

ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم دوروم (*Triticum turgidum* var. *durum*) با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی (SSAP)

سجاد رشیدی منفرد^{۱*}، عبدالهادی حسین زاده^۱، محسن مردی^۲، محمد رضا نقوی^۱ و سید مصطفی پیرسیدی^۲

(تاریخ دریافت: ۸۶/۳/۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۹/۲۷)

چکیده

تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی همانند گندم دوروم با گذشت زمانی کاهش پیدا کرده است. ارزیابی تنوع ژنتیکی در کارایی حفاظت از ژرم پلاسما و کاربرد آن حائز اهمیت می‌باشد. در این مطالعه ۸۷ ژنوتیپ بومی دوروم متعلق به مناطق مختلف ایران و ۲۱ ژنوتیپ خارجی از ۱۰ کشور با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری SSAP ارزیابی شدند. رتروترانسپوزون‌ها توالی‌های متحرک در داخل ژنوم می‌باشند که از طریق یک RNA حدواسط در داخل ژنوم جابه‌جا می‌شوند و توزیع بسیار زیادی در ژنوم دارند به همین دلیل در سال‌های اخیر نشانگرهای مولکولی براساس آنها طراحی شده است. نشانگرهای SSAP مورد استفاده در این تحقیق شامل *Tar1*، *Thv19*، *Tagemina*، *BARE-1* می‌باشند. ترکیب آغازگری *Thv19IM+ACA* در نمونه‌های ایرانی و خارجی دارای بیشترین میزان باند چند شکل (۱۱ باند چند شکل) بود. میزان چند شکلی مشاهده شده توسط هر کدام از نشانگرهای بالا در ژنوتیپ‌های بومی به ترتیب ۲۶/۷٪، ۲۷/۳٪، ۵۱/۵٪، ۳۲/۸٪ و در ژنوتیپ‌های خارجی ۲۴/۴٪، ۲۴/۳٪، ۵۱/۵٪، ۲۸/۵٪ می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که *Tar1*، *Thv19* در فرایندهای تکاملی گیاه مورد نظر بیشتر جابه‌جا شده‌اند. دندوگرام بر اساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه دایس ترسیم شد.

واژه‌های کلیدی: تنوع، گندم دوروم، رتروترانسپوزون، SSAP

مقدمه

همانند گندم دوروم با گذشت زمانی کاهش پیدا کرده است، در ابتدا این کاهش به‌خاطر فرایندهای اهلی کردن گیاه بود و اخیراً به‌واسطه به‌کارگیری ژرم پلاسما یک‌نواخت و اصلاح شده می‌باشد (۳). برآورد تنوع ژنتیکی در محصولات زراعی، نقش بسیار مهمی در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی دارد. که از طریق صفات مورفولوژیکی، بررسی شجره‌ها و نشانگرهای ملکولی میسر می‌گردد. نشانگرهای ملکولی ابزار بسیار مناسبی برای بررسی روابط بین ژنوتیپ در بسیاری از

گندم دوروم یکی از مهم‌ترین غلات دانه ریز می‌باشد و عمدتاً مصرف انسانی دارد. در سال‌های اخیر این گیاه به‌خاطر محصول قابل قبول و سازگاری به میزان آب کم، شرایط آب و هوای خشک و نیمه خشک و محصول نهایی با ارزش، مورد بازبینی مجدد قرار گرفته است (۱۴). میزان تولید محصول گندم دوروم در سال ۲۰۰۵ حدود ۲۶ میلیون تن برآورد شده است (۲۴). اعتقاد بر این است که تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی اصلی (عمده)

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

۲. به ترتیب استادیار و کارشناس مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، بخش ژنومیکس، کرج

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Rashidims@ut.ac.ir

ژنوتیپ‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۱). با توجه به وجود تنوع ژنتیکی بسیار زیاد مشاهده شده در نمونه‌های بومی گندم دوروم هم‌چنین با توجه به این‌که هر نشانگر قسمتی از سطح ژنوم را پوشش می‌دهد، برای این‌که بتوانیم اطلاعات دقیق‌تر و مطمئن‌تری در مورد روابط ژنتیکی گندم دوروم به‌دست بیاوریم باید از نشانگرهای مختلف جهت پوشش مناسب سطح ژنوم استفاده شود. نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP به‌خاطر پراکنش فراوان در سطح ژنوم مخصوصاً نواحی یوکروماتینی پوشش ژنومی مناسبی را ایجاد می‌کند و جهت بررسی تنوع ژنتیکی نشانگر مناسبی می‌باشد.

