دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی در ارقام و لاین‌های گندم ایرانی با استفاده از نشانگرهای SSR

رخساره رحمانی اصل[۱]، ایرج برنوسی[۲] و بابک عبدالهی مندولکانی[۳]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: i.bernosi@urmia.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۱۴

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

چکیده

بهبود ژنتیکی گیاهان زراعی، از جمله گندم متکی بر وجود تنوع ژنتیکی است. در این تحقیق ساختار و تنوع ژنتیکی ۹۹ لاین و ٤۹ رقم گندم با استفاده از ۲۰ جفت آغازگر SSR بررسی شد. از آغازگرهای مورد استفاده، ۱۹ آغازگر در بین ارقام و لاین‌ها مورد مطالعه چندشکل بودند و در مجموع ٦۷ آلل چند شکل تکثیر شد. تعداد آلل در هر مکان از ۱ (Xgwm44) تا ۷ (Xgwm47) متغیر و میانگین آن ۳/۵ بود. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) از ۰/۷۱ (Xgwm149) تا ۰/۲۷ (Xgwm469) متغیر بود. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و بیشترین شاخص اطلاعاتی شانون (I) به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۸۸ بود. مقادیر تعداد آلل، شاخص اطلاعاتی شانون و میانگین هتروزیگوسیتی موردانتظار در لاین‌های مورد مطالعه کمی بیشتر از ارقام بود. متوسط ضرایب تمایز ژنی بین لاین‌ها و ارقام (Fst) و مقدار جریان ژنی (Nm) برای تمامی آغازگرها به ترتیب برابر ۰/۰٦۷ و ٦/۹٦ بود. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را درون لاین‌ها + ارقام (۹۲٪) در مقایسه با بین لاین‌ها و ارقام (۸٪) نشان داد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضرایب تشابه تطابق ساده به روش UPGMA انجام شد. دامنه ضرایب تشابه از ۰/٤۰ تا ۱ متغیر و میانگین آن ۰/۷ بود. بر اساس تجزیه خوشه‌ای ۱٤۸ لاین و رقم گندم در ۵ گروه اصلی قرار گرفت. برخی لاین‌ها که در گروه‌های مشابه قرار گرفتند از نظر منشاء جغرافیایی نزدیک به هم بودند. شباهت ژنتیکی بالای بین ارقام می‌تواند نشان‌دهنده کاهش پایه ژنتیکی ژرم‌پلاسم گندم نان در ایران باشد. به هر حال مطابق با فاصله ژنتیکی بین گروه‌های مختلف، لاین‌ها می‌توانند به عنوان والدین بالقوه در برنامه‌های اصلاحی گندم مورد استفاده قرار بگیرند.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، نشانگرهای SSR، هتروزیگوسیتی موردانتظار، شاخص اطلاعاتی شانون، محتوای اطلاعات چند شکلی

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از منابع اصلی کالری و پروتئین جمعیت جهان است که در بیشتر کشورها از جمله ایران، به طور وسیع کشت می‌شود. بهبود ژنتیکی گیاهان زراعی، همچنین گندم متکی بر وجود تنوع ژنتیکی است. این در حالی است که ایران به عنوان یک مرکز برای اهلی شدن گندم و تنوع ژنتیکی آن مطرح است (۲۳). در برنامه‌های اصلاحی برای ایجاد ارقام جدید، داشتن تنوع ژنتیکی وسیع، مطلوب است. زیرا تلاقی میان والدینی که شباهت کمتری دارند، امکان تفکیک وسیع‌تر و ترکیب آلل‌های مطلوب متفاوت را فراهم می‌آورد (۶). از طرف دیگر، حفظ تنوع ژنتیکی کافی برای ایجاد ارقام جدید و متفاوت به منظور گسترش پایه ژنتیکی و جلوگیری از خطرات احتمالی آسیب‌پذیری ژنتیکی امری حیاتی است (۱۷). از این رو، آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی و برآورد آن در ژرم‌پلاسم گیاهان و تعیین روابط ژنتیکی مواد اصلاحی، ضروری است (۳۱). بررسی تنوع می‌تواند با استفاده از داده‌های فنوتیپی و یا نشانگرهای مولکولی انجام گیرد. به هر حال فنوتیپ محدودیت‌هایی دارد زیرا تحت تاثیر عوامل محیطی و مرحله رشد گیاه قرار می‌گیرد (۴). نشانگرهای مولکولی از ابزارهای مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی هستند (۱۲). چندین گزارش از بررسی تنوع ژنتیکی در گندم با استفاده از سیستم‌های مختلف نشانگرهای مولکولی از جمله RAPD (۱)، AFLP (۱۵)، STS (۲۹)، IRAP و REMAP (۷)، SSR (۳، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۲۱، ۲۶، ۲۷ و ۳۰) وجود دارد. در میان نشانگرهای مولکولی، توالی‌های تکراری ساده (SSRs) یا ریزماهواره‌ها از نشانگرهای ژنتیکی مهم در بیشتر گونه‌های زراعی از جمله گندم به‌شمار می‌روند (۱۶). این نشانگرها فراوان هستند، هم‌بارزند، دارای مکان‌های ژنی اختصاصی هستند، در سرتاسر ژنوم پراکنده‌اند و سطح بالایی از چند شکلی را نسبت به سایر نشانگرها نشان می‌دهند (۲۴). این ویژگی‌ها به همراه سهولت در ردیابی آن‌ها، این نشانگرها را برای شناسایی و تمایز ژنوتیپ‌های خیلی مشابه، ایده‌آل ساخته است (۲۵). بر اساس نتایج حاصل از مطالعات قبلی تنوع نسبتاً پایینی در ارقام تجاری گندم نان ایران وجود دارد (۸، ۱۸، ۲۰). از این‌رو ارزیابی تنوع ژنتیکی لاین‌ها از مناطق مختلف جغرافیایی به منظور توسعه ژرم پلاسم گندم کشور ضروری است. هدف از این مطالعه بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی ۴۹ رقم به همراه ۹۹ لاین خالص گندم، استخراجی از توده‌های بومی مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره (SSR) بود تا امکان استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی گندم در کشور فراهم شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

مواد گیاهی شامل ۹۹ لاین خالص گندم نان استخراجی از توده‌های بومی مناطق مختلف ایران (جدول ۱)، ۴۶ رقم تجاری گندم نان کشور شامل آرتا، مرودشت، شاه‌پسند، هیرمند، اینیا، کرج۳، نوید، نیک‌نژاد، پیشگام، مروارید، کاوه، مغان۱، گاسپارد، عدل، رسول، شهریار، مهدوی، شعله، اترک، دریا، چناب، گاسکوژن، گلستان، سرداری، قدس، مغان۳، سرخ تخم، سیستان، هامون، Vee/Nack، کویر، اکبری، داراب۲،

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

M17، کرج۲، روشن، آزادی، الموت، دز، پیشتاز، زرین، شیراز، بیات، بهار، سپاهان، بم و سه رقم گندم دوروم شامل آریا، بهرنگ و دنا بود. بذور ارقام و لاین‌ها از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند. ارقام و لاین‌ها در گلدان‌های کوچک در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه کشت و DNA ژنومی از نمونه‌های برگی گیاهچه‌های ۹–۸ روزه به روش CTAB تغییر یافته (۵) استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد.

