

تعیین الگوی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم ایران بر مبنای نشانگر مولکولی ISSR و صفات مورفولوژیکی

آرش سلامی^۱، محمدهادی پهلوانی^{۲*}، خلیل زینلی نژاد^۳ و محسن اسماعیل زاده مقدم^۴

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۴- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۰۲)

چکیده

جمع‌آوری و نگهداری ژرم‌پلاس، بخصوص توده‌های بومی گونه‌های مهم زراعی و سازمان‌دهی اطلاعات مربوط به آن‌ها، علاوه بر تداوم استفاده از آن‌ها موجب کاهش خطر فرسایش ژنتیکی آن‌ها می‌گردد. در این مطالعه توده‌های بومی گندم نان ایرانی جهت بررسی الگوی تنوع ژنتیکی، با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی آی‌اس‌اس‌آر مورد ارزیابی قرار گرفتند. از نظر صفات ارتفاع، طول سنبله، طول ریشک، تعداد گره‌های سنبله، تعداد دانه در سنبله، طول برگ و وزن دانه تفاوت قابل توجهی بین توده‌های بومی وجود داشت. همچنین در برخی از توده‌ها مثل خرم‌آباد و اردبیل تنوع درون جمعیتی برای برخی از خصوصیات به‌ویژه ارتفاع و طول ریشک قابل مشاهده بود. در بررسی توده‌ها از نظر نشانگرهای آی‌اس‌اس‌آر، در مجموع ۹۹ نوار نمره‌دهی شد که ۷۸ نوار چندشکل بودند. درصد چندشکلی با میانگین ۸۱/۸۸ درصد از ۵۳/۳۳ درصد برای آغازگر ۴ تا ۱۰۰ درصد برای آغازگرهای ISSR-9، ISSR-14، ISSR-5 و ISSR-7 متغیر بود. متوسط میزان اطلاعات چندشکلی برای توده‌ها ۰/۳ محاسبه شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع درون جمعیت قابل توجهی برای توده‌های بومی گندم خرم‌آباد، مراغه و تربت‌حیدریه از نظر نشانگرهای آی‌اس‌اس‌آر وجود داشت در حالی‌که برای توده‌های خوی، اهواز، اصفهان، مشهد، ارومیه، شیراز و اردبیل تنوع ناچیزی مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که بین و درون توده‌های بومی گندم ایرانی تنوع ژنتیکی با درجات متفاوتی وجود دارد و از این توده‌ها می‌توان به عنوان جمعیت پایه برای استخراج لاین‌های خالص استفاده نمود.

واژگان کلیدی: آی‌اس‌اس‌آر، تنوع ژنتیکی، ژرم‌پلاس، گروه‌بندی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: hpahlavani@gau.ac.ir

مقدمه

گندم نان با نام علمی *Triticum aestivum* L.، یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در سراسر جهان از نظر تولید است و منبع اصلی کربوهیدرات‌های غذایی انسان را تشکیل می‌دهد. وقوع انقلاب سبز در دهه‌های پیشین از دستاوردهای بزرگ به‌نژادی بود که نقش حیاتی در امنیت غذایی جهان داشت. اثر قابل توجه این موفقیت‌های عظیم از سوی دیگر به قیمت کاهش شدید تنوع ژنتیکی برای اغلب صفات مهم و اقتصادی در محصولات زراعی به‌خصوص گندم منجر شد. اگرچه تخمین میزان این کاهش دشوار و یا غیرممکن است، اما تردیدی نیست که ذخایر ژنتیکی با سرعت فزاینده‌ای در حال کاهش هستند و بسیاری از ژن‌های مفید از دست رفته‌اند و به دنبال آن محصولات زراعی در معرض تهدید انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار گرفته‌اند (Evenson and Gollin, 2003). طبق تعریف توده بومی به انواع ارقام و واریته‌های اهلی شده و محلی گیاهی اتلاق می‌گردد که در طی فرایند تکامل و به‌واسطه سازگاری با محیط رویش طبیعی یا کشاورزی از جمعیت بزرگ مادری متمایز شده‌اند. سازگاری وسیع و تنوع ژنتیکی موجود در این مواد ویژگی بسیار سودمند آنها محسوب می‌گردد که موجب شده توده‌های بومی در برنامه‌های به‌نژادی به‌منظور توسعه تنوع ژنتیکی و تولید ارقام پرمعمکرد مورد توجه به-نژادگران قرار گیرند.

ایران به دلیل دارا بودن تنوع ژئومورفولوژیکی، توپوگرافی و شرایط آب و هوایی به‌عنوان یکی از مراکز اصلی پیدایش و تنوع گیاهان زراعی از جمله گندم مطرح است. بخش قابل توجهی از این منابع در بانک ژن گیاهی ملی ایران در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران ذخیره شده‌اند. در حال حاضر، علاوه بر این که در حدود ۱۷۵۰۰ رقم بومی گندم در بانک ژن این موسسه نگهداری می‌شود، بیش از ۱۰۰۰ نمونه نیز در بخش تحقیقات غلات این موسسه احیاء و بهره‌برداری می‌شوند. با وجود اینکه بسیاری از توده‌های بومی و خویشاوندان وحشی گندم

قابل دسترس در برنامه‌های اصلاحی می‌باشند، ولی هنوز تعداد زیادی از این گونه‌ها در ایران ناشناخته می‌باشند. محدوده جغرافیایی به‌شدت با تعیین سطح تنوع ژنتیکی در سطح گونه‌های متنوع در ارتباط است (Zhou et al., 2008). Gulnar و همکاران (Gulnar et al., 2015) برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم دوروم، ۴۱ رقم از مراکش، اتیوپی، ترکیه، لبنان، قزاقستان، چین و مغولستان را با نشانگر مولکولی ISSR بررسی کردند. از ۲۰ آغازگر استفاده شده، ۱۵ آغازگر توانستند به میزان ۷۳/۷ درصد چندشکلی نشان دهند. آن‌ها با دیدن سطح بالای چندشکلی در این مجموعه از گندم‌های دورم احتمال دادند که هلال حاصلخیز و بخش‌هایی از آفریقا اولین مراکز تنوع در این محصول می‌باشند. در سوریه از ۱۷ آغازگر برای ۹ رقم گندم نان استفاده شد که ۱۵ آغازگر باندهای واضح و متنوعی با ۹۸/۰۱ درصد تکرارپذیری نشان دادند که بر اساس این مطالعه، استفاده از روش ISSR می‌تواند یک ابزار قدرتمند برای شناسایی تنوع ژنتیکی بین ارقام گندم نان باشد (Saada et al., 2015). در مطالعه‌ای ۵ آغازگر ISSR برای ۸ رقم گندم نان استفاده شد که از ۴۳ باند تولید شده، ۲۹ باند چندشکل بود و ۶۷/۴۴ درصد چندشکلی مشاهده شد (Yanfang et al., 2011). طی تحقیق دیگری از ۱۱ آغازگر ISSR برای بررسی تنوع مولکولی ۲۵ ژنوتیپ گندم نان استفاده شد که از ۱۰۸ باند تولید شده ۸۳ باند چندشکلی ایجاد کردند که ۷۷ درصد چندشکلی را به خود اختصاص دادند. شاخص PIC که بیانگر محتوای اطلاعات چندشکلی است در این تحقیق برحسب میانگین ۰/۳۱ بدست آمد و از آنجا که حداکثر مقدار برای نشانگرهای غالب مانند ISSR، میزان ۰/۵ هست، بازده و کارایی خوبی از این نشانگر را نشان داد (Zamanianfard et al., 2015). در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی و روابط بین ژنوتیپ‌های گندم شامل هگزاپلوئید، تتراپلوئید و انواع دیپلوئید، DNA ژنومی از ۲۰ رقم گندم با نشانگر ISSR بررسی شد که از ۸ آغازگر بکار برده شده، ۱۱۲ باند تولید شد که ۱۷ قطعه مونومورف بود و ۹۵ قطعه پلی‌مورف بود و ۸۴/۸٪ چندشکلی دیده