اهداف تحقیق: ۱- تخمین روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های بومی و واریته‌های خارجی گندم دوروم ۲- شناسای نواحی از کشور که حداکثر تنوع را دارند. ۳- تبیین استراتژی نمونه‌گیری این گیاه در مناطق مختلف و کمک به حفاظت از تنوع ژنتیکی آن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

در این تحقیق ۱۰۸ ژنوتیپ دوروم که از بانک ژن دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران فراهم شده بود، مورد استفاده قرار گرفت که شامل ۸۷ ژنوتیپ بومی دوروم از نقاط مختلف ایران به همراه ۲۱ رقم متعلق به ۱۰ کشور خارجی بودند (جدول ۱).

نشانگرهای رتروترانسپوزون مورد استفاده

نشانگرهای رتروترانسپوزونی به‌کار گرفته شده در این تحقیق از گروه Ty₁-copia شامل

(5'CTAGGGCATAATTCCAACA3')
 1-BARE (5'-AGAGGAGGATATCCCAACAT-3')
 Tagermina (5'-GCCCAACCGACCAGTTGTTACAG3')
 193-Thv (5'-CTCCAGTTGACCAACAA-3')
 بودند (۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۳).

تجزیه SSAP

مراحل کار بر اساس روش واف و همکاران استخراج

محصولات زراعی می‌باشند و به‌عنوان یک ابزار تکمیلی به همراه نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، در بررسی روابط فیلوژنتیکی مد نظر می‌باشند. زیرا تحت تأثیر شرایط محیطی نبوده و تعداد آنها بسیار فراوان است، هم‌چنین در هر مرحله از رشد گیاه می‌توان از آنها استفاده نمود (۱۳). رتروترانسپوزون‌ها عناصر اصلی متحرک در ژنوم گیاهان هستند و از طریق یک RNA حد واسط در ژنوم جابه‌جا می‌شوند. (۹). دو گروه اصلی از رتروترانسپوزون‌های گیاهی بر اساس وجود و یا عدم وجود توالی تکراری طویل انتهایی LTR (Long Terminal Repeat) در آنها قابل تشخیص می‌باشند. رتروترانسپوزون‌های LTR دار که بیشترین مطالعه در آنها انجام شده است مشتمل بر ۱- Ty1-copia ۲- Ty₃-gypsy که به ترتیب ابتدا در مخمر (ساکارومایسس سرویسیه) و مگس سرکه مشاهده شدند، تقسیم می‌شوند. آنها در گیاهان به وفور دیده شده و نسبت بالای از DNA ژنومی گیاه را به خود اختصاص داده‌اند. در ذرت ۸۰-۵۰٪ و در گندم به‌طور کامل ۹۰٪ ژنوم از رتروترانسپوزون تشکیل شده است (۸ و ۲۲). رتروترانسپوزون‌های LTR دار در ژنوم گیاهان پراکنده بوده و کپی‌های بسیار زیادی را دارا می‌باشند (۱۰ و ۱۴). هم‌چنین آنها در کل طول کروموزوم قرار دارند؛ یعنی هم در نواحی هتروکروماتینی و هم در نواحی یوکروماتینی قرار دارند (۵ و ۱۹). به‌خاطر گستردگی و فراوانی آنها در ژنوم‌های گیاهی می‌توان از آنها به‌عنوان نشانگرهای ملکولی استفاده کرد، که دارای چندشکلی بسیار بالای می‌باشند و آغازگرهای را بر اساس نواحی LTR آنها طراحی نمود. چندین نوع نشانگر ملکولی مبتنی بر رتروترانسپوزون‌ها وجود دارد که پرکاربردترین آنها نشانگر ملکولی SSAP (sequence-specific amplified polymorphism) می‌باشد که توسط واف و همکاران معرفی شد. از این نشانگر جهت بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف هم‌چون جو (۲۳ و ۱۰)، نخود (۷)، ذرت (۶)، یونجه (۱۶) استفاده شده است. با استفاده از نشانگرهای SSR (۲) و AFLP تنوع ژنتیکی این

