DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2011.7643

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۹، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۰۰-۸۵ (۱۳۹۰)

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی علف گندمی بیابانی (*Agropyron deserturom*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و RAPD

رضا تقی‌زاده*[۱]، علی‌اشرف جعفری[۲]، علی‌اکبر ایمانی[۳]، علی اصغری[٤] و رجب چوکان[٥]

۱*- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آستارا، پست الکترونیک: r.taghizadeh@iau-astara.ac.ir
۲- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
۳- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل
٤- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل
٥- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۹/۱۲

چکیده

تنوع ژنتیکی ۱۸ جمعیت ایرانی علف گندمی بیابانی (*Agropyron desertorum*) با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD)، مورد ارزیابی قرار گرفت. این جمعیت‌ها از نظر عملکرد بذر و اجزاء آن، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت کشت فاصله‌دار در شرایط کشت آبی طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸٦ مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه‌های آماری نشان داد که بین جمعیت‌ها از لحاظ همه صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) بیشترین عملکرد علوفه خشک (۹/۲۵ تن در هکتار) و بذر (٥۱٤/۸۹ کیلوگرم در هکتار) را داشت. وراثت‌پذیری عمومی عملکرد بذر، طول سنبله و تعداد دانه در سنبله بالا (۰/٦۱ تا h^2_b=۰/٥۲) بود. وراثت‌پذیری عمومی تعداد ساقه متوسط (h^2_b=۰/۲۷) بود و سایر صفات وراثت‌پذیری کمی داشتند. همچنین ۱۰ آغازگر اختیاری ۱۰ نوکلئوتیدی از میان ٥۰ آغازگر در مجموع ٥٦ نوار چندشکل با تکرارپذیری بالا تولید کردند. برآورد شاخص تنوع ژنی نی (h) و شاخص شانون (I)، برای تمام مکان‌ها برای همه افراد درون جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های ۳۹۷٤ (کرج) و ۷٤۲ (همدان) به‌ترتیب بیشترین (h=۰/۳۰۲ و I = ۰/٤٤۹) و کمترین (h=۰/۱٤٦ و I= ۰/۲۲٥) میانگین سطح تنوع را داشتند. میانگین تنوع درون (H_s) و کل (H_t) جمعیت‌ها، به‌ترتیب ۰/۳٥٦ و ۰/۲۲٤ و میانگین درجه تمایز ژنی (G_{st}) بین جمعیت‌ها در تمام مکان‌ها ۰/۳۷ برآورد شد. نتایج نشان داد که از مجموع تنوع کل، تنوع بین و درون جمعیت‌ها به‌ترتیب ۳۷٪ و ٦۳٪ بود. دامنه ضریب تشابه جاکارد بین همه ۱۸ جمعیت بین ۰/۱۹ تا ۰/٤۹ بود. تجزیه کلاستر براساس داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی، مبتنی بر روش ادغام بر حسب متوسط گروه‌ها، جمعیت‌ها را در سه گروه مجزا قرار داد و جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) در هر دو کلاستر به تنهایی در گروه اول قرار گرفت. آزمون مانتل نشان داد که همبستگی ماتریس تشابه داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD و ماتریس فاصله داده‌های مورفولوژیکی غیر معنی‌دار بود. با توجه به نتایج این تحقیق در شرایط آزمایش کنترل شده، نشانگرهای RAPD می‌توانند وسیله‌ای مناسب و مؤثر در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های *A. desertorum* باشند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تنوع مورفولوژیکی، چندشکلی ژنتیکی، *Agropyron desertorum*، علف گندمی بیابانی، نشانگرهای مولکولی RAPD.

مقدمه

گونه *Agropyron desertorum* (Fischer ex Link) Shultes متعلق به جنس *Agropyron*، یکی از جنس‌های طایفه *Triticeae* از خانواده *Poaceae* است. این جنس شامل ۱۰ تا ۱۳ گونه و تعدادی زیرگونه است (Dewey, 1969). خاستگاه علف‌گندمی بیابانی، نواحی استپی سیبری و روسیه است (مدیرشانه‌چی، ۱۳۶۹). نواحی انتشار آن غرب اروپا، آسیا (سیبری، روسیه، آسیای میانه، قفقاز، چین، مغولستان، هند)، آمریکا (شمال‌غربی آمریکا، جنوب‌مرکزی آمریکا، شمال‌شرقی آمریکا و جنوب‌غربی آمریکا) (Clayton *et al*., 2002) می‌باشد و در ایران در نواحی جلگه‌ای، شمال غربی و جنوب دیده می‌شود (کریمی، ۱۳۶۹).

علف گندمی بیابانی تولید علوفه نسبتاً بالایی دارد و در بهار و همچنین پس از بارندگی‌های پاییزه در فصل پاییز نیز علوفه سبز تولید می‌کند و منبع غذایی مهمی در اویل فصل چرا می‌باشد (Hull & Johnson, 1955). این گونه در مقابل فشار چرای دام مقاوم است (Laycock & Conrad, 1981) و می‌تواند فشار چرای شدید دام (۶۵ درصد) را بخوبی تحمل کند (Ogle, 2002). علف گندمی بیابانی گیاه مناسبی برای تثبیت خاک و جلوگیری از فرسایش است. تحمل به خشکی، سیستم ریشه افشان و قدرت جوانه‌زنی خوب آن را برای احیاء مناطقی با بارندگی سالانه ۲۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌متر مناسب ساخته است (Ogle, 2002) و برای کاشت در زمین‌های بایر و احیای زمین‌های سوخته، معادن، مناطقی که توسط جاده تخریب شده‌اند و مناطق پست به‌طور گسترده استفاده شده است (Anderson & Brooks, 1975; Carlson & Schwendiman, 1986; Schuman *et al*., 1987; Shiflet, 1994). سیستم ریشه علف‌گندمی بیابانی نسبت به علف گندمی تاج‌دار (*A. cristatum*) از گسترش کمتری برخوردار است. ولی به علت نفوذ به اعماق بیشتر برای محیط‌های خشک مناسب‌تر است (Eckert *et al*., 1961).

منابع تنوع ژنتیکی گیاهی گنجینه‌های بالقوه‌ای هستند که به‌عنوان پشتوانه‌ای ارزشمند برای متخصصان اصلاح نباتات محسوب می‌گردند، زیرا اساس تحقیقات به‌نژادی گیاهان بر پایه تنوع ژنتیکی وسیع استوار است (محمدی و همکاران، ۱۳۸۵). علاوه بر این، کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی نسبی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آنها، امکان سازماندهی ژرم‌پلاسم و تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه‌ی ژنتیکی و مکان‌یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد (Virk *et al*., 1995). برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از انواع نشانگرها استفاده کرد. به دلیل اینکه نشانگرهای DNA در ردیف‌های کدکننده و غیر کدکننده دارای تفاوت هستند، بنابراین، دارای قدرت تمایز بیشتری نسبت به نشانگرهای مورفولوژیک و پروتئینی هستند (Smith & Smith, 1992).

Williams و همکاران (۱۹۹۰)، روشی را بر مبنای تکثیر تصادفی قطعات DNA با آغازگرهایی که دارای توالی ۱۰ نوکلئوتیدی اختیاری بود، ارائه دادند. آنها این نشانگر DNA را چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD)، نام نهادند. آنها از آغازگرهای تکی در هر واکنش تکثیر استفاده نمودند و نتایج نشان داد که با این روش می‌توان چند شکلی را بین دو دسته از محصولات تکثیری افراد مختلف، منظور نمود.

تکنیک RAPD از آنجایی که نیاز به اطلاعات و دانش اولیه در رابطه با توالی نوکلئوتید قطعات DNA برای تکثیر ندارد و همچنین، به دلیل وجود تنوع و تعدد آغازگرهایی که به شکل تجاری موجود است، به‌عنوان

یک وسیله ایده‌آل برای گسترش نقشه‌های ژنتیکی لینکاژی مبتنی بر نشانگر مولکولی (Joshi & Nguyen, 1993) و ارزیابی و شناسایی منابع ژنتیکی گیاهی (Anderson & Fairbank, 1990) شناخته شده است.