نام‌های شیراز، خرم‌آباد، خوی، اهواز، اصفهان، مراغه، مشهد، ارومیه، تربت‌حیدریه، اردبیل) موجود در کلکسیون بخش تحقیقات غلات و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به همراه رقم چینی بهاره استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱- توده‌های بومی گندم ایرانی مورد استفاده

در این مطالعه

Table 1. Iranian wheat landraces used in the

محل جمع‌آوری Place of collection	شماره کلکسیون Collection no.	شماره توده بومی Landrace no.
Khoramabad	676	1
Khoy	1579	2
Ahwaz	1643	3
Isfahan	1720	4
Maragheh	1854	5
Mashhad	1963	6
Urmia	2512	7
Torbat-e	1131	8
Shiraz	2597	9
Ardabil	2616	10

بذور در پاییز ۱۳۹۲ به صورت ۸ خط به طول ۵/۲ متر برای هر توده بومی که فاصله بذور روی خط از هم ۱۵ سانتی‌متر بود، در دو بلوک در مزرعه کشت شد. در این مطالعه ۷ صفت ارتفاع بوته، طول ریشک، طول سنبله، طول برگ پرچم، تعداد گره، تعداد دانه در سنبله و وزن هزار دانه مورد بررسی قرار گرفتند که برای اندازه‌گیری آن‌ها از هر پلات ۱۰ بوته به‌طور تصادفی انتخاب و علامت‌گذاری شدند و صفات مورفولوژیکی بر روی این بوته‌ها در مزرعه و آزمایشگاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پس از رشد بوته‌ها به‌اندازه کافی، از هر توده نمونه برگی با استفاده از تیغ استریل تهیه شد و درون فویل آلومینیومی و سپس در ازت مایع قرار گرفت. پس از آن نمونه‌ها به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. استخراج دی ان ای به روش Doyle and Doyle (Doyle and Doyle, 1987) صورت گرفت و از دو روش اسپکتروفتومتر و ژل آگارز برای تعیین کمیت و کیفیت دی‌ان‌ای استخراج شده استفاده شد. برای بررسی بهتر، ابتدا چند نمونه با ۲۰ آغازگر تصادفی آی‌اس

شد (Abou-Deif *et al.*, 2013). Carvalho و همکاران (Carvalho *et al.*, 2010) با استفاده از آغازگرهای ISSR، ۴۸ رقم گندم نان را مورد تجزیه تحلیل قرار دادند. آن‌ها از ۱۸ نشانگر ISSR برای ایجاد چندشکلی استفاده کردند و در مجموع ۲۴۵ باند تولید شده، ۲۳۳ باند چندشکلی ایجاد کردند. آن‌ها نشان دادند که اکثر ارقام متعلق به گونه‌های گیاه‌شناسی مشابه، در گروه‌های اصلی همان گروه دسته‌بندی می‌شوند. Sofalian و همکاران از نشانگر ISSR برای تعیین تنوع ژنتیکی ۳۹ گندم نان، از جمله ۳۳ توده بومی گندم نان و ۶ رقم گندم از شمال غرب کشور استفاده کردند. نتایج سطح بالای چندشکلی توده‌های بومی گندم نان بر اساس این نشانگر نشان داد همچنین نشان داده شد که نشانگر ISSR ابزار کارآمدی برای برآورد تنوع ژنتیکی درون گونه در گندم هست و این نشانگر مولکولی می‌تواند توده‌های بومی بدست آمده از مکان‌های مختلف را متمایز کند (Sofalian *et al.*, 2008). در تحقیق دیگری، به طور همزمان از صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم با هدف تعیین روابط ژنتیکی آن‌ها جهت شناسایی والدین مناسب برای برنامه‌های اصلاحی و ژنتیکی استفاده شد (Nazari and Abdolshahi, 2014).

بررسی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که اگرچه بکارگیری نشانگرهای مولکولی در بررسی تنوع مواد ژنتیکی گندم منجر به نتایج با ارزشی گردیده است، اما مطالعات درباره توده‌های بومی گندم ایرانی به‌ویژه تنوع ژنتیکی درون آنها برای این نوع نشانگرها نادر هستند. هدف از انجام این مطالعه تعیین الگوی تنوع ژنتیکی درون و بین توده‌های بومی گندم‌های ایرانی و تعیین میزان قرابت ژنتیکی آنها نسبت به یکدیگر بر مبنای نشانگرهای مولکولی ISSR و مورفولوژیکی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه نمونه شماره ۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ انجام شد. در این مطالعه از ۱۰ توده بومی گندم نان (به

میانگین ارتفاع رقم شاهد (چینی بهاره) با ۹۶ سانتی‌متر، بیانگر پاکوتاه بودن رقم شاهد نسبت به توده‌های بومی گندم نان است. از نظر طول سنبله توده‌های اصفهان با ۱۱ سانتی‌متر و اردبیل با ۷/۸ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین بودند. صفات تعداد گره‌های سنبله، تعداد دانه در سنبله، طول برگ پرچم به ترتیب دارای میانگین ۱۸/۲، ۳۵/۶۱ و ۲۶/۲ سانتی‌متر در نمونه‌ها بود که در مقابل همین صفات برای رقم شاهد به ترتیب ۱۸/۵، ۳۶/۸۵ و ۲۷/۷ سانتی‌متر کمتر بود. وزن هزار دانه در نمونه‌های گندم نان بومی ۴۸/۱۰ گرم و در رقم شاهد ۵۳/۸۴ گرم بود که توده اردبیل با وزن هزار دانه ۴۳/۰۳ گرم کمترین و توده اصفهان به میزان ۵۰/۳۴ گرم بیشترین وزن هزار دانه را در بین توده‌ها داشتند (جدول ۳). وجود دامنه وسیع تنوع برای خصوصیات مورفولوژیک در توده‌های مختلف بیانگر آن است که از افراد این توده‌ها می‌توان برای ایجاد جوامع پایه برای انتخاب مواد نو ترکیب با خصوصیات ترکیبی مورد نظر در برنامه‌های اصلاحی سود جست.

طبق نتایج حاصل از آمار توصیفی، برای توده‌های بومی خرم‌آباد، خوی، اهواز، مراغه، مشهد و اردبیل و رقم چینی بهاره بیشترین ضریب تغییرات در ارتفاع بوته و کمترین آن در طول سنبله مشاهده شد (نتایج نشان داده نشده‌اند). برای توده اصفهان، طول برگ پرچم از بیشترین و تعداد دانه در سنبله از کمترین ضریب تغییرات برخوردار بودند. بنابراین صفت طول برگ پرچم بیشترین و تعداد دانه در سنبله کمترین تنوع را در مزرعه داشتند. برای توده تربت‌حیدریه، طول ریشک از بیشترین و طول سنبله از کمترین ضریب تغییرات برخوردار بودند. بنابراین صفت طول ریشک بیشترین و طول سنبله کمترین تنوع را در مزرعه داشتند. برای توده شیراز، طول برگ پرچم از بیشترین و طول سنبله از کمترین ضریب تغییرات برخوردار بودند. بنابراین صفت طول برگ پرچم بیشترین و طول سنبله کمترین تنوع را در مزرعه داشتند.