جدول ۱. لیست ژنوتیپ‌ها و محل جمع‌آوری آنها

شماره	ژنوتیپ	محل	شماره	ژنوتیپ	محل
۷۷	بومی	کرمانشاه	۸۳	بومی	خوی
۷۹	بومی	کرمانشاه	۸۶	بومی	نهایوند
۱۴۰	بومی	کرمانشاه	۱۲۸	بومی	نهایوند
۱۳۱	بومی	کرمانشاه	۸۸	بومی	تویسرکان
۱۲۹	بومی	کرمانشاه	۸۹	بومی	تویسرکان
۱۲۷	بومی	کرمانشاه	۸۴	بومی	منجیل
۱۲۶	بومی	کرمانشاه	۹۴	بومی	شاه‌آباد
۱۲۵	بومی	کرمانشاه	۹۷	بومی	شاه‌آباد
۹۳	بومی	کرمانشاه	۹۸	بومی	شاه‌آباد
۹	بومی	کرمانشاه	۸۷	بومی	شاه‌آباد
۱۴	بومی	کرمانشاه	۲۵	بومی	مهاباد
۱۹	بومی	کرمانشاه	۷۳	بومی	مهاباد
۳۷	بومی	کرمانشاه	۱۰۴	بومی	مهاباد
۳۸	بومی	کرمانشاه	۱۰۷	بومی	رستم‌آباد
۴۳	بومی	کرمانشاه	۱۰	بومی	شیراز
۶۷	بومی	کرمانشاه	۲۹	بومی	شیراز
۱	بومی	گلپایگان	۷۲	بومی	تبریز
۲	بومی	بهبهان	۶۸	بومی	آریا
۲۸	بومی	بهبهان	۱۰۲	بومی	آریا
۳	بومی	بروجرد	۱۵	بومی	خرمشهر
۱۱	بومی	بروجرد	۱۷	بومی	خرمشهر
۱۶	بومی	بروجرد	۲۰	بومی	خرمشهر
۱۸	بومی	بروجرد	۱۰۰	بومی	کرمان
۳۰	بومی	بروجرد	۱۰۵	بومی	میانه
۳۱	بومی	بروجرد	۴۴	رقم	روسیه
۲۷	بومی	بروجرد	۴۵	رقم	روسیه
۲۶	بومی	خرم‌آباد	۵۱	رقم	مجارستان
۳۳	بومی	خرم‌آباد	۵۲	رقم	مجارستان
۳۹	بومی	خرم‌آباد	۵۳	رقم	مجارستان
۱۰۸	بومی	ایلام	۵۴	رقم	مجارستان
۱۳۰	بومی	ایلام	۵۰	رقم	مجارستان
۱۳۳	بومی	ایلام	۴۹	رقم	مجارستان
۱۳۴	بومی	ایلام	۴۶	رقم	مجارستان
۱۳۷	بومی	ایلام	۴۷	رقم	سوریه
۱۳۸	بومی	ایلام	۶۳	رقم	سوریه
۱۳۹	بومی	ایلام	۴۸	رقم	ترکیه
۱۳۵	بومی	ایلام	۵۷	رقم	مصر
۸۱	بومی	همدان	۵۶	رقم	مصر
۸۵	بومی	همدان	۵۹	رقم	الجزایر
۹۶	بومی	همدان	۶۱	رقم	مکزیک

ادامه جدول ۱

۱۰۱	بومی	همدان	۹۲	رقم	مکزیک
۷۵	بومی	همدان	۱۰۳	رقم	مکزیک
۶	بومی	اهواز	۶۲	رقم	هند
۱۲	بومی	اهواز	۵۸	رقم	لیبی
۱۳	بومی	اهواز	۶۰	رقم	مراکش
۲۱	بومی	اهواز			
۲۴	بومی	اهواز			
۳۴	بومی	اهواز			
۱۲۳	بومی	اردبیل			
۱۲۴	بومی	اردبیل			
۱۲۲	بومی	اردبیل			
۹۹	بومی	اردبیل			
۷	بومی	اردبیل			
۳۲	بومی	اردبیل			
۴	بومی	شوش			
۸	بومی	شوش			
۳۵	بومی	شوش			
۳۶	بومی	شوش			
۴۱	بومی	شوش			
۴۲	بومی	شوش			
۱۳۶	بومی	قصر شیرین			
۱۳۲	بومی	قصر شیرین			
۸۲	بومی	رضاییه			

انجام شد، ۲۳ چرخه بعدی نیز بدین صورت انجام شد (دقیقه ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴، ۷۵، ۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۴، ۸۵، ۸۶، ۸۷، ۸۸، ۸۹، ۹۰، ۹۱، ۹۲، ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۶، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۰). واکنش PCR در دستگاه بیورد مدل (Sequi-Gen GT MA) انجام شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc محاسبه گردید و دندوگرام بر اساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه دایس ترسیم شد.