واکنش‌های SSR و تجزیه داده‌ها

در این تحقیق از ۲۰ جفت نشانگر SSR استفاده شد که توالی، مکان کروموزومی، موتیف شناسایی و دمای آغازگرهای مورد مطالعه در جدول ۲ آمده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به روش رودر و همکاران (۲۲) انجام گرفت. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۳ درصد تفکیک شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، امتیاز دهی باندها به صورت هم‌بارز انجام گرفت. به منظور مقایسه قدرت تمایز آغازگرها شاخص‌های تعداد آلل‌ها (N*a*)، تعداد آلل‌های مؤثر (N*e*)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H*e*)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H*o*)، محتوای اطلاعاتی چندشکلی (PIC)، ضرایب تمایز ژنی بین لاین‌ها و ارقام (F_{ST}) و مقدار جریان ژنی (N*m*) برای هر آغازگر چند شکل در ۱۴۸ لاین و رقم محاسبه شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای تقسیم تنوع ژنتیکی کل به درون و بین لاین‌ها و ارقام، و تجزیه کلاستر به روش UPGMA و بر اساس ضریب تشابه تطابق ساده (SM) برای گروه‌بندی لاین‌ها و ارقام انجام گرفت. برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای GenAlEx V6.501 و PowerMarker V3.25 استفاده شد.

جدول ۱– منشاء لاین‌های گندم نان مورد مطالعه

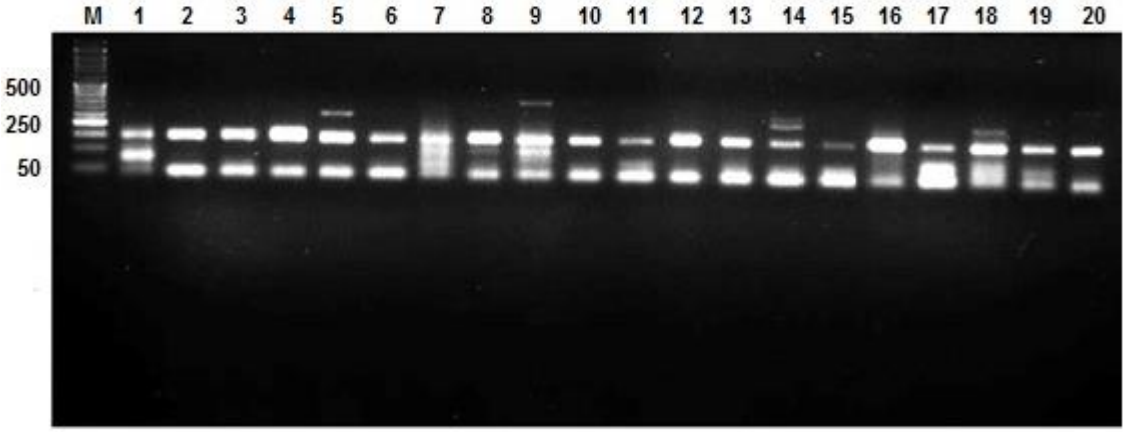
Table 1. Origin of the studied bread wheat lines

ردیف	لاین	منشاء	ردیف	لاین	منشاء	ردیف	لاین	منشاء	ردیف	لاین	منشاء
۱	KC1	تبریز	۲۶	KC110	خوی	۵۱	KC146	خوی	۷۶	KC179	ارومیه
۲	KC2	تبریز	۲۷	KC111	خوی	۵۲	KC147	خوی	۷۷	KC180	ارومیه
۳	KC5	تبریز	۲۸	KC113	خوی	۵۳	KC149	خوی	۷۸	KC183	ارومیه
۴	KC6	تبریز	۲۹	KC114	خوی	۵۴	KC151	خوی	۷۹	KC608	کرمانشاه
۵	KC7	تبریز	۳۰	KC115	خوی	۵۵	KC152	خوی	۸۰	KC609	کرمانشاه
۶	KC8	تبریز	۳۱	KC116	خوی	۵۶	KC154	خوی	۸۱	KC1080	تربت حیدریه
۷	KC11	تبریز	۳۲	KC117	خوی	۵۷	KC155	خوی	۸۲	KC1082	تربت جام
۸	KC12	تبریز	۳۳	KC120	خوی	۵۸	KC156	خوی	۸۳	KC1544	کرمانشاه
۹	KC13	تبریز	۳۴	KC121	خوی	۵۹	KC157	خوی	۸۴	KC1545	کرمانشاه
۱۰	KC15	تبریز	۳۵	KC122	خوی	۶۰	KC158	خوی	۸۵	KC1546	کرمانشاه
۱۱	KC16	تبریز	۳۶	KC125	خوی	۶۱	KC159	خوی	۸۶	KC1547	کرمانشاه
۱۲	KC18	تبریز	۳۷	KC126	خوی	۶۲	KC161	خوی	۸۷	KC1548	کرمانشاه
۱۳	KC19	تبریز	۳۸	KC128	خوی	۶۳	KC164	خوی	۸۸	KC1549	کرمانشاه
۱۴	KC20	تبریز	۳۹	KC129	خوی	۶۴	KC165	خوی	۸۹	KC1550	کرمانشاه
۱۵	KC21	تبریز	۴۰	KC130	خوی	۶۵	KC167	خوی	۹۰	KC1661	کرمانشاه
۱۶	KC22	تبریز	۴۱	KC131	خوی	۶۶	KC168	خوی	۹۱	KC1662	کرمانشاه
۱۷	KC23	تبریز	۴۲	KC132	خوی	۶۷	KC169	خوی	۹۲	KC1711	سبزوار
۱۸	KC25	تبریز	۴۳	KC133	خوی	۶۸	KC170	خوی	۹۳	KC1713	سبزوار
۱۹	KC26	تبریز	۴۴	KC136	خوی	۶۹	KC171	خوی	۹۴	KC1717	سبزوار
۲۰	KC27	تبریز	۴۵	KC137	خوی	۷۰	KC172	خوی	۹۵	KC1720	سبزوار
۲۱	KC28	تبریز	۴۶	KC138	خوی	۷۱	KC173	خوی	۹۶	KC1721	سبزوار
۲۲	KC29	تبریز	۴۷	KC139	خوی	۷۲	KC174	خوی	۹۷	KC1723	سبزوار
۲۳	KC30	تبریز	۴۸	KC140	خوی	۷۳	KC175	خوی	۹۸	KC1724	سبزوار
۲۴	KC31	تبریز	۴۹	KC142	خوی	۷۴	KC177	ارومیه	۹۹	KC1726	مشهد
۲۵	KC32	تبریز	۵۰	KC145	خوی	۷۵	KC178	ارومیه			