اس آر مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت. سپس ۱۰ آغازگر که کارآمدتر بودند انتخاب گردید و برای کل نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات و توالی این آغازگرها به همراه دمای اتصال آن‌ها، در جدول ۲ آورده شده است. واکنش زنجیره پلی مرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر انجام پذیرفت. به منظور تفکیک محصول پی‌سی‌آر، از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. پس از تهیه عکس از ژل که برای آشکارسازی محصول پی‌سی‌آر انجام شد، باندهایی که چندشکلی نشان دادند به صورت یک و صفر (برای حضور و عدم حضور) امتیازبندی شدند. برای محاسبه و تشکیل ماتریس تشابه از رویه SimQual و ایجاد این ماتریس به سه روش تطابق ساده، دایس و جاکارد، و برای گروه‌بندی از رویه SAHN به روش UPGMA نرم‌افزار ان‌تی‌سیس سری ۲/۰۲ استفاده شد. با استفاده از ضریب کوفتیک، ضریب تشابه مناسب انتخاب گردید. جهت تعیین کارایی الگوریتم مورد استفاده و میزان برازش خوشه‌بندی از ضریب کوفتیک که با نرم‌افزار ان تی سیس محاسبه گردید، استفاده شد. محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) بر اساس فرمول $PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$ محاسبه شد (Botstain et al., 1980). که در آن P_{ij} بیانگر فراوانی آلل ژام برای نشانگر نام است. میزان اطلاعات چندشکلی برای نشانگرهای غالب حداکثر ۰/۵ است. برای محاسبه آمار توصیفی داده‌های مورفولوژیکی از نرم‌افزار SAS سری ۹/۲ استفاده شد.

نتایج و بحث

میانگین صفات اندازه‌گیری شده در توده‌های مورد بررسی در دو بلوک و طی ده بار نمونه‌گیری برای هر توده بومی در جدول ۳ درج شده است. از نظر صفات مختلف تنوع زیادی بین توده‌ها وجود داشت. میانگین صفات برای هر توده اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که از نظر ارتفاع تنوع بین ۸۳/۷۸ سانتی‌متر (توده بومی اردبیل) و ۱۴۲/۹۵ سانتی‌متر (توده بومی خوی) متفاوت بود که در برابر

جدول ۲- نام، توالی و دمای اتصال آغازگرهای آی‌اس‌اس‌آر مورد استفاده در مطالعه توده‌های بومی گندم ایران

Table 2. Name, sequence and annealing temperature of ISSR primers used to study Iranian wheat landraces

نام آغازگر Primer name	توالی Sequence (5'-3')	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد) Annealing temperature (°C)
ISSR-9	CACACACACACACAGCG	52
ISSR-2	CACACACACACACAGCC	52
ISSR-10	CACACACACACACAATC	52
ISSR-7	TGTGTGTGTGTGTGATC	52
ISSR-5	GTGTGTGTGTGTGTGTC	56
ISSR-14	AGAAGAGAGAGAGAGACT	52
ISSR-4	AGAGAGAGAGAGAGAGGCC	56
ISSR-1	GAGAGAGAGAGAGAATG	50
ISSR-3	AGAGAGAGAGAGAGAGT	52
ISSR-20	CCACTCTCTCTCTCTCT	56

جدول ۳- میانگین صفات در توده‌های بومی گندم ایرانی

Table 3. Mean of traits for Iranian wheat landraces

توده بومی Landrace	ارتفاع Height Cm	طول سنبله Spike length Cm	طول ریشک Own length	تعداد گره‌های سنبله No. spike node	تعداد دانه در سنبله No. seed per spike	طول برگ پرچم Flag leaf length	وزن هزار دانه 1000 seed weight
Khoramabad	116.72	8.40	5.80	16.0	31.50	26.50	45.90
Khoy	142.95	8.20	5.25	14.5	28.50	27.35	42.20
Ahwaz	127.19	8.55	5.40	16.5	32.45	25.95	47.10
Isfahan	107.13	11.0	6.85	22.5	42.05	22.75	50.34
Maragheh	120.81	9.05	6.25	19.0	37.35	24.55	49.16
Mashhad	118.41	9.20	4.80	20.0	39.35	28.20	52.87
Urmia	89.57	9.45	6.05	21.5	42.45	29.05	52.45
Torbat-e	83.01	8.70	5.55	19.0	37.35	24.85	43.45
Shiraz	126.73	9.50	6.35	18.5	36.55	24.25	44.12
Ardabil	83.87	7.80	6.05	14.5	28.60	28.55	43.03
Chinese spring	96.00	8.90	0.00	18.5	36.85	27.70	49.25

با استفاده از اجزای متشکله واریانس صورت گرفت (جدول ۴). در مورد ارتفاع بوته و طول برگ پرچم میزان تنوع درون توده‌ای بیش از میزان تنوع بین توده‌ها بود درحالی‌که برای صفات تعداد دانه در سنبله، طول سنبله و تعداد گره‌های سنبله تنوع مشاهده شده بین توده‌ها بیش از میزان تنوع درون توده‌ها بود (جدول ۵). برای طول ریشک میزان تنوع درون و بین توده‌ها تقریباً یکسان بود (جدول ۵). این یافته نشان می‌دهد که روند اصلاح گندم توسط کشاورزان به همراه انتخاب طبیعی بیشتر بر اجزای عملکرد دانه در گندم و صفات مرتبط شامل تعداد دانه در سنبله، طول سنبله و تعداد گره متمرکز بوده و برای صفات مربوط

بررسی نتایج نشان داد که ضریب تغییرات صفات در توده‌های بومی مورد استفاده نسبت به رقم شاهد، بیانگر تنوع به مراتب بیشتر همه صفات مورد بررسی در توده‌های بومی بود (داده‌ها نشان داده نشده است). با توجه به اینکه توده‌های بومی گونه‌های خودگشن مخزن لاینهای خالص محسوب می‌شوند، تنوع مشاهده شده درون این توده‌ها ماده خام باارزشی برای یافتن لاینهای حاوی ژن‌های مفید برای بهبود خصوصیات مورفولوژیک گندم نان است که می‌توان از آن در پروژه‌های اصلاحی بهره گرفت.