نظر به اینکه تعیین قرابت و فاصله بین ژنوتیپ‌های گیاهان علوفه‌ای مخصوصاً گراس‌ها که اکثراً دگربارور بوده و تولید واریته‌های هیبرید و سنتتیک در آنها مورد توجه می‌باشد، می‌تواند بسیار مفید باشد. بنابراین، در این بررسی، ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی و تعیین فاصله ژنتیکی بین ۱۸ جمعیت از گونه *A. desertorum* با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی و نشانگر RAPD انجام خواهد شد.

مواد و روشها

در این تحقیق ۱۸ جمعیت *A. desertorum* موجود در بانک ژن منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، انتخاب و مورد بررسی قرار گرفتند که نام و منشأ جمعیت‌ها در جدول ۱ آمده است. آزمایش مزرعه‌ای در مجتمع تحقیقاتی منطقه البرز (مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور) واقع در کرج با طول جغرافیایی ۵۱/۳۱ درجه و عرض جغرافیایی ۳۵/۴۲ درجه با ارتفاع ۱۲۹۱ متر از سطح دریا انجام شد. میانگین بارندگی سالیانه ایستگاه ۲۴۸ میلی‌متر و متوسط دما ۱۶/۲ درجه سانتی‌گراد با حداکثر مطلق ٤٤ و حداقل مطلق ۸- درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

عملیات آماده سازی زمین شامل شخم در پاییز سال ۱۳۸۳ انجام شد. در ابتدا از هر جمعیت ۳۰ عدد بذر انتخاب و در گلدان‌های جداگانه کشت شدند. پس از اینکه بوته‌ها به اندازه کافی رشد نمودند، نشاءها به مزرعه اصلی منتقل شدند و در هر کرت ۱۰ بوته در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. از داده‌های سال اول (سال استقرار) در تجزیه‌های آماری استفاده نشد و در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸٦ از صفات عملکرد بذر، تاریخ ظهور سنبله، تاریخ گرده‌افشانی، ارتفاع بوته، تعداد ساقه در بوته، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، وزن بذر در سنبله، عملکرد علوفه خشک، عملکرد بذر، وزن هزار دانه و شاخص برداشت یادداشت‌برداری بعمل آمد.

در آزمایش مولکولی، برای تهیه نمونه‌های گیاهی بذر ۱۸ جمعیت مورد بررسی به صورت جداگانه در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند و DNA نمونه‌های برگی تازه از ۵ بوته انتخابی مربوط به هر یک از جمعیت‌ها به روش CTAB، استخراج گردید (Saghai-Maroof, 1984).

برای تعیین کیفیت، DNA ژنومی استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ بارگذاری و نمونه‌های با باند شفاف و با وزن مولکولی بالا به‌عنوان DNA سالم و تجزیه نشده انتخاب شدند. علاوه بر این کمیت و کیفیت DAN با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت و نسبت جذب OD۲٦۰/OD۲۸۰ و نیز غلظت DNA برحسب نانوگرم بر میکرولیتر، برای هر نمونه ثبت شد. نمونه‌هایی که دارای نسبت جذبی در حدود ۲- ۱/۸ بودند و کیفیت مطلوبی داشتند، انتخاب شدند. پس از تعیین کمیت و کیفیت، نمونه‌های DNA با غلظتی برابر ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند.

برای تکثیر DNA ژنومی از ۵۰ آغازگر تصادفی ساخت شرکت Metabion آلمان استفاده شد. حجم هر واکنش PCR، ۱۵ میکرولیتر بود که اجزاء واکنش و غلظت نهایی آنها در جدول ۲ قید شده است.

جدول ۱- فهرست جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) مورد مطالعه و مبدأ جمع‌آوری آنها

ردیف	کد جمعیت بانک ژن	منشأ	ردیف	کد جمعیت بانک ژن	منشأ
۱	۲۱۳	بانک ژن	۱۰	۳٤۷۷	بانک ژن
۲	۲۸۷	اسدآباد	۱۱	۳۹۵۱	زنجان
۳	۳٤۱	بانک ژن	۱۲	۳۹٦۵	دماوند
٤	٤۰۰	اردبیل	۱۳	۳۹۷٤	کرج
۵	٦۳۱	قروه	۱٤	٤۰۳٦	فریدون
٦	۷٤۲	همدان	۱۵	٤۰۵۱	شهرکرد
۷	۷٤۷	بوئین زهرا	۱٦	۷۷۹٤	بافت
۸	۱۳٦۹	دماوند	۱۷	۷۸۵۲	بافت
۹	۳۰۱٤	بجنورد	۱۸	۸۸٤۸	بانک ژن

چرخه‌های حرارتی واکنش PCR در سه مرحله شامل مرحله اول: واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در ۹٤°C، مرحله دوم: ٤۰ چرخه (هر چرخه شامل واسرشته‌سازی به مدت ۱ دقیقه در ۹٤°C، اتصال آغازگرها به رشته‌های الگو به مدت ۱ دقیقه در ۳۷°C، بسط رشته DNA توسط پلیمراز به مدت ۲ دقیقه در ۷۲°C) و مرحله سوم: بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در ۷۲°C، انجام گردید.

جدول۲- اجزاء واکنش RAPD برای مطالعه DNA ژنومی جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*)

اجزاء واکنش	غلظت نهایی	مقدار مورد استفاده (میکرولیتر)
بافر PCR (۱۰X) (۵۰ mM KCl، pH ۸/۳ و ۱۰mM Tris-HCl)	۱X	۱/۵
کلرید منیزیم (۵۰ میلی مولار)	۲ میلی‌مولار	۰/٦
مخلوط چهار نوکلئوتید (۱۰ میلی‌مولار)	۰/۲ میلی‌مولار	۰/۳
آغازگر (۵ میکرولیتر)	۰/۱۳۲ میکرومولار	۰/۳۹٦
آنزیم *Taq* (۵ واحد در میکرولیتر)	۱ واحد	۰/۲
DNA (۲۰ نانوگرم در میکرولیتر)	۳/۳۳ نانوگرم در میکرولیتر	۲
آب مقطر دی یونیزه		۱۰/۰۰٤
حجم نهایی واکنش		۱۵

فرآورده‌های تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ جداسازی و به روش رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید آشکارسازی شدند. برای انجام الکترفورز، به هر نمونه ۵ میکرولیتر بافر بارگذاری اضافه شد و از هر نمونه به مقدار ۲۰ میکرولیتر در ژل بارگذاری شد و عمل الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰، به مدت ۳ ساعت انجام شد. بعد از انجام الکتروفورز، از دستگاه ژل داک (Uvitec) برای مشاهده و عکسبرداری از نوارها استفاده شد. الگوهای

نواری حاصل به صورت صفر و یک (به‌ترتیب عدم وجود یا وجود) مورد امتیازدهی قرار گرفتند. برای مشخص شدن اندازه قطعات تکثیر شده از نشانگر وزن مولکولی (Marker,3-SM0191) با اندازه قطعات ۲۱۲۲۶-۵٦٤ جفت باز استفاده شد.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی براساس نتایج تجزیه واریانس به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید؛ و تخمین وراثت‌پذیری عمومی (h^2_b) بر مبنای برآورد اجزاء واریانس ژنوتیپ‌ها براساس تجزیه مرکب با استفاده از رابطه زیر صورت گرفت.

$$h_b^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \frac{\sigma_{GR}^2}{y} + \frac{\sigma_{GY}^2}{r} + \frac{\sigma_e^2}{ry}}$$