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

نتایج و بحث

برای انتخاب مکان‌های SSR مورد استفاده در این تحقیق سعی شد از نشانگرهایی استفاده شود که از گروه‌های لینکاژی متفاوت و ژنوم‌های مختلف (A، B و D) باشد همچنین نشانگرهایی انتخاب شد که در تحقیقات و مطالعات قبلی چندشکلی بالایی نشان داده بودند. از ۲۰ جفت آغازگر SSR مورد استفاده، به استثنای آغازگر Xgwm44، سایر آغازگرها چندشکلی نشان دادند. از این‌رو تجزیه‌ها بر اساس ۱۹ جفت آغازگر چندشکل انجام شد. نمونه‌ای از الگوی باندی ایجاد شده توسط آغازگر Xgwm52 در شکل ۱ آورده شده است. برای پی بردن به الگوی تنوع در ارقام و لاین‌ها، فاصله‌های ژنتیکی براساس ضریب تطابق ساده برآورد شد و سپس دندروگرام با الگوریتم UPGMA ترسیم گردید. بر اساس دندروگرام حاصل (شکل ۲)، نمونه‌های گندم دوروم شامل دنا، بهرنگ و آریا با فاصله ژنتیکی بسیار زیاد در گروهی مجزا از سایر لاین‌ها و ارقام هگزاپلوئید قرار گرفتند که بیانگر نمره‌دهی دقیق باندها بوده است و همانطور که انتظار می‌رفت با توجه به اینکه تعدادی از آغازگرها از ژنوم D انتخاب شده بودند، این آغازگرها براحتی توانسته‌اند تمایز نمونه‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید را ایجاد نمایند. لاین‌ها و ارقام هگزاپلوئید در کل به دو زیرگروه عمده تقسیم شدند. طوری‌که در زیرگروه اول ۲۹ رقم و ۶۰ لاین در کنار هم قرار گرفتند. البته این زیر گروه به دو زیر گروه دیگر تقسیم شد که تمامی ۲۹ رقم گروه‌بندی شده در این زیر گروه به همراه لاین‌های KC152، KC156، KC159، KC167 و KC175 از شهرستان خوی، لاین‌های KC178 و KC183 از شهرستان ارومیه و لاین‌های KC1546 و KC1717 به ترتیب از شهرستان‌های کرمانشاه و سبزوار در یک گروه طبقه‌بندی شدند و اعضای زیر گروه دیگر را به طور عمده لاین‌های جمع‌آوری شده از شهرستان دیگر با فاصله‌های ژنتیکی کمتر تشکیل دادند. طوری‌که لاین‌های جمع‌آوری شده از شهرستان‌های کرمانشاه، سبزوار و ارومیه به صورت نسبتاً مجزا در گروه‌هایی در کنار هم قرار گرفتند که خود می‌تواند بیانگر تمایز جغرافیایی لاین‌های مورد بررسی باشد. ارقام نیک‌نژاد، مهدوی، شیراز، کویر، بم، سپاهان، اکبری و سیستان که در این زیر زیر گروه در کنار هم قرار گرفتند، جزو ژنوتیپ‌های سازگار به شرایط اقلیمی معتدل می‌باشند. بر اساس شجره، پیشتاز و الموت نیز از ارقامی هستند که در تولید آن‌ها از ارقام خارجی استفاده شده است (۱۴). در زیر گروه دوم ۱۷ رقم در کنار ۳۹ لاین گروه‌بندی شدند که به استثنای لاین‌های KC1720 از سبزوار، KC1661 و KC1549 از کرمانشاه و KC177 از ارومیه بقیه لاین‌ها از مناطق خوی و یا تبریز بودند که از لحاظ جغرافیایی نزدیک به هم هستند. در این زیر گروه نیز ارقام با فاصله کمتری در کنار هم گروه‌بندی شدند. قرارگرفتن ارقام چناب، قدس و روشن، هیرمند با M17 با فاصله‌های ژنتیکی کم در کنار هم با استفاده از نشانگرهای SSR قبلاً نیز گزارش شده است (۱۴). در حالت کلی در ارقام مورد بررسی گروه‌بندی مشخصی بر اساس مناطق مورد کشت، زمستانه و پاییزه بودن و یا منشأ معرفی ارقام مشاهده نشد. براساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ارقام دوروم از نمونه‌های گندم نان تفکیک شد و ارقام گندم نان نیز در دو گروه مجزا قرار گرفتند (شکل ۳). قرار گرفتن برخی از ارقام و لاین‌ها در یک گروه بر اساس تجزیه کلاستر به واسطه داشتن شباهت بیشتر از نظر نشانگرهای SSR مورد استفاده در این مطالعه می‌باشد که ممکن است ناشی از زمینه ژنتیکی مشابه و روابط خویشاوندی آن‌ها باشد. از این‌رو نتایج این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی گندم به منظور ایجاد تنوع بیشتر مفید باشد. همچنین با توجه به تنوع موجود در بین لاین‌ها و تفاوت آن‌ها با ارقام، این لاین‌ها را می‌توان به عنوان منابع متنوع بالقوه‌ای در نظر گرفت و از آن‌ها در گسترش پایه ژنتیکی ارقام اصلاحی گندم سود برد.



شکل ۱- الگوی باندی مربوط به آغازگر Xgwm52 برای ۲۰ لاین گندم (شماره ژنوتیپ‌ها ۷، ۸، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۸-۲۳، ۲۵-۳۱، مطابق جدول ۱ ؛ M = نشانگر اندازه GeneRuler ۵۰ جفت باز).

Figure 1. Banding patterns amplified by Xgwm52 primer for 20 wheat lines (Genotypes numbers 7, 8, 11, 12, 13, 15, 16, 18–23, 25-31 as in table 1; M = GeneRuler 50 bp DNA Ladder).