بررسی بزرگی میزان تنوع درون و بین توده‌های گندم از طریق محاسبه ضریب تغییرات (CV) درون و بین جمعیت

در این مطالعه ابتدا ۳ نمونه از هر توده بومی بر اساس تنوع مورفولوژیکی موجود در مزرعه انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع به ازای ۱۰ توده بومی موجود، ۳۰ نمونه گندم نان به همراه رقم چینی بهاره به عنوان شاهد با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج آن شامل نام آغازگر، تعداد باندهای تولیدشده، تعداد باندهای چندشکل، درصد باندهای چند شکل و محتوای اطلاعات چندشکل در جدول ۶ آمده است. تمامی ده جفت آغازگر ISSR به کار رفته در این آزمایش چندشکلی نشان دادند و در مجموع ۹۹ نوار نمره‌دهی شد که ۷۸ نوار چند شکل بودند. تعداد نوارهای چند شکل از ۳ تا ۱۶ نوار برای هر آغازگر متغیر بود. بیشترین نوار چند شکل مربوط به آغازگر ۹ و ۷ (شکل ۲) با ۱۶ نوار و کمترین نوار چند شکل مربوط به آغازگر ۱۴ با ۳ نوار بود و تعداد متوسط باندهای تولید شده ۹/۹ و متوسط تعداد باندهای چند شکل حاصل ۷/۸ بود (جدول ۶). درصد چندشکلی از ۵۳/۳۳ درصد برای آغازگر ۴ با کمترین درصد چندشکلی تا ۱۰۰ درصد برای آغازگرهای ۹، ۱۴، ۵ و ۷ متغیر بود. میانگین درصد چندشکلی ۸۸/۸۱ درصد محاسبه شد. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر آغازگر به‌طور جداگانه برای کل توده‌ها محاسبه

به رشد رویشی نظیر ارتفاع بوته و طول برگ مخزن ژنی توده‌های بومی گندم به تثبیت نرسیده‌اند. این موضوع همچنین نشان می‌دهد که علاقه و توجه کشاورزان در طی سالهای انتخاب به موضوع عملکرد دانه بیش از تولید بیوماس بوده است. دسته‌بندی نمونه‌ها نیز با استفاده از تجزیه خوشه‌ای (تجزیه کلاستر) به روش UPGMA و با استفاده از مربع فاصله اقلیدسی به عنوان معیار تشابه بر روی داده‌های مورفولوژیکی انجام شد (شکل ۱). تجزیه کلاستر، توده‌های مورد بررسی را به سه گروه تفکیک نمود که گروه اول شامل توده‌های خرم‌آباد، مراغه، مشهد، اهواز، شیراز و اصفهان، گروه دوم شامل توده خوی و گروه سوم شامل توده‌های ارومیه، تربت حیدریه، اردبیل و چینی بهاره (رقم شاهد) بودند. یکی از کاربردهای مهم نتایج تجزیه خوشه‌ای یافتن والدین تلاقی در برنامه‌های تلاقی و تولید ارقام هیبرید است. توده‌های موجود در گروه اول و سوم دارای بیشترین فاصله ژنتیکی با هم بوده و لذا در برنامه‌های به‌نژادی جهت ایجاد ارقام هیبرید، تلاقی بین افراد و یا لاین‌هایی از آنها منجر به تولید نتایج بهتری خواهد شد. Nikooseresht و Najafian نیز برای شناسایی گروه‌های مختلف در گندم از تجزیه خوشه‌ای استفاده نموده‌اند (Najafian, 2016).

جدول ۴- تجزیه واریانس بین و درون توده‌های بومی گندم نان ایرانی

Table 4. Analysis of variance inter and intra Iranian wheat landraces

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات (MS)					
		طول برگ پرچم Flag leaf length	ارتفاع Height	تعداد دانه در سنبله No. seed per spike	طول سنبله Spike length	تعداد گره‌های سنبله No. spike node	طول ریشک Own length
بین توده Inter population	9	42.98**	63.84**	331.22**	9.45**	89.65**	3.99**
درون توده Intra population	90	5.54	6.96	11.13	0.12	2.9	0.42
Total کل	99						

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

** : Significant at 1% probability level

جدول ۵- ضریب تغییرات (%) بین و درون توده‌های بومی گندم ایرانی

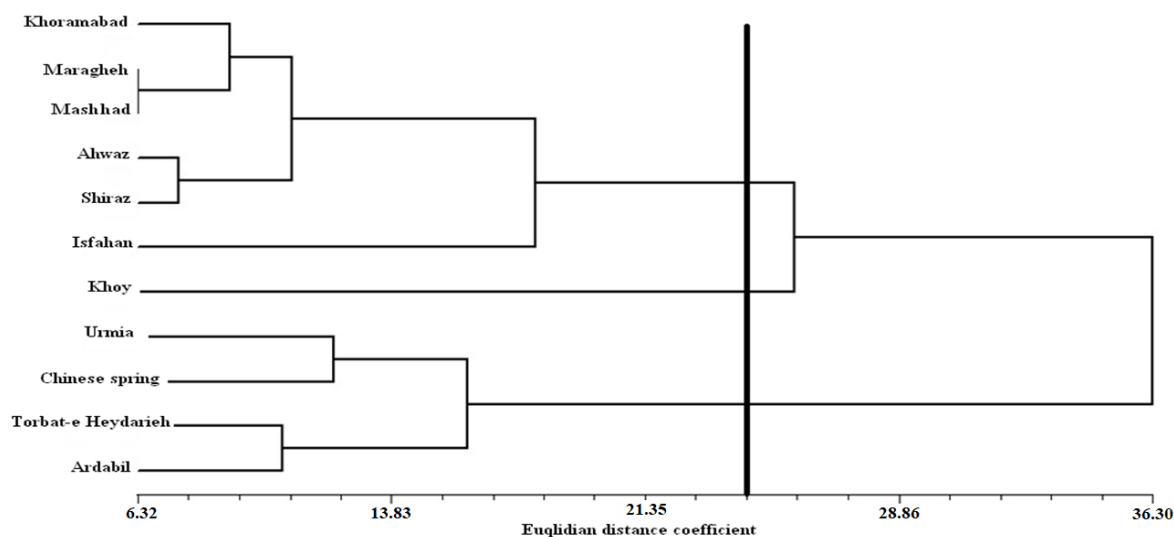
Table 5. Coefficient of variation (%) inter and intra Iranian wheat landraces

ضریب تغییرات (%) Coefficient of variation (%)	طول برگ پرچم Flag leaf length	ارتفاع Height	تعداد دانه در سنبله No. seed per spike	طول سنبله Spike length	تعداد گره‌های سنبله No. spike node	طول ریشک Own length
بین توده Inter population	7.21	3.74	15.31	10.62	16.01	10.11
درون توده Intra population	8.78	4.13	9.08	3.81	9.26	10.92

جدول ۶- آغازگرهای آی‌اس‌اس‌آر استفاده شده و نتایج تکثیر آن‌ها

Table 6. ISSR primers and results of their amplification

نام Primer name	تعداد باندهای تولیدشده Number of Produced bands	تعداد باندهای چندشکل Number of Polymorphic bands	درصد باندهای چند شکل Percent of Polymorphic bands	محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) Polymorphic information content
آغازگر				
ISSR-9	16	16	100.00	0.32
ISSR-10	6	5	83.33	0.22
ISSR-4	15	8	53.33	0.21
ISSR-1	6	4	66.66	0.31
ISSR-2	13	11	84.61	0.29
ISSR-14	3	3	100.00	0.35
ISSR-20	14	9	64.28	0.27
ISSR-5	8	8	100.00	0.35
ISSR-7	6	6	100.00	0.38
ISSR-3	12	8	66.66	0.31
کل (Total)	99	78	-	-
متوسط (Means)	9.9	7.8	81.88	0.3



شکل ۱- گروه‌بندی توده‌های بومی گندم نان بر اساس فاصله اقلیدسی با روش UPGMA بر روی داده‌های مورفولوژیک

Figure 1. Clustering of Iranian wheat landraces based on Euclidean distance with UPGMA method for morphologic data