در فرمول‌های بالا r، y، σ_G^2 و σ_e^2 به‌ترتیب تعداد تکرار، سال و اجزاء واریانس ژنتیکی و جزء واریانس اشتباه می‌باشد. σ_{GR}^2 و σ_{GY}^2 به‌ترتیب جزء واریانس ژنوتیپ در بلوک و ژنوتیپ در سال می‌باشد. تعداد کل نوارهای چندشکل، تعداد نوارها در هر توده، تنوع ژنتیکی کل و درون توده‌ها، درجه تمایز ژنی بین آنها، میزان تنوع ژنی درون توده‌ها برای هر نشانگر با استفاده از شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1973) و شاخص شانون (Lewontin, 1972) برآورد شد. فاصله ژنتیکی بین توده‌ها براساس فاصله اقلیدسی برای صفات مورفولوژیکی و براساس ضریب جاکارد (Jaccard, 1908) برای داده‌های مولکولی محاسبه و دندروگرام به روش UPGMA برای گروه‌بندی جمعیت‌ها رسم شد. به‌منظور تعیین کارایی و تعیین روش تجزیه خوشه‌ای، برای داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی از ضریب همبستگی کوفنتیک استفاده شد. علاوه بر این، برای بررسی ارتباط بین داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی از آزمون مانتل (Mantel, 1967) استفاده گردید. برای محاسبات آماری از نرم‌افزارهای $SAS_{9.1}$، $POPGENE_{1.32}$ و NTSYS-pc2.02e استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌های مورفولوژیکی نشان داد که از لحاظ همه صفات بین جمعیت‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار وجود داشت. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی (جدول ۳) نشان داد که جمعیت‌های ٤۰۰ (اردبیل)، ۱۳٦۹ (دماوند) و ۳۰۱٤ (بجنورد) بیشترین میزان تولید علوفه را (به‌ترتیب ۹/۲۵، ۸/۱۹ و ۷/۸۵ تن در هکتار) در بین جمعیت‌ها داشتند. جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) از لحاظ عملکرد بذر (۵۱٤/۸۹ کیلوگرم در هکتار)، تعداد دانه در سنبله (۸۸/٦۷) و شاخص برداشت (٦/۲٦) نیز، برترین جمعیت و نسبتا زودرس (با میانگین ۳۷/۸۱ روز تا سنبله‌دهی) بود.

وراثت‌پذیری عمومی (h^2_b) برای صفات طول سنبله، عملکرد بذر و تعداد دانه در سنبله زیاد (به‌ترتیب ۰/٦۱، ۰/۵۲ و ۰/۵۲) بود (جدول ۳). همچنین وراثت‌پذیری تعداد ساقه متوسط (h^2_b=۰/۲۷) بود. سایر صفات مورد بررسی وراثت‌پذیری عمومی پایینی داشتند (جدول ۳).

- میانگین صفات مورد بررسی در ۱۸ جمعیت علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸٦

ع بوته (cm)	طول سنبله (cm)	عملکرد علوفه (t/ha)	عملکرد بذر (kg/ha)	تعداد ساقه	وزن دانه در سنبله (g)	تعدا دانه در سنبله	وزن هزار دانه (g)	شاخص برداشت
٧٦/٣٥±	٤/٨٧±٠/٩٩ ghi	٧/٥٩±٢/٣٦ bcd	٢٧٤/٩٥±٨٦/٤٤ def	٨٧/٧٨±٢٥/٧٠ b	٤/١٥±٤/٥٥ ef	٣١/٢٦±٦/٩٩ j	٢/٥٥±٠/٢٠ def	٣/٨٦±٠/٣٠ g
٦٥/٥±٥/	٥/٩٧±٠/١٩ c	٦/٧٧±٣/٠٣ de	٣٣٧/٦٩±١٧٤/٧٧ bc	١٠٢/٦٢±٥١/٢٦ a	٤/٢٥±٤/٧١ ef	٣٦/٤٦±٧/٥٣ ij	٢/٣٢±٠/٢٨ g	٥/٤٥±٠/٣١ abc
٦٨/٣٩±٤	٤/٦٥±٠/٢٥ hi	٦/٨٨±٢/٥١ cde	٢٥٧/٤٧±٩٣/٩٠ ef	٥٣/٢١±٤/٩٧ efgh	٤/٣٢±٤/٧٤ def	٤٩/٥٠±١٨/٨٥ fgh	٢/٥٨±٠/٠٩ def	٤/٠٦±٠/٤٦ g
٦٣/٩٧±٦	٥/٥٣±٠/٩١ de	٩/٢٥±١/٩١ a	٥١٤/٨٩±١١٠/٦٨ a	٧٣/١٦±٣٥/٦٨ c	٦/١٢±٦/٣٦ bcd	٨٨/٦٧±٥٠/٤٠ a	٢/٦٣±٠/١١ cdef	٦/٢٦±٠/٣١ a
٥٦/٠٧±	٤/٥٦±٠/٢٠ i	٤/٥٥±١/٩٢ f	٢٥٩/٥±١٣٤/٤٧ ef	٤٥/٩٥±٢٣/٠٥ fghi	٤/٣٤±٤/٧٤ def	٥٥/١٢±٢٨/٢٠ efgh	٢/٦٠±٠/٢٧ cdef	٥/١٢±٠/٨٣ bcdef
٧٠/٢١±	٤/٩١±٠/١٧ gh	٧/٣٣±٢/٥٣ bcde	٣٣٠/٦١±٥٦/٢٨ bcd	٦٦/٩٣±٢٥/٩٤ cd	٥/٢٥±٥/٦٢ cdef	٥٣/٢١±١٩/٨٩ efgh	٢/٨١±٠/١٦ ab	٥/١٩±٠/٤٦ bcde
٦٨/٣١±١	٥/٧٧±٠/٣١ cd	٧/٢٨±٣/٥٥ bcde	٣٣٩/٧١±١٤٠/٦٧ bc	٥٥/٦١±١٥/١٥ def	٥/٦٥±٦/٣١ bcde	٦٥/٥٤±٢٥/٥٣ bcde	٢/٥٥±٠/٣١ def	٥/٢٩±٠/٨١ bcd
٦٦/٠٧±٢	٤/٦٤±٠/٣٣ hi	٨/١٩±٢/١٠ b	٣١٥/١٧±١٣٥/٦٠ bcde	٤٣/٧٣±١٠/٨٢ fghij	٦/٨٨±٧/٣٧ abc	٦٥/٥٤±٢٢/١٢ bcde	٢/٨٢±٠/١١ ab	٣/٨٧±٠/٢٩ g
٦٦/٧١±٩	٥/٠٨±٠/٨١ fg	٧/٨٥±٠/٩٨ bc	٣١٣/٩٨±١٠٣/٨١ bcde	٥٠/٤٤±١٠/٢٩ efgh	٥/٤٦±٥/٨١ bcde	٦١/٠٣±٢٢/٦٣ def	٢/٨٩±٠/٢٧ a	٤/٤١±٠/٨٠ defg
٦٥/٨٥±١٣	٥/٤٩±٠/٦٩ de	٥/١٢±١/١٧ f	٢٢٣/١±٩٣/٦٩ fg	٣١/١٥±٨/٨٢ j	٦/٤١±٧/٠٨ abc	٧٠/٣٩±٢٥/٤٩ bcd	٢/٧٥±٠/٢٥ abc	٤/٤٥±٠/٥٦ defg
٦٣/٥٥±٣	٥/١٥±٠/٢٥ fg	٥/٤٠±١/٧٦ f	٢٨٠/٩٤±٧٧/٤٥ cdef	٣٣/٦٠±٥/١٦ ij	٧/٩٣±٨/٥٢ a	٧٧/٥٤±١٤/٤٧ b	٢/٧٠±٠/٤١ bcde	٥/٤٥±٠/٤١ abc
٦٨/١٩±١٢	٦/٧١±٠/٧٠ b	٦/٧٢±١/٩٢ de	٢٦٠/٣٢±١١٥/٠٢ ef	٤١/٨٤±١٣/٥٥ ghij	٥/٩٥±٦/٣١ bcde	٥٨/٣٩±١٥/٩٠ defg	٢/٨١±٠/١٨ ab	٤/٠٩±٠/٦٢ g
٦٨/٨٥±١٠	٥/١٧±٠/٨٧ fg	٦/٥٥±٠/٧٧ e	٢٨٠/٠٦±٩٩/٤٣ cdef	٤٢/٠١±٧/٣٨ ghij	٥/٦٥±٥/٩٧ bcde	٦٢/٠٩±٢٣/٥٧ cde	٢/٨١±٠/٢٢ ab	٤/٥٠±٠/٤٨ cdefg
٧١/٢٤±	٥/٠٣±٠/٢٧ fg	٦/٧٥±١/٢٩ de	٣٦٤/٦٣±٩١/٩٨ b	٤٥/٤٩±٤/٢٤ fghi	٨/٠٧±٨/٦٣ a	٧٣/٧٥±٢١/٦٢ bc	٢/٨١±٠/١٥ ab	٥/٧٨±٠/٣٨ ab
٦٢/٠٩±	٥/٥±٠/٦٠ de	٤/٩٩±١/٠٦ f	١٨٧/٨٤±٦٢/١٩ g	٥٤/٩٨±١٠/٣٩ defg	٣/٦٥±٣/٩٨ f	٤٣/١٥±١٤/٤٠ hi	٢/٤٩±٠/٠٩ f	٤/٠٥±٠/٤٥ g
٦٢/٦٧±٧	٤/٩٦±٠/٤٨ fgh	٦/٧٤±٠/٨٠ de	٢٨٤/٦٧±٤٩/٦١ cdef	٦٣/٤٣±٨/٧٩ cde	٥/١٧±٥/٥٥ cdef	٤٧/٦٥±١٠/١٢ ghi	٢/٤٩±٠/١٥ f	٤/٢٩±٠/٤٤ efg
٦٨/٧٢±٤	٥/٢٦±٠/٣٠ ef	٧/٢٣±٢٠ bcde	٢٧٩/٧٨±١١٨/٥ cdef	٤٠/١٣±١٣/١٨ hij	٧/٢٥±٧/٧٤ ab	٦٩/٨٠±١٩/٢٨ bcd	٢/٥٣±٠/٠٧ ef	٣/٩١±٠/٦٣ g
٦٢/١٤±	٧/٠٧±٠/٤٢ a	٦/٤٦±١/٥١ e	٢٧١/٠٥±١١١/٨٤ def	٥٣/٦١±١٥/٣٧ efgh	٦/١٩±٦/٦٩ bc	٤٧/٣١±٤/٧٠ ghi	٢/٧١±٠/٠٣ bcd	٤/١٩±٠/٤١ fg
٦٦/٣٨	٥/٣٥±٠/٨٤	٦/٧٦±٢/١٦	٢٩٨/٦٩±١١٩/٥٤	٥٤/٧٦±٢٥/٧٢	٥/٧±٥/٩٠	٥٨/٦٩±٢٤/٧٨	٢/٦٦±٠/٢٥	٤/٦٨±٠/١٣
٠/	٠/٦١	٠/٠٨	٠/٥٢	٠/٢٧	٠/٠٨	٠/٥٢	٠/١٩	٠/٠٠