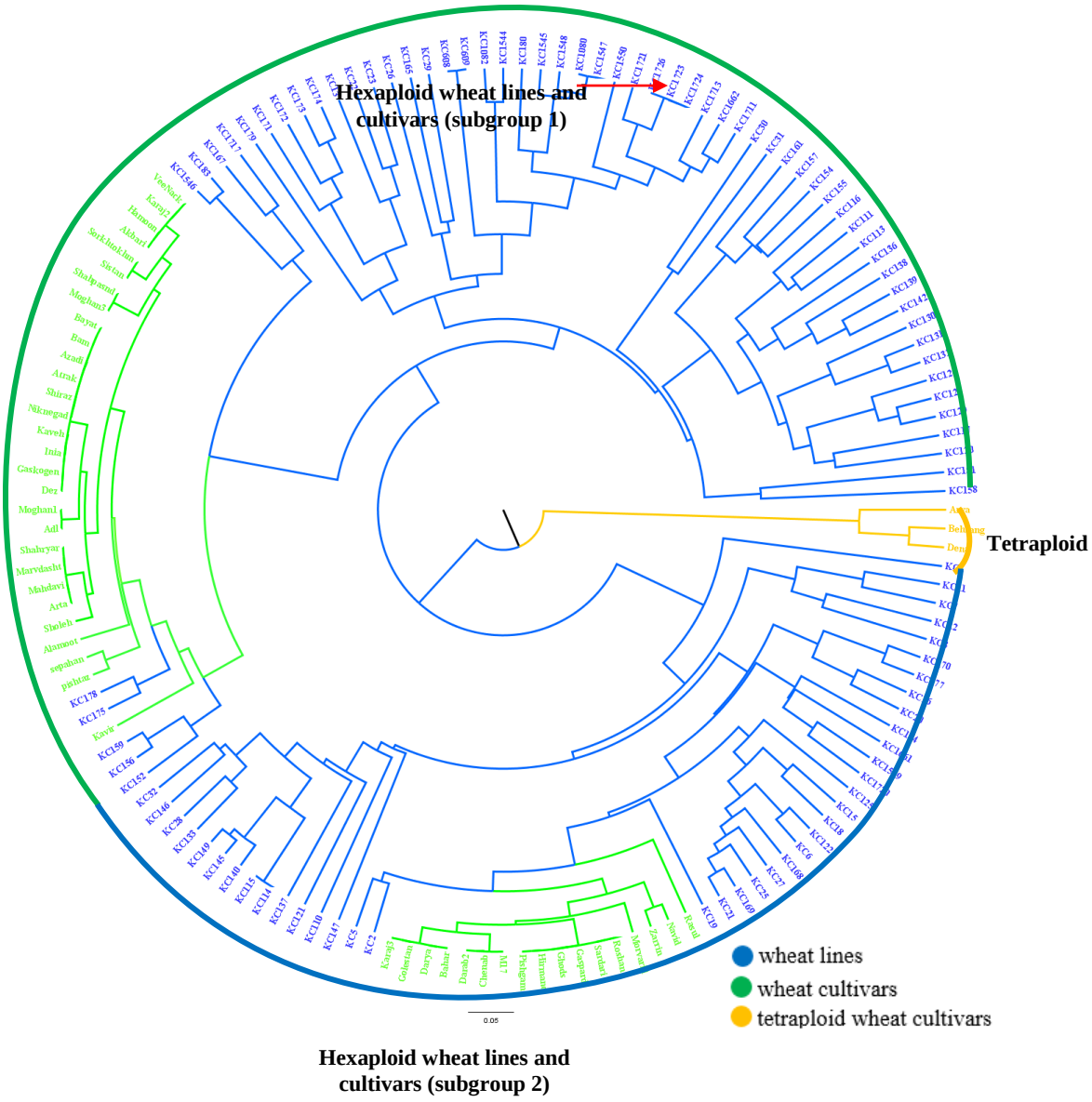
جدول ۲- آغازگر، توالی، مکان‌های کروموزومی، موتیف و دمای اتصال نشانگرهای SSR

Table 2. Primer, sequence, chromosomal locations, motif identify and annealing temperature of SSR markers

آغازگر	مستقیم (5'→3')	معکوس (5'→3')	مکان کروموزومی	دامنه باندی (bp)	موتیف شناسایی	دمای اتصال
Xgwm30	ATCTTAGCATAGAAGGGAGTGGG	TAGTGGTCCCACGTTT	2D,3A	۲۰۵- ۱۹۶	(AT)19(GT)15	۶۰
Xgwm43	CACCGACGGTTTCCCTAGAGT	GTGTACTGTAAACCGTGAGTGG	7B	۱۸۴- ۱۷۶	(CA)22	۶۰
Xgwm44	GTTGAGCTTTTCAGTTCGGC	GTCGAGACACCTACGGTCA	7D	۱۷۸- ۱۷۶	(GA)28	۶۰
Xgwm47	TTGCTACCATGCATGACCAT	TCCTGGAGTTAGCTCCACTT	2A,2B	۱۸۸- ۱۵۵	(CT)7TT(CT)16	۶۰
Xgwm52	CTATGAGGCGGAGGTTGAAG	TTTACCTTCTCGTGGCGT	3D	۱۴۲- ۱۲۸	(GT)4AT(GT)20	۶۰
Xgwm95	GATCAAACACACACCCCTCC	GCCCAAAAAGTGAATCGTAA	2A	۱۲۸- ۱۱۶	(AC)16	۶۰
Xgwm136	GACAGCACCTTGCCCTTTG	CTACTCGTACAACGGCTAC	1A	۳۲۱- ۲۷۸	(CT)58	۶۰
Xgwm149	CATTGTTTTCTGCCTCTAGCC	GAACAAGTCCAAGCTACGATC	4B	۱۶۱- ۱۵۲	(GA)23	۵۵
Xgwm153	GATCTCGTCACCCGGAATTC	GAGAGGCAGGAAGAGATGGT	1B	۱۹۵- ۱۸۴	(GA)18	۶۰
Xgwm160	TTCAATTCAGTCTTGGCTTGG	CCACATGAAAAAAAGGACGTC	4A	۱۹۴- ۱۸۴	(GA)21	۶۰
Xgwm165	TGCAGTGGTCAGAGTTTTCC	CCGCGTTAGACTTTCTTTTC	4A,4D,4B	۲۶۱- ۱۸۸	(GA)20	۶۰
Xgwm182	TGATGTAGTGAGCCCATAGGC	GGAATAAACCGACACACGTT	5D	۱۸۷- ۱۶۳	(CT)18	۶۰
Xgwm191	AGACTGTTGTTTGCGGGC	GTACGTATGTTGACAGCACGAT	6B,5B	۱۳۴- ۱۰۷	(CT)19	۶۰
Xgwm249	CAAATGGATCGAGAAAGGGA	CCATCTAGGTCTTTTTACCGTC	2A,2D	۱۸۰- ۱۵۰	(GA)11(GGA)8	۵۵
Xgwm332	AGCCAGCAAGTCACCAAAAC	CGAAGTGATGAGAAAGGTCGTGA	7A	۲۹۰- ۲۱۱	(GA)36	۶۰
Xgwm337	CCTCTTCCTCCCTCACTTAGC	CCGTTTCCGGTCAATCGT	1D	۱۹۱- ۱۸۲	(CT)5(CACT)6(CA)43	۵۵
Xgwm408	TCGATTTATTTGGGCCACTG	GCACGACACTTGCTTAATATG	5B	۱۸۲- ۱۴۸	(CA)22(TA)(CA)7(TA)9	۵۵
Xgwm427	AAACTTAGAACTGTAATTTCAGA	TTGACAGTTTACTTGTGTGA	6A	۱۹۵- ۱۷۶	(CA)31(CA)22	۵۰
Xgwm469	CAACTCAGTGCTCACACAACG	CCACACCTACTCACCAATAGC	6D	۱۷۲- ۱۷۰	(CT)19(CA)10	۶۰
Xgwm533	AAGGCGAATCAAACGGAATA	CCAAAAGGGGATTTCGTTG	3B	۳۱۶- ۱۲۰	(CT)18(CA)20	۶۰