شد و برای آغازگرهای بکار رفته از ۰/۲۱ برای آغازگر ۴ تا ۰/۳۸ برای آغازگر ۷ متغیر بود (جدول ۶). در نتیجه آغازگر ۷ از کارایی بالاتری در تفکیک ژنوتیپ‌های مورد نظر و همچنین در مطالعات پیوستگی ژنی برخوردار است. طبق نظر Botstain و همکاران آغازگرهایی با PIC بزرگتر از ۰/۵ حاوی اطلاعات سودمند بیشتر، آغازگرهایی که مقادیر PIC آنها بین ۰/۲۵ تا ۰/۵ سودمند هستند و آنهایی که کمتر از ۰/۲۵ باشد حاوی اطلاعات سودمند اندکی هستند (Botstain *et al.*, 1980). در این مطالعه میانگین این شاخص برای کل توده‌ها ۰/۳ بود و با توجه به اینکه حداکثر PIC آغازگرهای ISSR به عنوان آغازگر غالب برابر با ۰/۵ خواهد بود می‌توان نتیجه گرفت که این آغازگرها سودمند می‌باشند. مزیت استفاده از آغازگرهای مولکولی در مطالعه تنوع ژنتیکی در گندم پیش از این توسط Darvishian و همکاران (Darvishian *et al.*, 2016) به اثبات رسیده است.

همان‌طور که در شکل ۲ برای آغازگر آی‌اس‌اس‌آر شماره ۹ مشاهده می‌گردد، نمونه‌های توده خرم‌آباد در نوارهایی به اندازه ۱۹۰۰، ۱۵۰۰، ۱۴۰۰، ۱۳۰۰، ۱۱۰۰، ۹۰۰ و ۷۰۰ جفت باز تنوع نشان دادند. نمونه‌های توده خوی در نوارهایی به اندازه ۱۳۰۰ و ۱۰۰۰ جفت باز تنوع داشتند. نمونه‌های توده‌های اهواز در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۹۰۰ و ۴۵۰ جفت باز تفاوت نشان دادند. نمونه‌های توده‌های اصفهان در نوارهایی به اندازه ۳۰۰ و ۲۵۰ جفت باز تنوع از خود نشان دادند. نمونه‌های توده مراغه در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۶۵۰، ۶۰۰، ۴۵۰ و ۲۰۰ جفت باز تفاوت نشان دادند. نمونه‌های توده مشهد در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۶۵۰، ۶۰۰ و ۴۵۰ جفت باز تفاوت داشتند. نمونه‌های توده ارومیه در نوارهایی به اندازه ۶۰۰ و ۵۰۰ جفت باز تفاوت بودند. نمونه‌های توده تربت‌حیدریه در نوارهایی به اندازه ۱۱۰ و ۶۰۰ جفت باز تنوع نشان دادند. نمونه‌های توده شیراز در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰ و ۱۰۰۰ جفت باز تفاوت بودند. درحالی‌که نمونه‌های توده اردبیل در همه نوارها الگوی بانندی کاملاً مشابهی را داشتند. نتایج نشان داده نشده‌اند).

تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب simple matching (تطابق ساده) و روش گروه‌بندی UPGMA با ضریب کوفتیک ۰/۹ انجام شد و ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم کرد (شکل ۳). گروه اول شامل سه نمونه بود که به توده بومی خرم‌آباد مربوط می‌شد و گروه دوم شامل دو نمونه از توده بومی مراغه بود و گروه سه خود به دو زیر گروه تقسیم می‌شد که نمونه‌های سایر توده‌ها در این گروه قرار گرفتند. در گروه‌بندی داده‌های مورفولوژیکی توده خرم‌آباد و مراغه در گروه اول و کمترین تفاوت را نسبت به هم داشتند (شکل ۱) و با بررسی‌های مولکولی و گروه‌بندی توده‌ها با آغازگر آی‌اس‌اس‌آر نیز، نمونه‌های توده خرم‌آباد با دو نمونه از توده مراغه در گروه اول قرار گرفتند و کمترین فاصله ژنتیکی و بیشترین تشابه را نسبت به داشتند (شکل ۳). به عنوان نتیجه می‌توان بیان داشت که گروه‌بندی مواد ژنتیکی با داده‌های نشانگر مولکولی ISSR با نشانگر مورفولوژیکی تطابق نسبتاً نزدیکی داشت. همچنین این نتایج راهنمای مناسبی جهت انتخاب والدین برای انجام

شده و برای آغازگرهای بکار رفته از ۰/۲۱ برای آغازگر ۴ تا ۰/۳۸ برای آغازگر ۷ متغیر بود (جدول ۶). در نتیجه آغازگر ۷ از کارایی بالاتری در تفکیک ژنوتیپ‌های مورد نظر و همچنین در مطالعات پیوستگی ژنی برخوردار است. طبق نظر Botstain و همکاران آغازگرهایی با PIC بزرگتر از ۰/۵ حاوی اطلاعات سودمند بیشتر، آغازگرهایی که مقادیر PIC آنها بین ۰/۲۵ تا ۰/۵ سودمند هستند و آنهایی که کمتر از ۰/۲۵ باشد حاوی اطلاعات سودمند اندکی هستند (Botstain *et al.*, 1980). در این مطالعه میانگین این شاخص برای کل توده‌ها ۰/۳ بود و با توجه به اینکه حداکثر PIC آغازگرهای ISSR به عنوان آغازگر غالب برابر با ۰/۵ خواهد بود می‌توان نتیجه گرفت که این آغازگرها سودمند می‌باشند. مزیت استفاده از آغازگرهای مولکولی در مطالعه تنوع ژنتیکی در گندم پیش از این توسط Darvishian و همکاران (Darvishian *et al.*, 2016) به اثبات رسیده است.

همان‌طور که در شکل ۲ برای آغازگر آی‌اس‌اس‌آر شماره ۹ مشاهده می‌گردد، نمونه‌های توده خرم‌آباد در نوارهایی به اندازه ۱۹۰۰، ۱۵۰۰، ۱۴۰۰، ۱۳۰۰، ۱۱۰۰، ۹۰۰ و ۷۰۰ جفت باز تنوع نشان دادند. نمونه‌های توده خوی در نوارهایی به اندازه ۱۳۰۰ و ۱۰۰۰ جفت باز تنوع داشتند. نمونه‌های توده‌های اهواز در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۹۰۰ و ۴۵۰ جفت باز تفاوت نشان دادند. نمونه‌های توده‌های اصفهان در نوارهایی به اندازه ۳۰۰ و ۲۵۰ جفت باز تنوع از خود نشان دادند. نمونه‌های توده مراغه در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۶۵۰، ۶۰۰، ۴۵۰ و ۲۰۰ جفت باز تفاوت نشان دادند. نمونه‌های توده مشهد در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰، ۱۰۰۰، ۶۵۰، ۶۰۰ و ۴۵۰ جفت باز تفاوت داشتند. نمونه‌های توده ارومیه در نوارهایی به اندازه ۶۰۰ و ۵۰۰ جفت باز تفاوت بودند. نمونه‌های توده تربت‌حیدریه در نوارهایی به اندازه ۱۱۰ و ۶۰۰ جفت باز تنوع نشان دادند. نمونه‌های توده شیراز در نوارهایی به اندازه ۱۱۰۰ و ۱۰۰۰ جفت باز تفاوت بودند. درحالی‌که نمونه‌های توده اردبیل در همه نوارها الگوی بانندی کاملاً مشابهی را داشتند. نتایج