مال ۵٪ به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

جدول ٤- کد و توالی آغازگرها، تعداد کل باندهای چندشکل و درصد چندشکلی

شماره آغازگر	کد آغازگر	آغازگر ۵' → ۳'	تعداد کل نوارها	تعداد نوارهای چندشکل	درصد چندشکلی
۱	Oligo-۱	CCT GGG CTT C	۱۳	۱۲	۹۲/۳۱
۲	Oligo-۲	CCT GGG CTT G	٦	٦	۱۰۰
۳	Oligo-۳	CCT GGG CTT A	۱۱	۱۰	۹۰/۹۱
٤	Oligo-۵	CCT GGG TTC C	۳	۳	۱۰۰
۵	Oligo-۹	CCT GCG CTT A	۹	۸	۸۸/۸۹
٦	Oligo-۱۳	CCT GGG TGG A	۲	۲	۱۰۰
۷	Oligo-۱٤	CCT GGG TTT C	۳	۲	٦٦/٦۷
۸	Oligo-۱٦	GGT GGC GGG A	۲	۲	۱۰۰
۹	Oligo-۱۸	GGG CCG TTT A	۱۰	۸	۸۰
۱۰	Oligo-۲۳	CCC GCC TTC C	۳	۳	۱۰۰

براساس شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1973) و شاخص شانون (Lewontin, 1972) تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های گونه‌ی *A. desertorum* با استفاده از داده‌های مولکولی برآورد گردید (جدول ۵). بیشترین میانگین سطح تنوع در جمعیت ۳۹۷٤ (کرج)، (h=۰/۳۰۲ و I = ۰/٤٤۹) مشاهده شد و در جمعیت‌های ۷٤۲ (همدان) حداقل (h=۰/۱٤٦ و I = ۰/۲۲۵) بود. سطح تنوع بقیه جمعیت‌ها در جدول ۳ آمده است. میانگین تنوع درون (H_s) و کل (H_t) جمعیت‌ها، به‌ترتیب ۰/۲۲٤ و ۰/۳۵٦ و میانگین درجه تمایز ژنی (G_{st}) بین جمعیت‌ها در تمام مکان‌ها ۰/۳۷ برآورد شد. نتایج نشان داد که تنوع بین ارقام، فقط ۳۷٪ تنوع کل را شامل شد و ٦۳٪ مربوط به تنوع، درون جمعیت‌ها بود.

فاصله ۱۸ جمعیت *A. desertorum* براساس فاصله ژنتیکی جاکارد (Jaccard, 1908) براساس داده‌های مولکولی، نشان داد که بیشتر جمعیت‌ها با همدیگر تشابه کمی نشان می‌دهند (جدول ٦). دامنه ضرایب تشابه از ۰/۱۹ تا ۰/٤۹ متغیر بود. بیشترین تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های ۲۱۳ (بانک ژن) با ۱۳٦۹ (دماوند) و کمترین تشابه ژنتیکی بین ٦۳۱ (قروه) با ۸۸٤۸ (بانک ژن) و ۷٤۷ (بوئین زهرا) با ٤۰۰ (اردبیل) مشاهده شد. میانگین تشابه بین جمعیت‌ها نیز ۰/۳۰ بدست آمد.

جدول ٥- میانگین تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های علف گندمی بیابانی(*A. desertorum*) با استفاده از شاخص تنوع نی و شاخص شانون براساس نتایج حاصل از ۱۰ آغازگر RAPD