نتایج و بحث

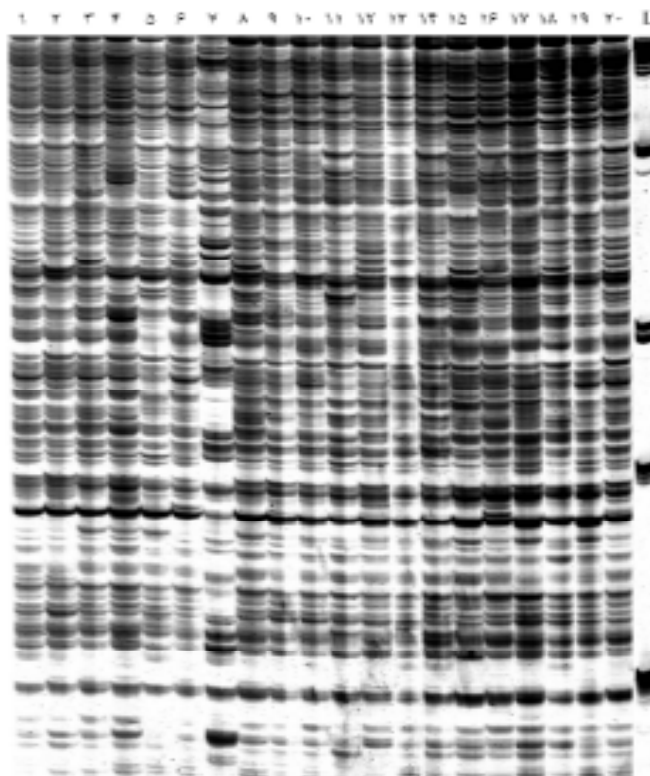
امتیاز دهی باندها

در این تحقیق ۱۰ ترکیب آغازگری مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع ۲۲۶ باند SSAP امتیاز دهی شد (جدول ۲) و از بین آنها ۷۴ باند چند شکل بودند (شکل ۱). که از ۳ تا ۱۱ باند چند شکل در هر ژل متغیر بود. بیشترین چند

DNA با استفاده از کیت DNase (شرکت QIAGEN) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA با استفاده از اسپکتروفوتومتر تعیین شد. بدین صورت انجام شد. ابتدا DNA ژنومی استخراج شد و با استفاده از آنزیم‌های برشی *EcoRI* و *MseI* برش داده شد. سپس آداپتورها مربوطه به قطعات حاصل از هضم آنزیم متصل گردید و مرحله تکثیر ابتدایی همانند AFLP صورت گرفت. اما تکثیر اصلی بین دو آغازگر بر اساس نواحی LTR رتروترانسپوزون‌ها و آداپتور مربوط به *MseI* با دو و سه نوکلئوتید انتخابی انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه و به مدت ۳۰ ثانیه، ۱۰ چرخه اول به صورت تاج داون انجام شد به طوری که در هر چرخه دمای اتصال ۱ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت (۵۳°C-۶۳) و مرحله بسط آغازگری در دمای ۷۲°C به مدت ۲ دقیقه

جدول ۲. خلاصه از باندهای نمره داده شده SSAP در نمونه‌های ایرانی و خارجی

شماره	ترکیبات آغازگری	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چند شکل		درصد چند شکلی	
			ایرانی	خارجی	ایرانی	خارجی
۱	Thv19\M+ACA	۱۸	۱۱	۱۱	۶۱	۶۱
۲	Tagermina \M+ACA	۱۷	۳	۳	۱۷/۶	۱۷/۶
۳	Thv19\M+CAT	۱۵	۶	۶	۴۰	۴۰
۴	Tar1\M+CG	۲۰	۶	۵	۳۰	۲۵
۵	Tar1\M+ACA	۲۵	۸	۸	۳۲	۳۲
۶	BARE1\M+CAT	۳۳	۹	۹	۲۷/۲	۲۷/۲
۷	BARE1\M+ACA	۲۸	۹	۸	۳۲/۱	۲۸/۵
۸	BARE1\M+CG	۲۵	۵	۴	۲۰	۱۶
۹	Tagermina \M+CAT	۲۰	۷	۶	۳۵	۳۰
۱۰	Tar1\M+CAT	۲۵	۹	۷	۳۶	۲۸



شکل ۱. نمونه ژل حاصل از آغازگر BARE1 روی تعدادی از ژنوتیپ‌های بومی ایران (۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۶، ۱۷) کرمانشاه، ۱۵، ۱۴، ۱۱، ۱۰، ۹، ۶، ایلام، ۲۰، ۱۸، شا آباد، ۱۹، همدان، ۲، نهاوند).