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

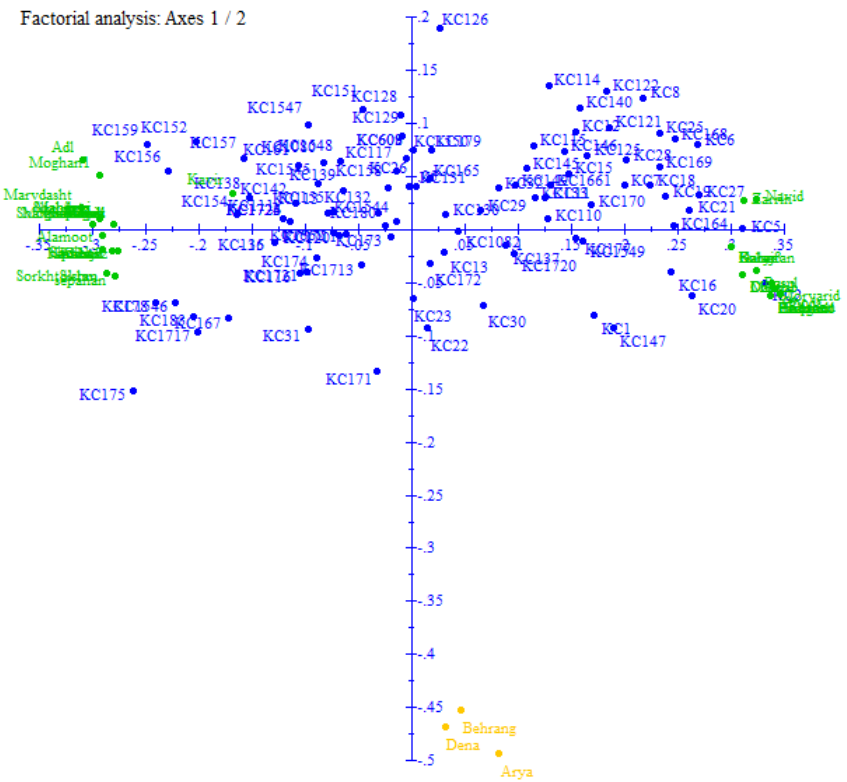
Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019



شکل ۲- دندرو گرام ۱۴۸ رقم و لاین گندم نان ایرانی بر اساس ۱۹ نشانگر SSR با استفاده از ضرایب تشابه تطابق ساده و روش UPGMA

Figure 2. Dendrogram of 148 Iranian bread wheat lines and cultivars using 19 SSR markers based on simple matching coefficients and UPGMA methods.

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019



شکل ۳- تجزیه به مختصات اصلی برای ۱۴۸ لاین و رقم گندم نان ایرانی با استفاده از ۱۹ نشانگر SSR براساس مختصات اول و دوم.
Figure 3. Principal coordinate analysis for 148 Iranian bread wheat lines and cultivars using 19 SSR markers based on first and second coordinates.

در ادامه برای تجزیه‌های مرتبط با تنوع آللی، تمایز ژنتیکی، جریان ژنی و تجزیه واریانس مولکولی بین ارقام و توده‌های بومی، ارقام دوروم به منظور جلوگیری از ایجاد نتایج اریب حذف شده و تجزیه‌ها بر روی نمونه‌های گندم هگزاپلوئید انجام شد. با ۱۹ آغازگر چند شکل، در مجموع ۶۷ آلل چند شکل شناسایی شدند که بیشترین تعداد آلل با ۷ آلل مربوط به آغازگر Xgwm47 بود. بیشتر آغازگرها با ۳ آلل کمترین تعداد آلل را تولید کردند. میانگین تعداد آلل به ازای هر جایگاه برابر ۳/۵۳ مشاهده شد (جدول ۳). نتایج مشابهی در ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از نشانگرهای SSR، با میانگین آلل ۳/۶ (۲)، ۳/۲ (۲۷) و ۳/۰۶ (۲۸) قبلاً گزارش شده است. با این وجود، در برخی مطالعات میانگین تعداد آلل زیادتری گزارش شده است (۱۴،۱۹). یک دلیل احتمالی می‌تواند استفاده از ژل آگارز در این مطالعه باشد که در مقایسه با ژل پلی‌آکریل‌آمید وضوح کمتری دارد. به هر حال تعداد آلل‌های شناسایی شده در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل منشاء و خصوصیات متفاوت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و نیز ماهیت نشانگرهای SSR از نظر تعداد نوکلئوتید واحدهای تکراری متفاوت باشد (۱۴). میانگین تعداد آلل‌های موثر ۲/۰۷ و بیشترین و کمترین آن با مقادیر ۳/۳ و ۱/۳ به‌ترتیب مربوط به نشانگرهای Xgwm149 و Xgwm469 بود. این شاخص علاوه بر تعداد آلل، فراوانی‌های آللی را نیز در نظر می‌گیرد. از این رو امکان مقایسه جمعیت‌هایی با تعداد و فراوانی‌های آللی متفاوت را فراهم می‌آورد. برای یک تعداد آلل معین، بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار، زمانی حاصل می‌شود که فراوانی‌های آللی مساوی باشند. از این رو بیشترین تعداد آلل‌های موثر با بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار به دست می‌آید. شاخص اطلاعاتی شانون از ۰/۴۵ و ۰/۴۷ به ترتیب مربوط به آغازگرهای Xgwm469 و Xgwm30 تا ۱/۲۱ مربوط به آغازگر Xgwm149 متغیر بود که نشان‌دهنده‌ی تنوع ژنتیکی مناسب بین لاین‌ها و ارقام مورد مطالعه است. بیشترین شاخص چند شکلی (محتوای اطلاعات چندشکلی و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار) با مقدار ۰/۶۹ مربوط به آغازگر Xgwm149 و کمترین آن با مقدار ۰/۲۴مربوط به آغازگر Xgwm469 و میانگین آن ۰/۴۸ بود (جدول ۳). ضریب تمایز ژنی بین لاین‌ها و ارقام (*Fst*) به طور متوسط برابر ۰/۰۷۹ محاسبه گردید که آغازگرهای Xgwm182 و Xgwm191 به ترتیب با ۰/۳۰۶ و ۰/۰۰۱ بیشترین و کمترین مقدار را از نظر این شاخص نشان دادند. آماره Phi نسبت تنوع بین جمعیتی را به تنوع کل نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می گردد ۷/۹ درصد از تنوع مشاهده شده در لاین‌ها و ارقام مربوط به تنوع بین لاین‌ها و ارقام بود و ۹۳/۳ درصد تنوع کل مربوط به تنوع دورن لاین‌ها و ارقام می باشد. مقدار جریان ژنی (*Nm*) برای تمامی آغازگرها برابر ۲/۹۳۱ محاسبه شد که این مقدار متأثر از ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها بوده و رابطه عکس با آن دارد. در میان

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

آغازگرهای مورد بررسی نیز بیشترین جریان ژنی بین لاین‌ها و ارقام برای آغازگر Xgwm191 و کمترین جریان ژنی برای آغازگر Xgwm182 مشاهده شد (جدول ۳). میزان اطلاعات چندشکلی، یکی ازشاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از لحاظ قدرت تمایز آن‌ها می‌باشد. از این رو ؟ مکان‌های Xgwm149، Xgwm47، Xgwm249 و Xgwm533 دارای قدرت تمایز و تفکیک بهتری بوده و می‌توان از آن‌ها برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گندم نان بهره برد. نتایج مشابهی با میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی برابر ۰/۴۹ (۲۷)، ۰/۵۰ (۳۰)، ۰/۵۲ (۲۸) و ۰/۶۱ (۲۱) قبلاً گزارش شده است. هم‌خوانی محتوای اطلاعات چند شکلی و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (جدول ۳)، نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تقریباً هموزیگوت می‌باشند. بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر ۰/۸۹ مربوط به مکان Xgwm160 بود. تفاوت قابل ملاحظه بین مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده نیز حاکی از عدم وجود تعادل هاردی واینبرگ است.