ردیف	جمعیت	کل نوارهای چندشکل در هر جمعیت	میانگین نوارهای چندشکل در هر جمعیت	h*	I*	درصد چندشکلی
۱	۷۷۹٤	٤۰	٤	۰/۲٦٥۷	۰/۹۳۱۹	٦۸/۹۷
۲	٤۰٥۱	۳۹	۳/۹	۰/۲٦۱۲	۰/۳۸۳۳	٦۷/۲٤
۳	۳۹۷٤	٤۸	٤/۸	۰/۳۰۱٥	۰/٤٤۹۳	۸۲/۷٦
٤	۲۸۷	٤۰	٤	۰/۲٦۳٤	۰/۳۸۸۱	٦۸/۹۷
٥	۳۹٥۱	٤۱	٤/۱	۰/۲٤۱۹	۰/۳٦٦۲	۷۰/٦۹
٦	۳۰۱٤	۳٤	۳/٤	۰/۲۱۰۸	۰/۳۱٤٤	٥۸/٦۲
۷	۷٤۲	۲۷	۲/۷	۰/۱٤٦۱	۰/۲۲٥۲	٤٦/٥٥
۸	۸۸٤۸	٤۲	٤/۲	۰/۲۳۸٤	۰/۳٦٤٤	۷۲/٤۱
۹	۳٤۱	٤۰	٤	۰/۲٤٤۱	۰/۳٦٦۳	٦۸/۹۷
۱۰	٦۳۱	۳۲	۳/۲	۰/۱۸۲	۰/۲۷۷۷	٥٥/۱۷
۱۱	۳٤۷۷	۳٦	۳/٦	۰/۲۰۸	۰/۳۱٥۸	٦۲/۰۷
۱۲	۲۱۳	۲٥	۲/٥	۰/۱٦۷٥	۰/۲٤٥۳	٤۳/۱
۱۳	۱۳٦۹	۲۷	۲/۷	۰/۱۸۰٥	۰/۲٦٤۸	٤٦/٥٥
۱٤	۳۹٦٥	۳٤	۳/٤	۰/۱۹۷	۰/۲۹۹٤	٥۸/٦۲
۱٥	٤۰۳٦	۳۸	۳/۸	۰/۲٤۸٦	۰/۳٦٦٤	٦٥/٥۲
۱٦	۷٤۷	۳۷	۳/۷	۰/۲۲۸۳	۰/۳٤۱٦	٦۳/۷۹
۱۷	٤۰۰	۳۷	۳/۷	۰/۲۰۹٥	۰/۳۲۱۲	٦۳/۷۹
۱۸	۷۸٥۲	۳۷	۳/۷	۰/۲۳۷٦	۰/۳٥۲۸	٦۳/۷۹

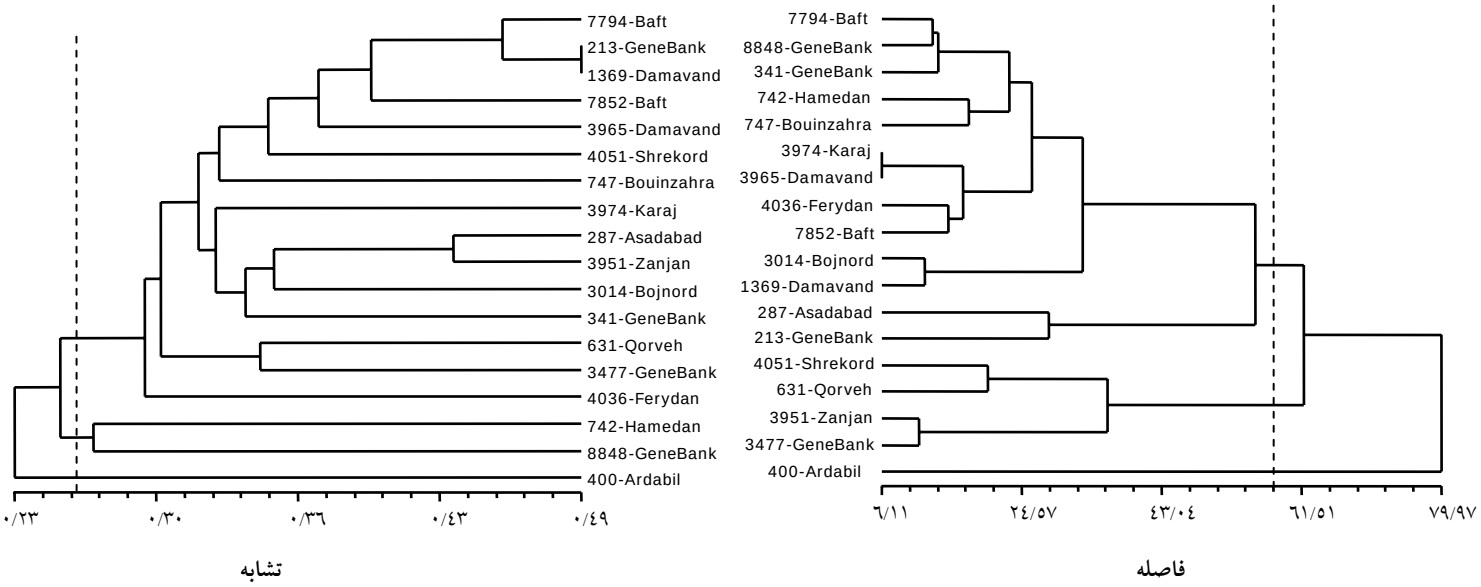
*- h = شاخص تنوع نی و I = شاخص شانون

دامنه فاصله اقلیدسی براساس داده‌های مورفولوژیکی از ۱/٦۸ تا ۷/٤۳ متغیر بود (جدول ٦). بیشترین فاصله بین جمعیت‌های ٤۰۰ (اردبیل) با ٦۳۱ (قروه) و کمترین فاصله بین ۱۳٦۹ (دماوند) با ۳۰۱٤ (بجنورد) مشاهده شد. میانگین فاصله اقلیدسی بین جمعیت‌ها نیز ٤/٥٦ بود.

برای انتخاب روش طبقه‌بندی، ضریب کوفنتیک با استفاده از نرم افزار NTSYSpc 2.02i محاسبه شد. که بیشترین ضریب کوفنتیک هم برای داده‌های مولکولی (r = ۰/۸۱) و هم مورفولوژیکی (r = ۰/۸۳)، مربوط به دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌ها به روش UPGMA

براساس ماتریس شباهت جاکارد (Jaccard, 1908) و فاصله اقلیدسی بود. ۱۸ جمعیت مورد بررسی براساس داده‌های مورفولوژیکی (شکل ۱) در سه گروه مجزا، جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) در گروه اول، ۳٤۷۷ (بانک ژن)، ۳۹۵۱ (زنجان)، ٦۳۱ (قروه) و ٤۰۵۱ (شهرکرد) در گروه دوم و بقیه در گروه سوم قرار گرفتند؛ و براساس داده‌های مولکولی نیز جمعیت‌های مورد مطالعه در سه گروه مجزا، جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) در گروه اول، ۸۸٤۸ (بانک ژن) و ۷٤۲ (همدان) در گروه دوم و بقیه در گروه سوم قرار گرفتند.

پس از مقایسه این دو کلاستر، آزمون Mantel (۱۹٦۷) به کمک نرم افزار NTSYS برای بررسی ارتباط دو ماتریس تشابه جاکارد برای داده‌های مولکولی و فاصله اقلیدسی برای داده‌های مورفولوژیکی انجام شد که همبستگی آنها منفی (همبستگی منفی، هنگامی بدست می‌آید که یکی از ماتریس‌ها ماتریس تشابه و دیگری ماتریس فاصله باشد)، بسیار ضعیف (p=۰/٤٤ و r=۰/۰۲٤) و غیر معنی‌دار بود.



شکل ۱- گروه‌بندی جمعیت‌های علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*) براساس داده‌های حاصل از صفات مورفولوژیک طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸٦ (راست) و داده‌های مولکولی (چپ)

اساس داده‌های مولکولی (قطر پایین) و فاصله اقلیدسی براساس داده‌های مورفولوژیکی (قطر بالا) بین ۱۸ جمعیت علف گندمی بیابانی (*A. desertorum*)