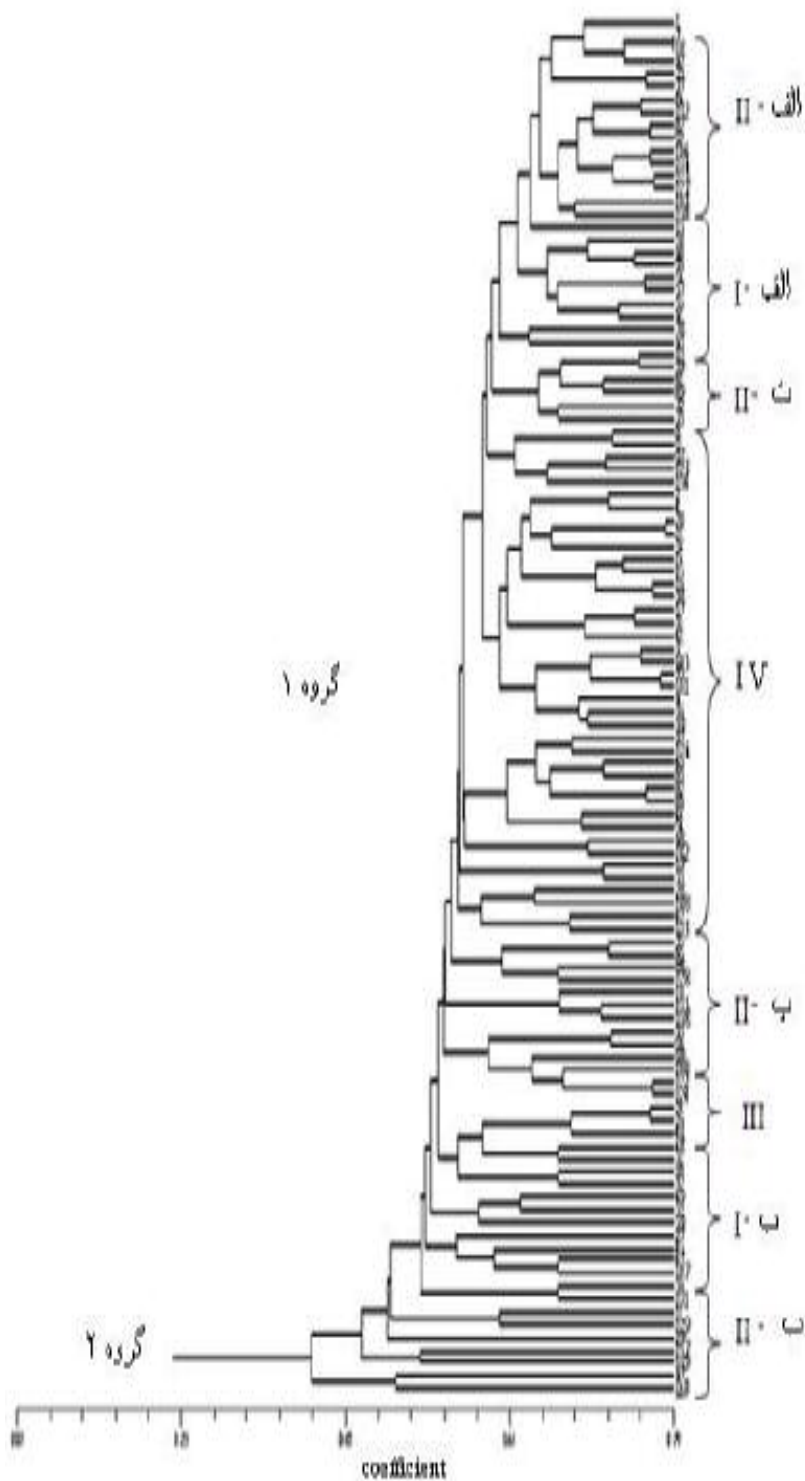
جفت آغازگر اختصاصی *Tagermina/ M+ACA* با ۳ باند چند شکل بود. میانگین تعداد باندهای چند شکل در ژنوتیپ‌های

شکلی در ژنوتیپ‌های بومی مربوط به جفت آغازگر اختصاصی *Thv19/M+ACA* با ۱۱ باند چندشکل و کمترین تعداد مربوط به

شکلی ۲۵٪ بیشتر از نشانگرهای AFLP مشاهده شد. با استفاده از نشانگرهای SSR ۲ گروه و چهار زیر گروه و نشانگرهای AFLP نیز ۲ گروه و ۴ زیر گروه مجزا به دست آمد. اما این نشانگر ژنوتیپ‌ها را در دو گروه کلی و زیر گروه‌های زیادی قرار داد. دو ژنوتیپ که از کرمانشاه جمع‌آوری شده بود در گروه ۲ و بقیه ژنوتیپ‌ها (ایرانی و خارجی) در گروه اول قرار دارند. ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از غرب کشور (لرستان، ایلام، کرمانشاه، همدان) به صورت ۴ دسته مجزا با میزان شباهت‌های متفاوت خوشه‌بندی شدند (II-الف، ب، پ، ت). ژنوتیپ‌های خارجی هم به صورت دو دسته کاملاً مجزا از همدیگر قرار گرفتند (I-الف، ب). تفسیری که برای این می‌توانیم داشته باشیم این است که این ژنوتیپ‌ها با ژنوتیپ‌های بومی ایران دارای نیای مشترک نیستند یا می‌توان گفت که گندم‌های دوروم موجود در ایران بومی کشور بوده، امیدبخش (۲)، احکامی (۱) به ترتیب با استفاده از ۳۷ جفت آغازگر SSR و ۱۸ ترکیب آغازگری AFLP به این نتیجه رسیدند که ژنوتیپ‌های خارجی با ایرانی دارای قرابت ژنتیکی کمی هستند. در بین ژنوتیپ‌های که از مناطق غیر از غرب کشور جمع‌آوری شده بودند، ژنوتیپ‌های حاصل از اردبیل تنها در یک گروه مجزا قرار گرفتند (III) ممکن است که این ژنوتیپ‌ها دارای اجداد متفاوت با دیگر ژنوتیپ‌ها موجود در کشور به خصوص غرب کشور باشند. البته با توجه به فاصله و عرض جغرافیایی متفاوت چنین چیزی بعید به نظر نمی‌رسد. بین ژنوتیپ‌ها کرمانشاه و دیگر مناطق غرب کشور قرابت ژنتیکی زیادی وجود دارد (IV). در بین مناطق غرب کشور کرمانشاه دارای بیشترین میزان تنوع ژنتیکی است. به طوری که ژنوتیپ‌ها، ایلام، لرستان، همدان، همراه با ژنوتیپ‌های حاصل از کرمانشاه خوشه‌بندی شدند. در واقع به دلیل فاصله نزدیک بین این مناطق امکان جابه‌جایی این ژنوتیپ‌ها از استان کرمانشاه به استان‌های هم‌جوار وجود دارد. ژنوتیپ‌هایی که از خوزستان جمع‌آوری شده بودند با ژنوتیپ‌های حاصل از ایلام، کرمانشاه، و خرم‌آباد قرابت زیادی داشتند. در واقع به دلیل نزدیکی این مناطق به همدیگر می‌توان گفت: ژنوتیپ‌های این مناطق دارای اجداد