جدول ۳- تعداد آلل‌ها (N*a*)، تعداد آلل‌های موثر (N*e*)،شاخص اطلاعاتی شانون (I)، میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H*o*)، میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H*e*)، ضرایب تمایز ژنی (F*st*)، جریان ژنی (N*m*) و محتوای اطلاعاتی چندشکلی (PIC) ۱۹ نشانگر SSR در ارقام و لاین‌های گندم

Table 3. Number of alleles (N*a*), effective number of alleles (N*e*), Shannon's information index (I), Mean observed heterozygosity (H*o*), Mean expected heterozygosity (H*e*), coefficients of gene differentiation (F*st*), gene flow (N*m*) and Polymorphism information content (PIC) of the 19 SSR markers applied to wheat lines and cultivars

نام نشانگر	تعداد آلل	*Na*	*Ne*	*I*	*Ho*	*He*	*Fst*	*Nm*	PIC
Xgwm30	۳	۲/۰±۰/۰	۱/۵±۰/۲۸	۰/۴۷±۰/۱۶	۰/۴۱±۰/۲۲	۰/۳۰±۰/۱۳	۰/۱۳۲**	۱/۶۴۱	۰/۲۴
Xgwm43	۳	۳/۰±۰/۰	۲/۱±۰/۵۳	۰/۸۱±۰/۲۲	۰/۶۶±۰/۲۲	۰/۴۸±۰/۱۳	۰/۰۹۸**	۲/۲۹۲	۰/۴۹
Xgwm44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xgwm47	۷	۵/۵±۱/۵	۲/۴±۰/۲۴	۱/۱۴±۰/۱۵	۰/۱۷±۰/۰۶	۰/۵۹±۰/۰۴	۰/۰۲۱*	۱۱/۸۹۷	۰/۵۷
Xgwm52	۳	۲/۵±۰/۵	۲/۰±۰/۱۲	۰/۷۴±۰/۰۸	۰/۰±۰/۰	۰/۵۰±۰/۰۳	۰/۰۶۴**	۳/۶۵۶	۰/۴۱
Xgwm95	۳	۲/۰±۰/۰	۱/۷±۰/۰۳	۰/۶۱±۰/۰۱	۰/۶۱±۰/۰۲	۰/۴۲±۰/۰۱	۰/۰۰۱ns	۱۸۶/۳۵	۰/۳۳
Xgwm136	۳	۳/۰±۰/۰	۲/۱±۰/۵۹	۰/۸۲±۰/۲۳	۰/۶۶±۰/۲۲	۰/۴۹±۰/۱۴	۰/۱۱۴**	۱/۹۵۰	۰/۵۱
Xgwm149	۴	۳/۵±۰/۵	۳/۳±۰/۳۳	۱/۲۱±۰/۱۲	۰/۵۰±۰/۱۱	۰/۶۹±۰/۰۳	۰/۰۰۲ns	۱۱۶/۹۷	۰/۶۵
Xgwm153	۴	۳/۰±۱/۰	۲/۲±۰/۲۸	۰/۸۴±۰/۱۸	۰/۳۰±۰/۳۰	۰/۵۳±۰/۰۶	۰/۰۳۷**	۶/۵۳۵	۰/۴۶
Xgwm160	۳	۳/۰±۰/۰	۲/۴±۰/۲۶	۰/۹۳±۰/۰۹	۰/۸۹±۰/۱۱	۰/۵۷±۰/۰۵	۰/۰۶۹**	۳/۳۶۴	۰/۵۰
Xgwm165	۳	۲/۵±۰/۵	۲/۰±۰/۲۰	۰/۷۳±۰/۱۱	۰/۷۵±۰/۱۲	۰/۴۸±۰/۰۵	۰/۱۰۴**	۲/۱۴۳	۰/۴۲
Xgwm182	۳	۲/۵±۰/۵	۱/۸±۰/۱۲	۰/۶۸±۰/۰۲	۰/۰۶±۰/۰۶	۰/۴۳±۰/۰۴	۰/۳۰۶**	۰/۵۶۷	۰/۴۱
Xgwm191	۳	۲/۵±۰/۵	۱/۸±۰/۰۳	۰/۶۵±۰/۰۲	۰/۳۷±۰/۲۷	۰/۴۵±۰/۰۱	۰/۰۰۱ns	۲۰۱/۳۴	۰/۳۵
Xgwm249	۳	۳/۰±۰/۰	۲/۷±۰/۰۹	۱/۰۴±۰/۰۲	۰/۸۵±۰/۱۵	۰/۶۳±۰/۰۱	۰/۰۱۸*	۱۳/۴۲۶	۰/۵۶
Xgwm332	۳	۲/۵±۰/۵	۲/۰±۰/۵۲	۰/۷۴±۰/۲۶	۰/۶۴±۰/۲۷	۰/۴۵±۰/۱۵	۰/۱۲۲**	۱/۸۰۲	۰/۴۸
Xgwm337	۳	۲/۵±۲/۵	۲/۰±۰/۰۸	۰/۷۶±۰/۱۱	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۴۹±۰/۰۲	۰/۱۹۲**	۱/۰۵۱	۰/۴۷
Xgwm408	۳	۲/۵±۰/۵	۱/۶±۰/۳۰	۰/۵۵±۰/۱۱	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۳۴±۰/۱۳	۰/۱۶۸**	۱/۲۴۰	۰/۲۹
Xgwm427	۳	۲/۵±۰/۵	۲/۱±۰/۲۱	۰/۷۸±۰/۱۲	۰/۱۳±۰/۱۳	۰/۵۲±۰/۰۵	۰/۰۱۵*	۱۵/۹۲۹	۰/۴۴
Xgwm469	۵	۳/۵±۱/۵	۱/۳±۰/۱۵	۰/۴۵±۰/۱۵	۰/۲۹±۰/۱۱	۰/۲۴±۰/۰۸	۰/۰۳۴**	۷/۱۲۳	۰/۲۵
Xgwm533	۵	۴/۰±۱/۰	۲/۵±۰/۲۲	۱/۰۲±۰/۱۲	۰/۸۵±۰/۱۵	۰/۶۰±۰/۰۴	۰/۰۲۴*	۱۰/۰۷۰	۰/۵۴
Mean	۳/۵۳	۲/۹۲±۰/۱۷	۲/۰۷±۰/۱۷	۰/۷۹±۰/۰۴	۰/۴۳±۰/۰۶	۰/۴۸±۰/۰۲	۰/۰۷۹**	۲/۹۳۱	۰/۴۴