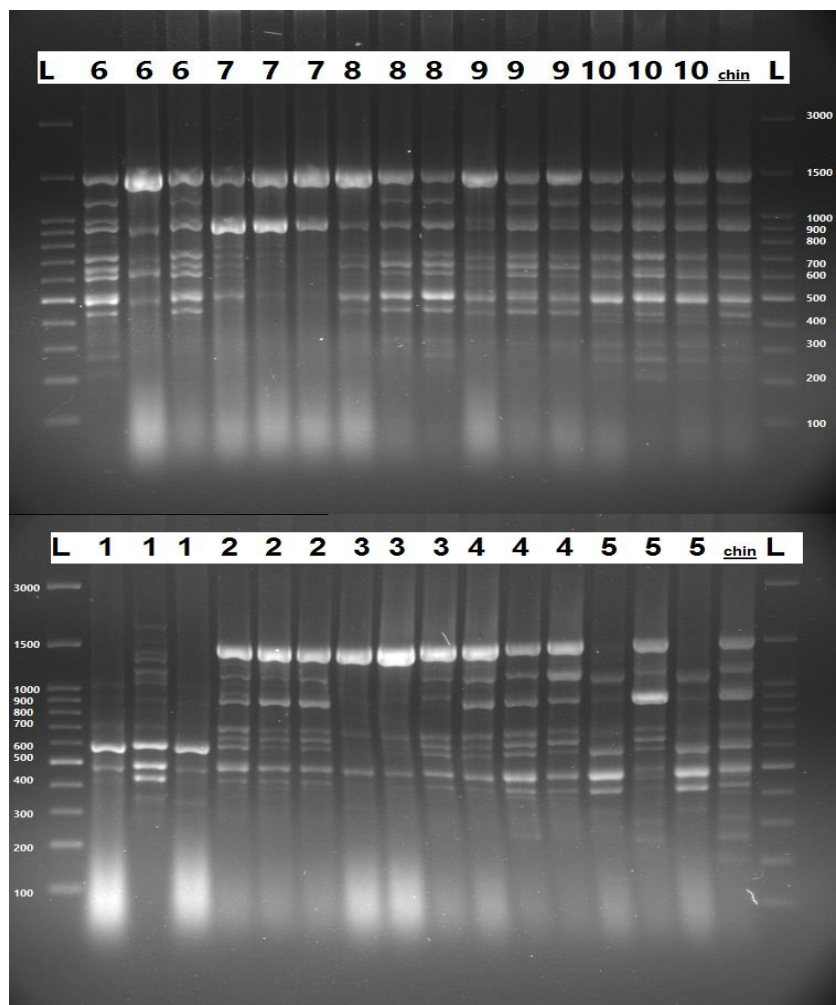
نشانه‌های AFLP و صفات زراعی نشان دادند که تنوع ژنتیکی بالایی درون اکوتیپ‌ها وجود دارد. در نتیجه سرداری احتمالاً یک رقم نبوده بلکه توده‌هایی از اکوتیپ‌ها است و در پژوهش‌های آینده می‌توان اکوتیپ‌های برتر را شناسایی کرد و جایگزین این توده از اکوتیپ‌ها نمود. همچنین می‌توان از آنها جهت معرفی ژنهای جدید در داخل خزانه ژنی گندم نان استفاده کرد (Osmani and Siosemarde, 2009). در مطالعه ایشان همچنین تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانه‌های AFLP و صفات مولکولی به ترتیب اکوتیپ‌های مورد مطالعه را به شش و هشت گروه تقسیم کرد.

نمونه‌های توده بومی خرم‌آباد با آغازگر آی‌اس‌آر ۹ در نوارهایی به اندازه ۱۰۰۰، ۸۰۰، ۷۵۰ و ۲۰۰ جفت باز تنوع نشان دادند و نمونه‌های همین توده با آغازگر آی‌اس‌آر ۲ در نوارهایی به اندازه ۱۹۰۰، ۱۶۰۰، ۱۲۰۰ و ۷۵۰ جفت باز تنوع نشان دادند (نتایج نشان داده نشده‌اند). بررسی درون توده مراغه با آغازگر ۹، ۱۴ باند تولید شد که تنها ۸ باند ایجاد چندشکلی در درون توده را به خود اختصاص داد. میزان اطلاعات چندشکلی برای این آغازگر ۰/۲۵ بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب Jakard و روش گروه‌بندی Single با ضریب کوفنتیک ۰/۹۲ انجام شد و نمونه‌های این توده را به سه گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل ۱۲ نمونه، گروه دوم شامل دو نمونه و گروه سوم تنها یک نمونه را شامل شد که نشان می‌دهد گروه اول و گروه سوم بیشترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارند. در بررسی درون توده مراغه با آغازگر ۲، ۶ باند تولید شد که تنها ۲ باند ایجاد چندشکلی کرد که میزان ۳۳/۳۳ درصد چندشکلی در درون توده را به خود اختصاص داد. اطلاعات چندشکلی برای این آغازگر ۰/۱۵ بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب simple matching و روش گروه‌بندی UPGMA با ضریب کوفنتیک ۰/۹ انجام شد و نمونه‌های این توده را به دو گروه تقسیم کرد.

تلاقی یا تولید ارقام هیبرید خواهد بود. بر این اساس برای حصول نتایج برتر نمونه‌ها و توده‌هایی از گروه‌هایی با فواصل ژنتیکی دورتر را می‌توان با یکدیگر تلاقی داد.

پس از بررسی تنوع بین توده‌ها و با توجه تعداد باندی که هر آغازگر تولید کرد و با بررسی تنوعی که بین هر سه نمونه توده‌ها دیده شد، برای بررسی دقیق‌تر تنوع ژنتیکی درون توده‌ها، توده‌های بومی خرم‌آباد و مراغه انتخاب و از هر کدام ۱۵ نمونه استخراج DNA شدند و با آغازگرهای ۹ و ۲ مورد آزمون قرار گرفتند. در بررسی درون توده خرم‌آباد با آغازگر ۹، ۱۳ باند تولید شد که تنها ۴ باند ایجاد چندشکلی کرد که میزان ۳۰/۷۶ درصد چندشکلی در درون توده را به خود اختصاص داد (نتایج نشان داده نشده‌اند). اطلاعات چندشکلی برای این آغازگر ۰/۱۲ بود (جدول ۷). تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب simple matching و روش گروه‌بندی single با ضریب کوفنتیک ۰/۹۱ انجام شد و نمونه‌های این توده را به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل دو نمونه ۱ و ۳ و بقیه نمونه‌ها در گروه دوم قرار گرفتند. گروه دوم به پنج زیرگروه تقسیم شد که نشان‌دهنده تنوع بالا در بین ژنوتیپ‌های این توده بود (نتایج نشان داده نشده‌اند) و در بررسی درون توده خرم‌آباد با آغازگر ۲، ۱۳ باند تولید شد که تنها ۴ باند ایجاد چندشکلی کرد که برابر ۳۰/۷۶ درصد چندشکلی در درون توده بود (نتایج نشان داده نشده‌اند). تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب simple matching و روش گروه‌بندی UPGMA با ضریب کوفنتیک ۰/۹ انجام شد و نمونه‌های این توده را به دو گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل ۱۰ نمونه و گروه دوم شامل پنج نمونه را شامل شد. اطلاعات چندشکلی برای این آغازگر ۰/۱۲ بود (نتایج نشان داده نشده‌اند). همان‌طور که مشاهده می‌شود برای آغازگرهای ۹ و ۲ میزان چندشکلی در توده خرم‌آباد یکسان بود و برای این توده یک سطح کارایی داشتند.