بومی ۷/۳ و در ارقام زراعی ۶/۷ بود. درصد چند شکلی در ژنوتیپ‌های بومی از ۲۰٪ (*BARE1M+CG*) تا ۶۱٪ (*Thv19M+ACA*) متغیر بود. در ارقام خارجی این میزان از ۱۶٪ (*BARE1M+CG*) تا ۶۱٪ (*Thv19M+ACA*) بود. جهت بررسی و ارزیابی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های نمودار خوشه‌ای براساس ۷۴ باند چند شکل به دست آمد (شکل ۲).

میزان چند شکلی مشاهده شده در هر کدام از نشانگرهای *Tar1*، *Thv19*، *Tagermina*، *BARE-1* SSAP بومی به ترتیب ۲۶/۷٪، ۳۰/۱۶٪، ۵۱/۵٪، ۳۲/۸٪، و در ژنوتیپ‌های خارجی ۲۴/۴٪، ۲۸/۵٪، ۵۱/۵٪، ۲۴/۴٪ می‌باشد (جدول ۳). *Tagermina*، *BARE-1* در این تحقیق سطح چند شکلی کمتری را نسبت به دیگر رتروترانسپوزون‌ها نشان دادند؛ این نتایج نشان می‌دهد که *Tar1*، *Thv19* در فرایندهای تکامل گیاه مورد نظر بیشتر جابه‌جا شده‌اند. زیرا توانسته‌اند در طی تکامل داخل ژنوم بیشتر جابه‌جا شوند و نسخه‌های بیشتری از خود را در داخل ژنوم ایجاد کنند. این نتایج نشان می‌دهد که رتروترانسپوزون‌های *Ty1-Copia* سطح متفاوتی از چند شکلی را در گندم دوروم نشان می‌دهند. البته در مطالعات قبلی که روی گیاهان ذرت، جو، گندم نان انجام گرفته بود نیز چنین نتایجی دیده شد (۱۱، ۲۳ و ۲۵). قدرت جدا سازی ژنوتیپ‌ها توسط این نشانگر بیشتر از دو نشانگر AFLP و SSR که روی همین ژنوتیپ‌ها استفاده شده می‌باشد (۱ و ۲). میانگین تعداد باند چند شکل برای هر جفت آغازگر در نشانگرهای AFLP، SSR و SSAP به ترتیب ۶/۸، ۴/۸ و ۶/۳ می‌باشد. در نتیجه میزان چند شکلی‌ها توسط این نشانگر با توجه به تعداد آغازگر کمتر بیشتر از دو نشانگر AFLP و SSR که روی همین ژنوتیپ‌ها استفاده شده بوده می‌باشد. در تحقیقاتی که به وسیله واف و همکاران (۲۳) و الیس و همکاران (۷) با استفاده از نشانگرهای SSAP به ترتیب روی جو و نخود انجام شد میزان چند شکلی ۲۵٪ بیشتر از نشانگرهای AFLP مشاهده شد. در تحقیقاتی که به وسیله واف و همکاران (۲۳) و الیس و همکاران (۷) با استفاده از نشانگرهای SSAP به ترتیب روی جو و نخود انجام گردید، میزان چند



شکل ۲. نمودار خوشه‌ای ۱۰۸ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از داده‌های حاصل از تجزیه ۱۰ ترکیب آغازگر اختصاصی نشانگر SSAP و ضریب تشابه دایس و الگوریتم UPGMA. I-الف، ب، گروه گندم‌های دوروم خارجی، II-ب، پ، ت، گروه گندم‌های دوروم جمع‌آوری شده از غرب کشور، III-ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از اردبیل، IV-ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از دیگر مناطق کشور

جدول ۳. متوسط چند شکلی نشانگرهای رتروترانسپوزونی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد استفاده دوروم