مقایسه ارقام و لاین‌های مورد مطالعه بر اساس شاخص‌های تعداد آلل، تعداد آلل‌های موثر، شاخص اطلاعاتی شانون، میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و درصد چند شکلی نشان داد که مقادیر تعداد آلل، شاخص اطلاعاتی شانون و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در لاین‌ها کمی بیشتر از ارقام می‌باشد (جدول ۴). تنوع نسبتاً پایین ارقام تجاری گندم نان ایران با استفاده از نشانگرهای SSR (۱۸)، ISSR (۸)، IRAP و REMAP (۲۰) قبلاً نیز گزارش شده است. این می‌تواند به دلیل استفاده مداوم از برخی ارقام با سازگاری بالا در برنامه‌های اصلاحی گندم باشد. از طرفی نیز لاین‌های مورد مطالعه نسبت به ارقام کمتر تحت فشار گزینش قرار گرفتند. به طور کلی با توجه به درصد بالای خودباروری و پیچیدگی ژنوم در گندم نباید انتظار تنوع بالایی در ارقام و لاین‌های گندم داشت (۹). با این حال امکان وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین ارقام ناشی از به کارگیری ارقام خارجی در برنامه‌های اصلاحی گندم می‌تواند وجود داشته باشد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی، واریانس واقعی بین لاین‌ها و ارقام در مقایسه با درون ژنوتیپ‌های مورد بررسی برابر حدود ۸ درصد بود. با این وجود مقدار نسبتاً بالای (Phi = 0.079, P = 0.001) نشاندهندهٔ تمایز بین لاین‌ها و ارقام می‌باشد (جدول ۵).

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

نتایج تحقیق حاضر حاکی از کارآمدی نشانگرهای SSR استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی در لاین‌ها، توده‌های بومی و ارقام گندم نان می‌باشد، از این رو برای شناسایی تنوع، تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنتیکی در گندم نان می‌توانند بسیار مؤثر باشند. شناسایی دقیق تنوع ژنتیکی می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گندم نان در جهت هدفمندی تلاقی‌ها و بهبود عملکرد و اجزای عملکرد بسیار سودمند باشد. از طرف دیگر برای بررسی تنوع در مطالعات مختلف لازم است آغازگرهایی که بتوانند تنوع بالایی را ردیابی کنند، شناسایی شوند. در این تحقیق آغازگرهای Xgwm149، Xgwm47، Xgwm249 و Xgwm533 دارای قدرت تمایز و تفکیک بهتری بودند و می‌توان از آن‌ها برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گندم نان ایرانی در مطالعات آتی بهره برد. با وجود این، ۲۰ آغازگر SSR مورد استفاده در این تحقیق تمام ۲۱ کروموزوم گندم نان را به طور کامل پوشش نمی‌دهد. از این‌رو، لازم است برای ارزیابی دقیق‌تر و جامع‌تر ساختار و تنوع ژنتیکی و همچنین تمایز بهتر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تعداد بیشتری آغازگر با پراکنش کروموزومی مناسب به کار گرفته شود.

تشکر و قدردانی

از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به خاطر تهیه بذور ارقام و لاین‌ها و همچنین از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می‌گردد.

جدول ۴- میانگین شاخص‌های تنوع (تعداد آلل‌ها (N*a*)، تعداد آلل‌های موثر (N*e*)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H*e*) و در صد چند شکلی (PPO) در ارقام و لاین‌های گندم بر اساس ۱۹ نشانگر SSR

Table 4. The mean of diversity indices (number of alleles (N*a*), effective number of alleles (N*e*), Shannon's information index (I), mean expected heterozygosity (H*e*) and percentage of polymorphism (PPO) in wheat lines and cultivars based on 19 SSR markers

گروه‌ها	N*a*	N*e*	I	H*e*	PPO
لاین‌ها	۳/۴۲±۰/۲۷	۲/۲۰±۰/۱۴	۰/۸۶۹±۰/۰۶	۰/۵۱۰±۰/۰۳	۱۰۰
ارقام	۲/۴۲±۰/۱۴	۱/۹۳±۰/۱۰	۰/۷۰۸±۰/۰۵	۰/۴۵۸±۰/۰۳	۱۰۰

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی بین ۱۴۵ لاین و رقم گندم نان ایرانی براساس ۱۹ نشانگر SSR

Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) for 145 Iranian bread wheat lines and cultivars using 19 SSR markers

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	در صد	آماره F (Phi)	مقدار احتمال
بین جمعیت‌ها (لاین‌ها و ارقام)	۱	۵۸/۵۹۷	۰/۴۲۰	۷/۸۶	۰/۰۷۹	۰/۰۰۱
بین افراد درون جمعیت‌ها	۱۴۳	۵/۸۳۹	۰/۹۱۶	۱۷/۱۵		
درون افراد	۱۴۵	۴/۰۰۷	۴/۰۰۷	۷۴/۹۹		
کل	۲۸۹	۵/۳۴۳	۵/۳۴۳	۱۰۰		

منابع

1. Abdollahi Mandoulakani, B., A.A. Shahnejat-Bushehri, B.E. Sayed Tabatabaei, S. Torabi and A. Mohammadi Hajiabad. 2010. Genetic diversity among wheat cultivars using molecular markers. Journal of Crop Improvement, 24: 299-309.
2. Ahmed, M. 2002. Assessment of genomic diversity among wheat genotypes as determined by simple sequence repeats. Genome, 45: 646-651.
3. Akkaya, M.S. and E.B. Buykunal-Bal. 2004. Assessment of genetic variation of bread wheat varieties using microsatellite Euphytica, 135: 179-185.
4. Archak, S., A.B. Gaikwad, D. Gautam, E.V. Rao, K.R. Swamy, and J.L. Karihaloo. 2003. Comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR and AFLP) for genetic analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) accessions of India. Genome, 3: 362-369.
5. Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, K. Struhl, L.M. Albright D.M. Coen and A. Varki. 1995. Current protocols in molecular biology. Jon Wiley, New York, 4725 pp.
6. Bered, F., J.F. Barbosa-Neto and F.I.F. de Carvalho. 2002. Genetic variability in common wheat germplasm based on coefficients of parentage. Genetic Molecular Biology, 25: 211-215.
7. Carvalho, A., H. Guedes-Pinto, P. Martin-Lopes and J. Lima-Brito. 2010. Genetic variability of old Portuguese bread wheat cultivar assayed by IRAP and REMAP markers. Annual Applied Biology, 156: 337- 345.
8. Dashchi, S., B. Abdollahi Mandoulakani, R. Darvishzadeh and I. Bernousi. 2013. Molecular similarity relationships among Iranian bread wheat cultivars and breeding lines using ISSR markers. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 40: 254-260.
9. Devos, K.M. and M.D. Gale. 1992. The use of random amplified polymorphism DNA markers in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 84: 567-572.
10. Dreisigacker, S., P. Zhang, M.L. Warburton, B. Skovmand, D. Hoisington and A.E. Melchinger. 2005. Genetic diversity among and within CIMMYT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management. Crop Science, 45: 653-661.