در تحقیقی Osmani و Siosemarde در بررسی تنوع ژنتیکی درون اکوتیپ‌های گندم سرداری با استفاده از



شکل ۲- الگوی نواری PCR محصولات آغازگر آی‌اس‌اس‌آر ۹ برای نمونه‌های توده‌های بومی گندم ایرانی (نمونه‌های ۱: خرم‌آباد، ۲: خوی، ۳: اهواز، ۴: اصفهان، ۵: مراغه، ۶: مشهد، ۷: ارومیه، ۸: تربت‌حیدریه، ۹: شیراز، ۱۰: اردبیل و ۱۱: چینی بهاره)

Figure 2. Banding pattern of PCR products of ISSR- 9 primer for samples of Iranian wheat landraces (samples 1: Khoramabad; 2: Khoy; 3: Ahwaz; 4: Isfahan; 5: Maragheh; 6: Mashhad; 7: Urmia; 8: Torbat-e Heydarieh; 9: Shraz; 10: Ardabil and 11: Chinese spring)

وضعیت کلی تنوع درون توده‌های بومی گندم مورد بررسی با استفاده از ۱۰ آغازگر مورد بررسی در جدول ۸ خلاصه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌گردد بیشترین تنوع درون توده برای توده‌های خرم‌آباد و مراغه مشاهده گردید و در سایر توده‌ها تنوع کمتری مشاهده شد. درحالی‌که در توده شیراز هیچ تنوعی ثبت نگردید که نشان می‌دهد که روند تکامل و انتخاب در دو توده خرم‌آباد و مراغه همچنان در حال انجام است و از نظر سطح تثبیت ژنی سایر توده‌ها در مراحل پیشرفته‌تری قرار دارند.

گروه اول شامل ۱۲ نمونه، گروه دوم سه نمونه را شامل شد (نتایج نشان داده نشده‌اند). با توجه به نتایج بدست آمده آغازگر ۹ درصد چندشکلی بیشتر و اطلاعات بالایی را نسبت به آغازگر ۲ برای توده مراغه نشان داد. نمونه‌های توده مراغه با آغازگر آی‌اس‌اس‌آر ۹ در نوارهایی به اندازه ۲۰۰، ۱۵۰۰، ۱۲۰۰، ۸۰۰، ۷۰۰، ۶۵۰، ۳۲۰، ۲۸۰، ۲۶۰ و ۲۰۰ جفت‌باز تنوع نشان دادند. نمونه‌های همین توده با آغازگر آی‌اس‌اس‌آر ۲ در نوارهایی به اندازه ۷۷۰ و ۵۰۰ جفت‌باز تنوع نشان دادند.

جدول ۷- بررسی نمونه‌های درون توده خرم‌آباد با آغازگر ۹

Table 7. Evaluation of samples from Khorramabad landrace with ISSR-9 primer

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر Primer sequence	تعداد باندهای تولیدشده Number of Produced bands	تعداد باندهای چندشکل Number of Polymorphic bands	درصد باندهای چند شکل Percent of Polymorphic bands	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) Polymorphic information content
ISSR-9	5-CACACACACACAGCG-3	13	4	30.76	0.12

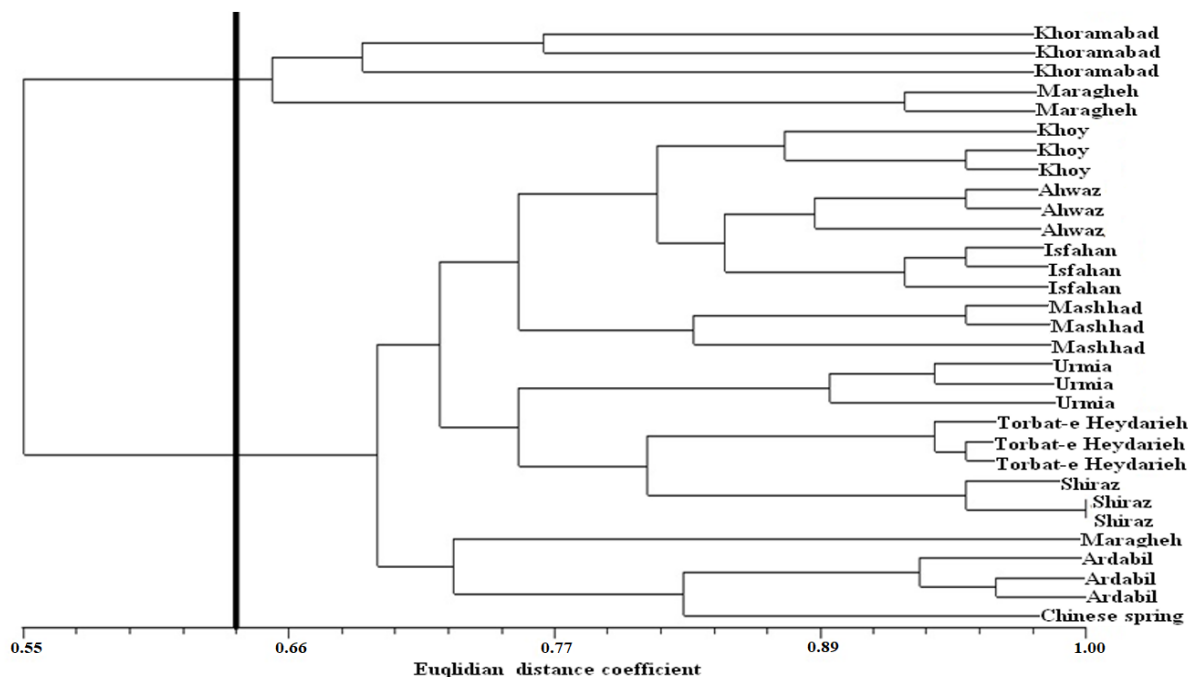
جدول ۸- وضعیت تنوع درون توده‌های بومی گندم ایرانی با استفاده از ۱۰ آغازگر آی‌اس‌اس‌آر مورد بررسی

Table 8. Intra landrace variation of Iranian wheat by using of ISSR primers

Primer/ آغازگر	ISSR									
	1	2	3	4	5	7	9	10	14	20
Khoramabad	-	*	-	*	*	*	*	*	*	-
Khoy	-	-	*	-	-	*	*	-	-	-
Ahwaz	*	-	-	-	-	*	*	-	-	-
Isfahan	-	-	-	-	-	*	-	*	-	-
Maragheh	-	*	*	-	*	-	*	*	-	*
Mahhsad	-	*	-	-	-	-	*	*	*	-
Urmia	-	-	-	-	-	*	-	-	*	*
Torbat-e Heydarieh	-	-	-	-	-	*	*	*	*	-
Shiraz	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ardabil	-	-	-	-	*	*	-	-	*	-

* و - : به ترتیب به معنی وجود و عدم وجود تنوع ژنتیکی است

* and -: Genetic variation and no genetic variation, respectively



شکل ۳- دندروگرام نمونه‌های توده‌های بومی گندم ایرانی بر اساس فاصله اقلیدسی با روش UPGMA روی داده‌های