۴۰۰	۷۸۵۲	۷۴۷	۴۰۳۶	۳۹۵۶	۱۳۶۹	۲۱۳	۳۴۷۷	۶۳۱	۳۴۱	۷۶۷۸	۷۴۲	۳۰۱۴	۳۹۵۱
۵/۸۰	۳/۰۶	۲/۸۳	۴/۹۹	۳/۹۵	۳/۵۰	۳/۸۰	۴/۲۳	۳/۹۱	۲/۶۷	۳/۹۸	۳/۷۳	۳/۲۳	۴/۷۱
۷/۷۶	۴/۴۳	۴/۳۳	۶/۶۰	۴/۳۷	۵/۱۹	۴/۷۷	۴/۵۵	۳/۶۸	۳/۶۹	۴/۲۷	۵/۱۷	۴/۶۲	۵/۷۷
۵/۹۰	۲/۹۹	۲/۹۷	۳/۰۸	۲/۴۸	۲/۹۰	۴/۴۴	۲/۴۵	۵/۱۵	۲/۶۶	۳/۹۹	۲/۹۸	۲/۳۷	۳/۱۷
۵/۹۷	۵/۵۸	۳/۸۶	۶/۷۱	۵/۷۹	۶/۲۵	۴/۴۲	۶/۹۳	۵/۵۵	۵/۳۴	۵/۱۷	۵/۲۶	۵/۴۹	۷/۰۷
۶/۲۴	۴/۲۲	۴/۲۵	۲/۸۸	۴/۳۰	۴/۷۰	۶/۹۲	۲/۶۲	۵/۶۹	۴/۷۱	۵/۰۷	۴/۸۳	۴/۷۶	
۵/۰۷	۳/۰۴	۲/۹۰	۳/۹۱	۳/۱۹	۱/۶۸	۴/۵۷	۴/۲۱	۴/۹۸	۳/۷۱	۴/۲۲	۳/۰۵		۰/۳۹
۴/۹۸	۴/۲۰	۳/۶۰	۳/۴۳	۴/۴۰	۳/۶۴	۴/۰۹	۴/۰۵	۶/۴۰	۲/۹۴	۵/۶۹		۰/۲۸	۰/۳۱
۶/۸۹	۴/۳۷	۳/۷۳	۵/۶۷	۲/۳۰	۴/۹۰	۵/۷۶	۴/۸۳	۵/۰۶	۵/۲۸		۰/۲۷	۰/۲۶	۰/۲۷
۶/۶۱	۳/۷۴	۳/۹۴	۴/۷۵	۴/۱۷	۳/۹۵	۳/۴۰	۳/۴۶	۵/۷۲		۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۳۱	۰/۳۴
۷/۴۳	۵/۳۸	۴/۷۹	۶/۶۹	۵/۷۲	۵/۵۲	۶/۷۸	۵/۸۲		۰/۲۹	۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۲۸
۶/۹۷	۳/۷۵	۴/۳۹	۳/۷۹	۳/۳۹	۴/۲۷	۶/۰۴		۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۲۸	۰/۳۱	۰/۲۸	۰/۳۴
۷/۲۷	۴/۸۵	۴/۵۰	۶/۰۹	۵/۱۰	۵/۰۹		۰/۴۲	۰/۲۹	۰/۴۲	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۴۲
۵/۳۵	۲/۴۱	۳/۵۶	۳/۹۵	۳/۸۶		۰/۴۹	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۵	۰/۳۲	۰/۲۲	۰/۳۰	۰/۳۹
۶/۴۸	۳/۴۰	۳/۲۵	۴/۴۱		۰/۳۴	۰/۳۸	۰/۳۲	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۲۹	۰/۲۹
۴/۷۹	۴/۰۱	۳/۶۴		۰/۳۳	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۳۰	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۲۱	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۳۱
۴/۲۰	۲/۷۸		۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۳۵	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۳۲
۵/۶۹		۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۳۹	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۲۷	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۲۹	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۳۱
	۰/۲۸	۰/۱۹	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۲۵	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۳

بحث

در این پژوهش جمعیت‌هایی از *A. desertorum* با استفاده از صفات زراعی و داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD از نظر تنوع مورد بررسی قرار گرفتند. در اصلاح علوفه‌های مرتعی تولید ارقام زودرس برای چرای بهاره و ارقام دیررس برای مناطق سردسیری از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (جعفری و همکاران، ۱۳۷۹). بنابراین، جمعیت ٤٠٠ (اردبیل)، که بالاترین عملکرد بذر و علوفه خشک را در میان جمعیت‌های مورد بررسی داشت (جدول ۳) و در زمره جمعیت‌های زودرس بود، برای مناطقی با چرای زودرس قابل توصیه می‌باشد.

همانند نتایج این بررسی Schaaf (۱۹۷٦)، برای صفت عملکرد بذر در *Agropyron desertorum* وراثت‌پذیری خصوصی را ۸۳ و وراثت‌پذیری عمومی را بین ۷٦ تا ۸٦ درصد و Schaaf و همکاران (۱۹٦۲)، وراثت‌پذیری خصوصی را برای این صفت ۹٦ تا ۹۸ درصد گزارش نمودند. بالا بودن وراثت‌پذیری عمومی برای صفات طول سنبله، عملکرد بذر و تعداد دانه در سنبله بیانگر اهمیت ژن‌های افزایشی به‌عنوان مهمترین جزء کنترل کننده این صفات است و می‌توان پاسخ به گزینش مطلوبی را برای این صفات پیش‌بینی نمود. بنابراین اصلاح صفات مذکور از طریق روش‌های گزینش امکان‌پذیر است. وراثت‌پذیری متوسط (h^2_b=۰/۲۷) تعداد ساقه نیز نشان‌دهنده این نکته است که هر دو نوع ژن‌های غیر افزایشی و افزایشی در کنترل این صفت سهم دارند. سایر صفات مورد بررسی ازجمله عملکرد علوفه وراثت‌پذیری پایینی داشتند. عملکرد علوفه صفتی پلی‌ژن (کمی) است و وراثت‌پذیری آن در بیشتر نباتات علوفه‌ای کم است (جعفری و همکاران، ۱۳۸۱). Simonsen (۱۹۷۷)، در مطالعه *Festuca pratensis* میزان وراثت‌پذیری خصوصی را برای عملکرد علوفه کم تا متوسط (١٤ تا ۳۸) گزارش نموده است. Casler (۱۹۸۲)، نیز در *Phalaris arundinacea* وراثت‌پذیری خصوصی برای این صفت را کم گزارش نموده است. برآورد وراثت‌پذیری عمومی کم، برای عملکرد علوفه، روز تا ظهور سنبله، روز تا گرده‌افشانی، ارتفاع بوته، وزن دانه در سنبله، وزن هزار دانه و شاخص برداشت، نشان‌دهنده بیشتر بودن اهمیت ژن‌های غیر افزایشی در کنترل آنهاست. بنابراین اصلاح این صفات از هر دو طریق گزینش توده‌ای و دورگ‌گیری همراه با آزمایش نسل امکان‌پذیر است.

در ارزیابی مولکولی، آغازگرهای Oligo-۲، Oligo-۵، Oligo-۱۳، Oligo-١٤، Oligo-١٦ و Oligo-۲۳ صد درصد چندشکلی نشان دادند (جدول ٤) که بیانگر تنوع بالای جمعیت‌های *A. desertorum* مورد مطالعه و قدرت زیاد این آغازگرها در تفکیک جمعیت‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان اظهار داشت که از نظر مولکولی و هم مورفولوژیکی تنوع کافی به منظور گزینش بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود داشت. همچنین براساس داده‌های مولکولی می‌توان نتیجه گرفت که برخی از جمعیت‌های مورد بررسی (مانند ۳۹٧٤ از کرج) می‌توانند منبع بالقوه‌ای از ژن‌های مفید به منظور استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده باشند.

تنوع درون جمعیت‌های مورد بررسی بیشتر از بین جمعیت‌ها (٦۳٪ در مقابل ۳۷٪) بود. گیاهان دگربارور

و گیاهانی با دگرباروری زیاد دارای جمعیتی ناهمگن هستند و افراد داخل جمعیت برای بیشتر مکان‌های ژنی هتروزیگوت می‌باشند (فارسی و باقری، ۱۳۸۵). بنابراین وجود تنوع ژنتیکی بالا درون جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها در گونه‌های با دگرباروری بالا مورد انتظار است، در این گونه‌ها سطح پایینی از تمایز جمعیتی دیده می‌شود (Hamrick, 1990). گزارش‌های متعدد (Huff, 1997; Garcia *et al.*, 2002; Rajasekar *et al.*, 2005; Casler *et al.*, 2003 و ایمانی، ۱۳۸۷)، در خصوص بررسی تنوع ژنتیکی در گراس‌های علوفه‌ای دگربارور با استفاده از نشانگر RAPD، نیز حاکی از آن است که تنوع درون جمعیت‌های مورد مطالعه بیشتر از تنوع بین جمعیت‌هاست.