شماره	رتروترانسپوزون	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چند شکل		درصد چند شکلی %	
			بومی رقم	بومی رقم	بومی رقم	بومی رقم
۱	Thv19	۳۳	۱۷	۱۷	۵۱/۵	۵۱/۵
۲	Tagermina	۳۷	۱۰	۹	۲۷/۲	۲۴/۳
۳	Tar1	۷۰	۲۳	۲۰	۳۲/۸	۲۸/۵
۴	BARE1	۸۶	۲۳	۲۱	۲۶/۷	۲۴/۴

الحاقت رتروترانسپوزون‌ها یک حادثه بیولوژیکی است؛ یعنی رتروترانسپوزون‌ها در گیاهان مختلف تحت تأثیر استرس‌های زنده و غیر زنده فعال شده و در ژنوم جابه‌جا می‌شوند (۱۱) و بدین وسیله تولید موتاسیون‌های در ژنوم کرده و میزان بیان ژن‌های اطراف ناحیه الحاق را تحت تأثیر قرار می‌دهند به همین دلیل نقش بسیار مهمی را در تکامل گیاهان بازی کرده‌اند (۲۱). الحاق رتروترانسپوزون‌ها غیر قابل برگشت است در واقع حضور یک رتروترانسپوزون در یک ناحیه خاص از ژنوم حاصل یک حادثه بیولوژیکی بوده که در طی تاریخ تکاملی گیاه روی داده است (۲۱). در گذشته محدودیت اصلی به کار بردن این نشانگرها به خاطر در دسترس نبودن توالی LTR رتروترانسپوزون‌ها مختلف بود. ولی در سال‌های اخیر با کمک تکنیک‌های جدید و سریع، توالی بسیاری از LTRها مشخص (۱۸) و این محدودیت نیز رفع شده است.

سپاسگزاری

کلیه هزینه‌های این تحقیق از محل اعتبارات طرح مصوب "شناسایی نشانگرهای Informative برای صفات مهم زراعی در گندم دوروم" توسط پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی تأمین شده است که بدین وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

مشترک باشند که با گذشت زمان و تحت تأثیر شرایط متفاوت محیطی (استرس‌های غیر زنده) عناصر ژنتیکی متحرک به میزان متفاوتی در آنها بیان شده و تا حدودی از همدیگر متفاوت شده‌اند. در مورد مناطق دیگر ایران مانند کرمان، شیراز، تبریز، شمال کشور (به غیر از اردبیل) گروه‌بندی مشخصی به دست نیامده (IV) بلکه این ژنوتیپ‌ها در بین ژنوتیپ‌های غرب کشور به خصوص استان کرمانشاه خوشه‌بندی شدند. نتیجه کلی که می‌توان به دست آورد این است که غرب کشور ایران به خصوص استان کرمانشاه منبع تنوع ژنتیکی گندم دوروم می‌باشد. اما باید توجه داشت برای این که بتوانیم یک استراتژی جامع در مورد نمونه‌گیری گندم دو روم از مناطق مختلف کشور داشته باشیم باید از داده‌های حاصل از چندین نشانگر استفاده نمود تا با این کار سطح بیشتری از ژنوم را پوشش داده و تصمیم‌گیری‌ها به واقعیت نزدیک‌تر باشد. میانگین ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌ها (بومی) در نشانگرهای AFLP، SSR و SSAP به ترتیب ۰/۳۷، ۰/۵ و ۰/۵۶ بود. با توجه به این که رتروترانسپوزون‌ها در نواحی حفظ شده ژنومی قرار دارند و این نواحی تغییرپذیری کمی دارند، این نتایج بعید به نظر نمی‌رسد.

نشانگرهای SSAP داده‌های تاکسونومیکی را فراهم می‌آورند که سازگاری بیشتری با معیارهای جغرافیایی و مورفولوژیکی نسبت به نشانگرهای AFLP دارند (۷). زیرا: (۱)