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

11. Gorji, A.H. and M. Zolnoori. 2011. Genetic diversity in hexaploid wheat genotypes using microsatellite markers. Asian Journal of Biological Sciences, 3: 368-377.
12. Habash, D.Z., Z. Kehel and M. Nachit. 2009. Genomic approaches for designing durum wheat ready for climate change with a focus on drought. Journal of Experimental Botany, 60: 2805–2815.
13. Huang, X.Q., A. Borner, M.S. Roder and M.W. Ganal. 2002. Assessing genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm using microsatellite markers. Theoretical and Applied Genetics, 105: 699-707.
14. Jamalirad, S., A. Mohammadi, M. Khodarahmi and M. Toorchi. 2008. Assessing genetic relationships of bread wheat varieties based on allelic diversity of microsatellite markers. Modern Genetics Journal, 1: 79-89 (In Persian).
15. Khalighi, M., A. Arzani and M.M. Poursiahbidi. 2008. Assessment of genetic diversity in Triticum spp. and Aegilops spp. Using AFLP markers. African Journal of Biotechnology, 7: 546-552.
16. Ma, Z.Q., M.S. Roder and M.E. Sorrells. 1996. Frequencies and sequence characteristics of di-, tri-, and tetra nucleotide microsatellites in wheat. Genome, 39: 123-130.
17. Mir, R.R., J. Kumar, H.S. Balyan and P.K. Gupta. 2012. A study of genetic diversity among Indian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars released during last100 years. Genetic Resource Crop Evolution, 59: 717-726.
18. Mohammadi, S.A., M. Khodarahmi, S. Jamalirad and M.R. Jalal Kamali. 2009. Genetic diversity in a collection of old and new bread wheat cultivars from Iran as revealed by simple sequence repeat-based analysis. Annual Applied Biology, 154: 67–76.
19. Mollaheydari Bafghi, R., A. Baghizadeh, G.H. Mohammadi-Nejad and B. Nakhoda. 2014. Assessment of genetic diversity in Iranian wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars and lines using microsatellite markers. Journal of Plant Molecular Breeding 2(1): 74-89.
20. Nasri, Sh., B. Abdollahi Mandoulakani, R. Darvishzadeh and I Bernousi. 2013. Retrotransposon insertional polymorphism in Iranian bread wheat cultivars and breeding lines revealed by IRAP and REMAP markers. Biochemical Genetics, 51: 927–943.
21. Pahlavani, S., A. Izanloo, S. Parsa and M.G. Ghaderi. 2016. Association between grain quality traits and SSR molecular markers in some bread wheat genotypes. Journal of Crop Breeding, 8(19): 25-36 (In Persian).
22. Roder, M.S., V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.H. Tixier, P. Leroy and M.W. Ganal. 1998. A microsatellite map of wheat. Journal Genetics Society of America, 149: 2007-2023.
23. Roussel, V., J. Koenig, M. Beckert and F. Balfourier. 2004. Molecular diversity in French bread wheat accessions related to temporal trends and breeding programs. Theoretical and Applied Genetics, 108: 920–930.
24. Saghai-Maroof M.A., R.M. Biyashev, G.P. Yang, Q.F. Zhang and A.W. Allard. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91:5466-5470.
25. Saker, M., M. Nagchtigall and T.A. Kuehne. 2005. Comparative assessment of DNA fingerprinting by RAPD, SSR and AFLP in genetic analysis of some barley genotypes. Egyptian Journal of Genetics and Cytology, 34: 81-97.
26. Sardouie-Nasab, S., G.h. Mohammadi-Nejad and B. Nakhoda. 2013. Assessing genetic diversity of promising wheat (*Triticum aestivum* L.) lines using microsatellite markers linked with salinity tolerance. Journal of Plant Molecular Breeding, 2: 28-39.
27. Schuster, I., E.S.N. Vieira, G.J. da Silva, F.A. Franco and V.S. Marchioro. 2009. Genetic variability in Brazilian wheat cultivars assessed by microsatellite markers. Genetic Molecular Biology, 32: 557–563.
27. SenturkAkfirat, F. and A. AltinkutUncuoglu. 2013. Genetic diversity of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) revealed by SSR markers. Biochemical Genetics, 51: 223-229.
29. Talbert, L.E., N.K. Blake, P.W. Chee, T.K. Blake and G.M. Magyar. 1994. Evaluation of sequence-tagged-site-facilitated PCR products as molecular markers in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 87: 789-794.
30. Zergani, M., G. Ranjbar and S. Ebrahimnezhad. 2015. Molecular assessment of genetic diversity among bread wheat (*Triticum aestivum* L.) doubled haploid lines using SSR markers. Journal of Crop Breeding, 7(15): 88-95 (In Persian).
31. Zhangh, D. and M.H. Godfry. 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. Molecular Ecology, 12: 563-584.

Study of Genetic Structure and Diversity of Iranian Wheat Lines and Cultivars using SSR Markers

Rokhsareh Rahmani Asl[1], Iraj Bernousi[2] and Babak Abdollahi Mandulakani[3]

1 and 3- Graduated M.Sc. Student and Associate Professor, Urmia University
2- Associate Professor, Urmia University (Corresponding author: i.bernosi@mail.urmia.ac.ir)
Received: December 25, 2016 Accepted: April 3, 2018

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 20:33 +0430 on Monday March 25th 2019

Abstract

Genetic improvement of crop plants such as wheat, relies on genetic diversity. In the current investigation, the genetic diversity of 99 wheat lines and 49 cultivars were assessed using 20 SSR primers. Out of the primers used, 19 were polymorphic among studied lines and cultivars and a total of 67 alleles were amplified. The number of alleles per locus ranged from 1 (Xgwm44) to 7 (Xgwm47), with a mean value of 3.5. The mean of expected heterozygosity (H*e*) ranged from 0.71 (Xgwm149) to 0.27 (Xgwm469). The mean of polymorphism information content (PIC) and the maximum value of Shannon's information index (I) were 0.52 and 0.88 respectively. The number of alleles (N*a*), Shannon's information index (I) and mean of expected heterozygosity (H*e*), for lines were slightly more than those of cultivars. Average of gene differentiation coefficients (F*st*) and gene flow (N*m*) for all primers were 0.067 and 6.96 respectively. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed a higher level of genetic variation within lines + cultivars (89%) compared to among lines and cultivars (11%). Cluster analysis using UPGMA method and simple matching coefficients placed the lines and cultivars in five groups. Similarity coefficients ranged from 0.40 to 1 with a mean value of 0.70. Some cultivars with the same geographic origin were located in the same cluster. The high level of genetic similarity detected in cultivars may demonstrate the narrow genetic base of Iranian wheat germplasm. However, according to the genetic distance between different groups, lines in divergent groups could be potentially used as parents in wheat breeding programs.

Keywords: Bread wheat, SSR markers, Expected heterozygosity, Shannon's information index, Polymorphism Information Content