میانگین تشابه بین جمعیت‌ها براساس داده‌های مولکولی (۰/۳۰) و فاصله بین جمعیت‌ها براساس داده‌های مورفولوژیکی (٤/٥٦) نیز بیانگر تفاوت نسبی خوب در سطح مولکولی و مورفولوژیکی جمعیت‌ها می‌باشد.

در این آزمایش پس از تجزیه کلاستر و رسم دندروگرام، داده‌های حاصل از روش مولکولی و مورفولوژیکی بررسی شدند (شکل ۱). در هر دو دندروگرام جمعیت ٤۰۰ (اردبیل) در کلاستری جداگانه نسبت به بقیه جمعیت‌ها قرار گرفت. که نشان می‌دهد این توده از نظر ژنتیکی و مورفولوژیکی نسبت به بقیه تفاوت زیادی دارد و مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی (جدول ۳) هم نشان داد که این جمعیت از لحاظ بیشتر صفات مطلوب نسبت به بقیه برتری دارد. جمعیت‌های ۱۳٦۹ و ۳۰۱٤ نیز که از لحاظ تولید علوفه بدون اختلاف معنی‌دار بعد از جمعیت ٤۰۰ قرار گرفته بودند و از لحاظ تولید بذر در رتبه دوم قرار داشتند، هم در داده‌های مولکولی و هم مورفولوژیکی در یک کلاستر قرار گرفتند. از این نتایج می‌توان برای بهره‌گیری در برنامه‌های به‌نژادی آینده به‌عنوان والدین تلاقی (به‌عنوان مثال، ٤۰۰ با ۱۳٦۹ یا ۳۰۱٤) به منظور بهره‌گیری از هتروزیس سود جست.

ارتباط داده‌های مولکولی حاصل از نشانگرهای RAPD و داده‌های مورفولوژیکی براساس آزمون Mantel (۱۹٦۷) ناچیز و غیر معنی‌دار بود. این مسئله را Roldan-Ruiz و همکاران (۲۰۰۱) بر روی ارقام Ryegrass دائمی، Wang و همکاران (۲۰۰٦) در گونه‌های *Stipa krylovii* Roshev.، Riday و همکاران (۲۰۰۳) در *Medicago sativa* و Johnson و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه ۲۲۸ اکسشن از کلکسیون *Poa pratensis* نیز اثبات کردند. همچنین Casiva و همکاران (۲۰۰۲) مطالعه‌ای روی گیاه باقلا با استفاده از روش‌های مورفولوژیکی، آیزوزایم و RAPD انجام دادند و آنها نیز همبستگی بالایی بین روش مورفولوژی و مولکولی پیدا نکردند. همچنین Szczepaniak و همکاران (۲۰۰۲) نیز در مقایسه نشانگر RFLP و روش مورفولوژیکی، این عدم تطابق را مشاهده کردند. همچنین آنها در نتایج خود تنوع حاصل از روش مورفولوژیکی را بطور قابل توجهی بیشتر از تنوع ژنتیکی دیدند. در مطالعه پورمحمد کیانی و همکاران (۱۳۸۱) تجزیه کلاستر و گروه‌بندی افراد براساس الگوی باندی RAPD همسویی زیادی با صفات مورفولوژیک و زراعی افراد نداشته است. یعنی افراد دارای الگوی باندی یکسان که در یک گروه قرار گرفته‌اند ممکن است از نظر صفات مورفولوژیکی و

زارعی کاملا متفاوت باشند. با وجود این، برخی تشابهات نیز در دو کلاستر وجود داشت (شکل ۱) به‌عنوان مثال، جمعیت شماره ٤٠٠ (اردبیل) که از لحاظ صفات مورفولوژیکی مطلوب در زمره برترین‌ها (جدول ۳) بود و در کلاستربندی در گروهی جداگانه نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار داشت، در کلاستربندی براساس داده‌های مولکولی نیز در گروهی جداگانه نسبت به سایر جمعیت‌ها قرارداشت. بنابراین با به کار بردن نشانگرهای بیشتر و مناسب‌تر ممکن است نتایج دقیق‌تر و مشابه‌تر با نتایج مورفولوژیکی بدست آید.

همچنین می‌توان نتیجه گرفت که با استفاده از آغازگرهای مناسب‌تر و بیشتر و با شرایط آزمایش کنترل‌شده، RAPD می‌تواند تکمیل کننده ارزیابی‌های مورفولوژیکی و وسیله‌ای مناسب و مؤثر در ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی جمعیت‌های مناسب *A. desertorum* جهت توسعه و بهره‌گیری از آنها در برنامه‌های اصلاحی آینده باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از ریاست محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و مسئولین بانک ژن (مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور) به واسطه همکاریهای صمیمانه در اجرای این تحقیق اعلام می‌داریم.

منابع مورد استفاده

- ایمانی، ع. ا.، ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *Festuca arundinacea* Schreb. براساس نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی(RAPD). رساله دکترای تخصصی اصلاح نباتات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.
- پورمحمد کیانی، س.، ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی کلزا (*Brassica napus* L.) با استفاده از مارکر RAPD-PCR. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی ایران.
- جعفری، ع.، بشیرزاده، ع. و حیدری شریف آباد، ح.، ۱۳۸۱. بررسی عملکرد بذر و اجزاء عملکرد در ۲۹ رقم و اکوتیپ علف باغ *Dactylis glomerata*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۰: ۹۱-۱۲۹.
- جعفری، ع.، مداح عارفی، ح. و عبدی، ن.، ۱۳۷۹. ارزیابی مقدماتی و بررسی اثرات رسیدن و سطوح پلوئیدی روی تولید علوفه در ۲۹ ژنوتیپ چچم دائمی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۵: ۱۲۵-۱۵۷.
- فارسی، م. و باقری، ع.، ۱۳۸۵. اصول اصلاح نباتات (ویرایش سوم). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۷٦ صفحه.
- کریمی، ه.، ۱۳٦۹. مرتعداری. انتشارات دانشگاه تهران. ٤٠۸ صفحه.
- محمدی، ر.، خیام نکویی، م.، میرلوحی، ا.، و رزمجو، خ.، ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف گونه علوفه‌ای- مرتعی *Agropyron elongatum* . تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ١٤ :١٥-٢٤.
- مدیرشانه‌چی، م.، ۱۳٦۹. تولید و مدیریت گیاهان علوفه‌ای (ترجمه). معاونت فرهنگی آستان قدس رضوی، ٤٤۸ صفحه.
- Anderson, E.W. and Brooks, L.E., 1975. Reducing erosion hazard on a burned forest in Oregon by seeding. Journal of Range Management, 28: 394-398.
- Anderson, W.R. and Fairbank, D.J., 1990. Molecular markers: important tools for plant genetic resources characterization. Diversity, 6: 51-53.
- Carlson, J.R. and Schwendiman, J.L., 1986. Plant materials for crested wheatgrass seedings in the intermountain West. In: Johnson, Kendall L., ed. Crested wheatgrass: its values, problems and myths: Symposium Proceedings; 1983 October 3-7; Logan, UT. Logan, UT: Utah State University: 45-52.
- Casiva, P.V., Saidman, B.O., Vilards, J.C. and Cialdella, A.M., 2002. First comparative phenetic studies of Argentinean species of *Acacia* (*Fabaceae*), Using morphometric, isozymal, and