منابع مورد استفاده

۱. احکامی، ا.ح.، م. مردی، م.ر. نقوی، س. م. پیرسیدی، م. کاظمی، ه. ایراندوست و ع. حسین زاده. ۱۳۸۵. بررسی قرابت ژنتیکی گندم دوروم (*Triticum durum*) با استفاده از نشانگرهای AFLP. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۸(۱): ۲۵-۳۵.
۲. امید بخش فرد، م. ا.، م. مردی، م.ر. نقوی، م.ر. قنادها، م. کاظمی و س. م. پیرسیدی. ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی گندم دوروم (*Triticum durum* L.) با استفاده از نشانگر ریزماهواره. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۸(۲): (در دست چاپ)
3. Allard, R.W. 1996. Genetic basis of the evolution of adaptedness in plants. *Euphytica* 92: 1-11.
4. Berenyi, M., T. Gichuki., J. Schmitd and K. Burg. 2002. Ty1-copia retrotransposons-based SSAP (sequencer – specific amplified polymorphism)for genetic analysis of sweet potato. *Theor. Appl. Genet.* 105: 862-869
5. Castilho, A., A. Vershinin and J.S. Heslop-Harrison. 2000. Repetitive DNA and the chromosomes in the genome of oil palm (*Elaeis guineensis*). *Ann. Bot.* 85: 837-844.
6. Casa, A.M., C. Brouwer, A. Nagel., L. Wang, Zhang, S. Kresovich and S.R. Wessler. 2000. The MITE family Heartbreaker (Hbr): molecular markers in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97:10083-10089.
7. Ellis, T.H.N., I.J. Poyser, M.R. Knox, A.V. Vershinin and M.J. Ambrose. 1998. Ty1 copia class retrotransposon insertion site polymorphism for linkage and diversity analysis in pea. *Mol. Gen. Genet.* 260: 9-19.
8. Flavell, R.B. 1986. Repetitive DNA and chromosome evolution in plants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 312:227-242
9. Flavell, A.J., E. Dunbar, R. Anderson, S.R. Pearce, R. Hartley and A. Kumar. 1992. Ty1-copia group retrotransposons are ubiquitous and eterogeneous in higher plants. *Nucleic. Acids. Res.* 20: 3639-3644.
10. Gribbon, B.M., SR. Kalendar, A. H. R Schulman., L. Paulin, P. Jack, A. Kumar and A. J. Flavell. 1999. Phylogeny and transpositional activity of Ty1- copia group retrotransposons in cereal genomes. *Mol. Gen.Genet.* 261:883-891
11. Grandbastien, M.A. 1998. Activation of plant retrotransposons under stress conditions. *Trends Plant Sci.* 3:181-187
12. Kubis, S., T. Schmidt and J.S. Heslop-Harrison. 1998. Repetitive DNA elements as a major component of plant genomes. *Ann. Bot.* 82: 45-48.
13. Manifesto, M.M., A.S. Schlatter, H.E. Hopp, E.Y. Suarez and J. Dubcovky. 2001. Quantitative evaluation of genetic diversity germplasm using molecular markers. *Crop. Sci.* 41: 682-690.
14. Martos, V., C. Royo, Y. Rharrabti and L.F. Garcia del Moral.2005. Using AFLPs to determine phylogenetic relationships and genetic erosion in durum wheat cultivars released in Italy and Spain throughout the 20th century. *Field. Crop. Res.* 91: 107-116
15. Matsuoka, Y. and K. Tsunewaki. 1997. Presence of wheat retrotransposons in Gramineae species and the origin of wheat retrotransposon families. *Genes. Genet. Sys.* 72:335-343.
16. Porceddu, A., E. Albertini, G. Barcaccia, G. Marconi, F.B. Bertoli and F. Veronesi. 2002. Development of S-SAP markers based on an LTR-like sequence from *Medicago sativa* L. *Mol. Genet. Genomi* 267:107-114
17. Purugganan, M.D and S.R. Wessler. 1994. Molecular evolution of magellan, a maizeTy3/gypsy-like retrotransposon. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:11674-78
18. Pearce, S.R., C.M. Stuart-Rogers, A. Kumar, T.H.N. Ellis and A.J. Flavell. 1999. Rapid isolation of plant Ty1-copia group retrotransposon LTR sequences for molecular marker studies. *Plant.J.* 19:711-17
19. Pearce, S.R., M. Knox, T.N.H. Ellis, A. J. Flavell and A. Kumar. 2000. Pea Ty1-copia group retrotransposons: transitional activity and use as markers to study genetic diversity in Pisum. *Mol. Gen. Genet.* 263: 898-907.
20. Queen. R., B. Gribbon, C. James, P. Jack and A. Flavell. 2004. Retrotransposons-based molecular markers for linkage and genetic diversity analysis in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 271:91-97
21. Shapiro, J. 1999. Transposonsable elements as the key to a 21st century viewe of evolution. *Genetica* 107:171-179.
22. SanMiguel, P., Y.K. A. TikhonovJin, N. Motchoulskaia, D. Zakharov, A. Melake-Berhan, P. S. Springer, K. J. Edwards, M. Lee., Z. Avramova and J.L. Bennetzen 1996. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. *Science* 274:765-768.
23. Waugh, R., K. McLean, A. J. Flavell, S.R. Pearce, A. Kumar, B. B. T. Thomas and W. Powell. 1997. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequences-specific amplification polymorphisms (S-SAP). *Mol. Gen. Genet.* 253:687-694.
24. USDA Drought in EU. 2005. Northwest Africa Cause Global Durum To Sharply Drop. Production Estimates and Crop Assessment Division Foreign Agricultural Service. 202: 720-733.
25. Xiong, Y. and T.H. Eickbush. 1990. Origin and evolution of retroelements based upon their reverse transcriptase sequences. *EMBO J.* 9: 3353-3362.