نشانه‌گر ISSR

Figure 3. Clustering of Iranian wheat landraces based on Euclidean distance with UPGMA method for ISSR markers data

مدیریت حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی در بانک‌های ژن نیز حائز اهمیت است. بر اساس دندروگرام حاصل با استفاده از روش UPGMA با استفاده از ضریب تشابه ساده نمونه‌ها به دو گروه تقسیم شدند که نمونه‌های خرم‌آباد و مراغه در گروه اول و نمونه‌های خوی، اهواز، اصفهان، مشهد، ارومیه، تربت‌حیدریه، شیراز و اردبیل در گروه دوم قرار گرفتند. بررسی میزان قرابت با تجزیه خوشه‌ای نشان داد که نمونه‌های توده خرم‌آباد با نمونه‌های توده مراغه کمترین و توده خرم‌آباد با توده اردبیل بیشترین فاصله ژنتیکی را داشتند. در کل بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان ادعا نمود که توده‌های بومی گندم ایرانی همچنان منبع ژنی مناسبی برای استفاده در برنامه‌های اصلاح این گونه محسوب می‌شوند.

درک و آگاهی از تنوع و شباهت ژنتیکی در درون توده‌ها یا جمعیت‌ها برای استفاده مؤثر از منابع ژنتیکی در یک برنامه اصلاحی ضروری است. در مجموع، نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نشانگر ISSR به‌خوبی توانست تنوع ژنتیکی بین و درون توده‌های بومی گندم‌ها را آشکار نماید. در ضمن نتایج نشان دادند که سطح تنوع ژنتیکی بین توده‌های بومی گندم ایرانی متفاوت است به‌طوری‌که بیشترین تنوع درون توده خرم‌آباد و کمترین آن در توده شیراز مشاهده شد. در کل تنوع درون توده‌ای قابل توجهی برای توده‌های بومی گندم خرم‌آباد، مراغه و تربت‌حیدریه از نظر نشانگرهای آی‌اس‌اس‌آر وجود داشت درحالی‌که برای توده‌های خوی، اهواز، اصفهان، مشهد، ارومیه، شیراز و اردبیل تنوعی ناچیزی مشاهده شد. این یافته علاوه بر اثبات پتانسیل ژنتیکی موجود در این جمعیت‌ها در امور

References

- Abou-Deif, M.H., Rashed, M.A., Sallam, M.A.A., Mostafa, E.A.H. and Ramadan, W.A.** (2013). Characterization of twenty wheat varieties by ISSR markers. *Middle-East Journal of Scientific Research*, **15(2)**: 168-175.
- Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.** (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics*, **32**: 314-331.
- Carvalho, A., Lima-Bito, J., Macas, B. and Guedes-Pinto, H.** (2010). Genetic variability analysis of a collection of old Portuguese bread wheat using ISSRs. *Options Méditerranéennes*, **81**: 35-38.
- Darvishian, A., Ismaili, A., Nazarian-Firouzabadi, F. and Mirdrikvand, R.** (2016). Assessment of genetic diversity among wheat genotypes of west Iran, using randomized markers. *Plant Genetic Researches*, **2(2)**: 47-56 (In Persian).
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L.** (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, **19**: 11-15.
- Evenson, R.E. and Gollin, D.** (2003). Assessing the impact of the green revolution. *Science*, **300**: 758-762.
- Gulnar, S., Ellada, A., Rau, Q., Roham, E., Samira, S. and Javid, O.** (2015). Molecular diversity and genetic structure of durum wheat landraces. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*, **14(2)**: 112-120.
- Nazari, M. and Abdolshahi, R.** (2014). Evaluation of genetic diversity in bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using morpho-physiological traits and SSR markers. *Journal of Agricultural Biotechnology*, **6(1)**: 215-231 (In Persian).
- Nikooseresht, R. and Najafian, G.** (2016). Genetic Diversity and Heritability for the Selection in Bread Wheat Lines in Kermanshah. *Plant Genetic Researches*, **3(1)**: 75-88 (In Persian).
- Osmani, J. and Siosemarde, A.** (2009). Evaluation of genetic diversity in Sardary wheat ecotypes by AFLP molecular markers. *Modern Genetics Journal*, **4**: 39-48.
- Saada, I. and Laward, S.** (2015). Molecular characterization of some Syrian bread wheat cultivars. *International Journal of ChemTech Research*, **8(7)**: 133-139.
- Sofalian, O., Chaparzadeh, N., Javanmard, A. and Hejazi, M.S.** (2008). Study the genetic diversity of wheat landraces from northwest of Iran based on ISSR molecular markers. *International Journal of Agriculture and Biology*, **10**: 466-468 (In Persian).

- Yanfang, Z., Jin, H., Rui, H., Yang, W. and Shuijin, Z.** (2011). Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using ISSR and fluorescence- labeled TP-M13-SSR markers. *Australian Journal of Crop Science*, **5(7)**: 846-850.
- Zamaniafard, Z., Etminan, A., Mohammadi, R. and Shoostari, L.** (2015). Evaluation of Molecular Diversity of durum wheat genotypes using ISSR markers. *In Biological Forum*, **7(1)**: 214-218.
- Zhou, Y., Zhou, C., Yao, H., Liu, Y. and Tu, R.** (2008). Application of ISSR markers in detection of genetic variation among Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb) cultivars. *Life Science Journal*, **5(4)**: 6-12.

Genetic Variation Pattern of Iranian Wheat Landraces Based on ISSR Molecular Markers and Morphological Traits

Arash Salami¹, Mohammadhadi Pahlevani^{2,*}, Khalil Zenalinezhad³
and Mohsen Esmaeilzadeh Moghaddam⁴

- 1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 4- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

(Received: October 3, 2017 – Accepted: February 21, 2018)

Abstract

Collection and conservation of germplasm, particularly for landraces of important agronomically species and organizing their information, cause to continuity of their usefulness and reduce the risk of their genetic erosion. In this experiment, 10 Iranian wheat landraces along with the Chinese Spring cultivar, as control, were used to assess inter and intra populations variation by using ISSR molecular markers and morphological traits. Evaluation of populations in terms of height, spike length, awn length, number of spike nodes, number of grains per spike, flag leaf length and grain weight showed that there were considerable variation among landraces. Also, in some landraces like KhorramAbad and Ardabil, intra population diversity for some of these traits, such as plant height and length of awn, was obvious. Evaluation of the landraces for ISSR markers showed that among 99 scored bands, 78 bands were polymorphic. Percent of polymorphism with mean of 81.88 % was varied from 53.33 for primer of ISSR-4 to 100% for primers of ISSR-9, ISSR-14, ISSR-5 and ISSR-7. Average PIC of the landraces was estimated 3.0. Results of this study showed that there was considerable intra population diversity for the ISSR markers in landraces of KhorramAbad, Maragheh and Torbat-e-Heydarieh however, a little diversity for Khoy, Ahwaz, Isfahan, Mashad, Urmia, Shiraz and Ardabil was observed. Results of this study showed that there is inter and intra genetic diversity within Iranian landraces of wheat with different levels and these landraces can be used as basic population for extraction of pure lines.

Keywords: ISSR, Genetic Diversity, Germplasm, Clustering

* Corresponding Author, E-mail: hpahlavani@ gau.ac.ir