G.K.J., Hanafey, M.K., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Methods Enzymol. 218: 704-740.
52.Zaharieva, M., Dimov, A., Stankova, P., David, J., and Monneveux., P. 2003. Morphological diversity and potential intrest for wheat improvement of three *Aegilops* L. species from Bulgaria. Genet. Res. Crop Evolu. 50(5):507-517.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Prod. Res. Vol. 21 (1), 2014
http://jopp.gau.ac.ir

Genetic diversity of diploid wheat (*Triticum urartu*) using morphological traits and RAPD markers

***A. Azizian[1], B. Yazdi Samadi[2], J. Mozafari[3], A.A. Shahnejat Boshehri[4] and M.R. Naghavi[4]**

[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Biotechnology, University of Tehran, [2]Professor, Dept. of Biotechnology, University of Tehran, [3]Associate Prof. of Gene Bank of Iran, [4]Assistant Prof., Dept. of Biotechnology, University of Tehran

Received: 2012-12-25 ; Accepted: 2014-4-20

Abstract

Genetic diversity of 22 morphotypes of diploid wheat (*Tricum urartu*) was investigated using morphological traits and RAPD markers. Morphological characterizations were carried out based on 17 traits and statistical parameters of dispersion and diversity of agronomic traits were calculated. Statistical analysis showed significant differences for all characters among morphotypes. Dendrograms were generated for the Euclidean distance from the morphological data. Cluster analysis could separate Jordan and Syria samples from Iran, Iraq, and Turkey morphotypes. Molecular analysis of diversity were carried out using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique 10-mer random primers, which 12 were polymorphic, producing 112 DNA bands, 75 (67%) of which were polymorphic among morphotypes. Cluster analysis of RAPD markers based on the presence or absence of bands were performed by Jacard's similarity coefficients and UPGMA methods. Clustering of the morphotypes based on RAPD markers had no relation to their geographical distribution. These result showed that, diversity based on RAPD markers showed greater diversity than morphological traits. Also comparison of both dendrograms reveled that there is poor correlation (R=0.21) between the clustering with morphological traits and RAPD markers. These results suggest that the morphological traits provide parallel data with RAPD markers and studies based on 2 methods complete each other and provide much better evaluation of diversity than those that focus on just on approach.

Keywords: Genetic diversity, Diploid wheat, *T. urartu*, Morphological traits, RAPD markers

*Corresponding author; azizian_amir@yahoo.com