– Laycock, W.A. and Conrad, P.W., 1981. Responses of vegetation and cattle to various systems of grazing on seeded and native mountain rangelands in eastern Utah. Journal of Range Management, 34: 52-58.
– Lewontin, R., 1972. Testing the theory of natural selection. Nature. 236:181-182.
– Mantel, N.A., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research, 27: 209-220.
– Nei, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 70: 3321–3323.
– Ogle, D.G., 2002. Dseret Weatgrass *Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) J.A. Schultes. Plant fact Sheet. USDA. NRCS. IdahoState Office.
– Rajasekar, S., Fei, S.H. and Nick, E.C. 2005. Analysis of genetic diversity in rough bluegrass determined by RAPD markers. Crop Science, 46: 162-167.
– Riday, H., Brummer E.C., Campbell, T.A., Luth, D. and Cazcarro P.M. 2003. Comparisons of genetic and morphological distance with heterosis between *Medicago sativa* subsp. sativa and subsp. Falcata Euphytica, 131: 37-45.
– Roldan-Ruiz, I., Van Eeuwijk, F.A., Gilliland, T.J., Pubreuil, P., Dillmann, C., tallemand, J., Deloose, M. and Baril, C.P., 2001. A comparative study of mokcular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolivm perenne* L.) Varieties. Theoretical and Applied Genetics, 103: 1138-1150.
– Saghai-Maroof, M.A., Soleiman, K.M., Jorfenden, R.A. and Allars, R., 1984. Ribosomal DNA Spacer-Length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 81: 8014-8018.
– Schaaf, H.M., 1976. Spaced-planted and mass-seeded progeny tests for seed yield and seed size in tetraploid crested wheatgrass. Crop Science, 16: 607-610.
– Schaaf, H.M., RogIer, G.A. and Lorenz, R.J., 1962. Importance of variations in forage yield, seed yield, and seed weight to the improvement of crested wheatgrass. Crop Science, 2: 67-71.
– Schuman, G.E., Rauzi, F. and Howard, G.S., 1987. Vegetation response to soil surface modification in mined land reclamation. Reclamation and Revegetation Research, 6: 49-54.
RAPD approaches. American Journal of Botany, 89: 843-853.
– Casler, M.D., 1982. Parent-offspring regression in reed canarygrass: Methods for parent and offspring evaluation and their effect on heritability estimates. Canadian Journal of Genetics and Cytology, 24: 467-473.
– Casler, M.D., Rangel, Y., Stier, J.C. and Jung, G., 2003. RAPD marker diversity among creeping bentgrass clones. Crop Science, 43: 688-693.
– Clayton, W.D., Harman, K.T. and Williamson, H., 2002. World Grass Species: Descriptions, Identification, and Information Retrieval. http://www. kew.org/ data/grasses- db.html. [accessed 08 November 2007; 15:30 GMT].
– Dewey, D.R., 1969. Synthetic hybrids of *Agropyron albicas*, *A. dasystachyum*, *Sitanion hystrix* and *Elymus canadensis*. American Journal of Botany, 56: 664-670.
– Eckert, R.E.Jr., Bleak, A.T., Robertson, Jos.H. and Naphan, E.A., 1961. Responses of *Agropyron cristatum*, *A. desertorum*, and other range grasses to three different sites in eastern Nevada. Ecology, 42: 775-783.
– Garcia, P., Monte, J-V., Casanova, C. and Soler, C., 2002. Genetic similarities among Spanisch populations of *Agropyron*, *Elymus* and *Thinopyrum*, using PCR-based markers. Genetic Resources and Crop Evolution, 49: 103–109.
– Hamrick, J.L., 1990. Isozime and the analysis of genetic structure in plant population. In: Soltis, E.D. and Soltis, P.S. (eds). Iszymes in Plant Biology. Chapman and Hall, London. PP. 87-90.
– Huff, D.R., 1997. RAPD characterization of heterogeneous perennial ryegrass cultivars. Crop Science, 37: 557-594.
– Hull, A.C.Jr. and Johnson, W.M., 1955. Range seeding in the ponderosa pine zone in Colorado. Circular 953. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 40 p.
– Jaccard, P., 1908. Nouvelles researches sur la distribution florale. Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles, 44: 223-270.
– Johnson, R.C., Johnston, W.J., Golob, C.T., Nelson, M.C. and Soreng, R.J., 2002. Characterization of the USDA *Poa pratensis* collection using RAPD markers and agronomic descriptors. Genetic Resources and Crop Evolution 49: 349-361.
– Joshi, C.P. and Nguyen., H.T., 1993. Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. Genome, 39: 603- 609.

rice (*Oryza sativa*) germplasm. Euphytica, 112: 275–284.
– Wang, J.L., Gao, Y.B., Zhao, N.X., Ren, A.Z., Ruan, W.B., Chen, L., Liu, J.L. and Li, C.L., 2006. Morphological and RAPD analysis of the dominant species *Stipa krylovii* Roshev. in Inner Mongolia steppe. Botanical Studies. 47: 23-35.
– Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. ,1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6531–6535.
– Shiflet, T.N., 1994. Rangeland cover types of the United States. Denver, CO: Society for Range Management, 152 p.
– Simonsen, O., 1977. Genetic variation in diploid and autotetraploid populations of *Festuca pratensis*, Hereditas 85: 1-24.
– Smith, J.S.C. and Smith, O.S. 1992., Finger printing crop varieties. Advances in Agronomy, 47: 140-149.
– Szczepaniak, M., Cieslak, E. and Tomasz Bednarek, P., 2002. Morphological and AFLP variation of *Elymus reperus* (L.) gould (*Poaceae*). Cellular and Molecolar biology letters 7: 547-558.
– Virk, P.S., Zhu, J., Newbury, H.J., Bryan, G.J., Jackson, M.T. and Ford-Lloyd, B.V., 2000. Effectiveness of different classes of molecular marker for classifying and revealing variation in

Investigation of genetic variability in Iranian populations of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*) based on morphological and RAPD markers

R. Taghizadeh*[1], A.A. Jafari[2], A.A. Imani[3], A. Asghari[4] and R. Choukan[5]

1*- Corresponding author, Assis. Prof., Islamic Azad University, Astara Branch, Astara, I.R.Iran,
E-mail : r.taghizadeh@iau-astara.ac.ir
2– Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran.
3– Assis. Prof., Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I.R.Iran.
4– Assis. Prof., Agriculture Faculty, of Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, I.R.Iran.
5– Assoc. Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, I.R.Iran.

Received: 06.03.2010 Accepted: 12.09.2010

Abstract

Genetic diversity in eighteen Iranian populations of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*), was evaluated using morphological traits and Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. The populations were examined for seed yield and its components using a complete block design with 3 replications as spaced plant under irrigation conditions during 2006-2008. Analysis of variance showed significant differences among the populations for all the studied traits. The population 400 (Ardabil) had higher dry matter (9.24 ton/ha) and seed production (514.89 kg/ha). Broad-sense heritability values were high (h^2_b= 0.52 - 0.61) for seed yield, spike length and seed number per spike. For stems number broad-sense heritability was moderate (h^2_b= 0.27) and for other traits it was low and non significant. Ten primers out of the 50 decamer random primers screened generated 56 highly repeatable polymorphic bands. Estimates of Nei's gene diversity (h) and Shannon's Information index (I) for all loci in individual populations showed the populations of 3974 (Karaj) and 742 (Hamedan) had higher (h=0.302 and I=0.449) and lower (h=0.146 and I=0.225) gene diversity, respectively. Total gene diversity (H_t) and mean of gene diversity within populations (H_s) were estimated 0.224 and 0.356, respectively. Average value of gene diversity among the populations (G_{st}) was estimated as 0.37. The results showed that of total variation, between and within population variation were 0.37 and 0.63, respectively. Jaccard's similarity coefficients ranged from 0.19 to 0.49 across all 18 populations. The molecular and morphological data were subjected to Unweighted pair group method with arithmetic averages cluster analysis, Populations were partitioned into three groups. In both cluster analysis, population of 400 (Ardabil) was located into same separate group. The Mantel correlation analysis between morphological and RAPD data was not significant. In general, RAPD markers data proved to be a good method of assessing genetic variation among populations of desert wheatgrass.

Key words: *Agropyron desertorum*, cluster analysis, morphological variation, genetic polymorphism, desert wheatgrass, molecular RAPDs marker.