

# مطالعه پلی مورفیسم آیزوزایم های استراز و گلو تامات اگسالات ترانس آمیناز در توده های بومی جو ایرانی

علی حق نظری، سیروس عبد میثانی، بهمن یزدی صمدی و ناصر خدا بنده

به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادان و دانشیار

دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله ۷۴/۹/۱

## خلاصه

دویست ۲۰۰ توده بومی جو زراعی متعلق به مناطق مختلف ایران از نظر تنوع ژنتیکی و پلی مورفیسم موجود در ۵ مکان ژنی آنزیمی مورد مطالعه الکتروفورزی (HSGE) قرار گرفتند. در این تحقیق یک مکان ژنی ایزوزایمی (GotI) یک شکل (منومورف) بوده ولی تنوع وسیعی در چهار مکان ژنی دیگر (Est 1, Est 2, Est 3 و Est 4) مشاهده شد. به منظور طبقه بندی ۲۰۰ توده بومی و بررسی روابط بین آنها نمونه های تصادفی از هر توده (۶-۷ نمونه پلومول از هر توده) به صورت مخلوط مورد الکتروفورز قرار گرفت. تجزیه کلاسترو رسم دندروگرام برای ۲۰۰ توده بومی و همین طور برای ۴۵ شهرستان مبداء توده ها بر اساس باندهای مشاهده شده و ضریب فاصله ژنتیکی 1-F انجام شد و ۴۵ شهرستان در ۱۳ کلاستر قرار گرفتند. از میان ۲۰۰ توده، ۲۶ توده (جمعیت) که از لحاظ ۴ مکان ژنی آنزیمی دارای تنوع بودند انتخاب و فراوانی های آللی برای این چهار مکان ژنی محاسبه شد. در مجموع ۱۹ آلوزایم مشاهده شد که تعداد آنها برای مکانهای ژنی Est 1, Est 2, Est 3 و Est 4 به ترتیب برابر ۵، ۳، ۶ و ۵ بود. مقادیر فاصله ژنتیکی (D) و همسانی ژنتیکی (I) نی برای جوامع محاسبه و تجزیه کلاسترو رسم دندروگرام بر اساس مقادیر همسانی ژنتیکی صورت گرفت. بر این اساس ۲۶ جمعیت در ۹ کلاستر قرار گرفتند. مقادیر تنوع ژنتیکی (h) و اندیس متوسط تنوع در کل مکانهای ژنی (H) برای هر جمعیت بر اساس فرمول پیشنهادی نی برای جوامع کوچک و نیز نسبت مکانهای ژنی پلی مورفیک برای هر جمعیت محاسبه شد.

## مقدمه

پیشرفت تکنولوژی، باعث کاهش تنوع در بسیاری از گونه های گیاهی شده است. کاهش تنوع ژنتیکی می تواند برنامه های اصلاحی برای صفاتی از قبیل مقاومت به آفات، بیماری ها، تحمل خشکی، گرما و غیره را محدود سازد (۵).

اخیراً متخصصین اصلاح نباتات توجه خود را به توده های بومی و خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی معطوف داشته اند. آگاهی از تنوع ژنتیکی و نحوه پراکنش آن در میان جمعیت های بومی برای استفاده مناسب از منابع ژنتیکی در برنامه های اصلاحی ضروری است. مطالعات آلوزایمی در گونه های گیاهی ابرازی مفید

و روشی سریع و ارزان برای آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی، ساختمان جمعیت و روابط تکاملی بین گونه های زراعی و وحشی است (۶). از اوایل ۱۹۷۰ مکانهای ژنی آنزیمی به طور وسیعی در مطالعه جوامع اهلی جو (*Hordeum vulgare* L.) مورد استفاده قرار گرفته اند (۲)، (۷ و ۹). این مطالعات بیشتر بر روی سه مکان ژنی استراز (Est 1, Est 2, Est 3) که با همدیگر لینکاژ شدیدی دارند و یک مکان ژنی استراز (Est 4) که مستقل از آنهاست تمرکز یافته اند (۷). مکانهای ژنی آنزیمی دیگر نیز در صورت داشتن پلی مورفیسم مفید واقع می شوند. استرازاها در میان سایر سیستم های آنزیمی به طور وسیعی برای نشان دادن تغییرات ژنتیکی موجود در جوامع جو (*vulgare* L.)

عصاره حاصل از نمونه های کوبیده شده به کاغذهای واتمن شماره ۳ با ابعاد ۳×۷ میلی لیتر آغشته و در یک ژل نشاسته در فاصله ۳ سانتیمتر انتهای کاتدی چیده شد. یک ژنوتیپ استاندارد (واریته اطلس) در دو طرف ژل مورد استفاده قرار گرفت. الکتروفورز با تغییری جزئی و به روش پیشنهادی (۸) صورت گرفت و برای هر دو آنزیم از سیستم ژلی تریس - سیتریک اسید استفاده شد. ژل ۱۱/۵% با استفاده از نشاسته هیدرولیز شده سیب زمینی<sup>۵</sup> (سیگما) تهیه شد. بافر ژل و بافر الکترودی به روش پیشنهادی (۸) آماده گردید با این تفاوت که PH بافر ژل بر روی ۷/۸ PH بافر الکترودی بر روی ۸/۳ تنظیم شد. الکتروفورز ژل به همراه کاغذهای آغشته به عصاره با ولتاژ ۲۲۰ ولت به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد پس از حذف کاغذهای آغشته به عصاره، الکتروفورز با ولتاژ ۲۰۰ ولت تارسیدن خط نشانه بورات به فاصله ۸ سانتیمتر مبداء مهاجرت یافت. رنگ آمیزی ژل برای سیستم آنزیمی GOT به روش پیشنهادی و برای سیستم آنزیمی EST به روش زیر صورت گرفت (۸).

۵۰ ml محلول ۰/۲ مولار NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> را با ۱۰ ml محلول ۰/۲ مولار Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> مخلوط کرده حجم محلول به ۱۰۰ ml رسانده شد. ۵۰ mg نمک فست بلو RR به محلول (ml) ۱۰۰ اضافه شد. α ۱۰۰ mg - نفتیل استات در ۲ ml استون ۵۰% و β ۵۰ mg - نفتیل استات در ۱ ml استون ۵۰% حل شده و به محلول افزوده شد. محلول نهائی بر روی ژل افزوده شده و ژل به مدت ۳ - ۲/۵ ساعت درجه حرارت اتاق نگهداری شد.

پس از رنگ آمیزی تفسیر ژل ها به روش پیشنهادی کاهلر و آلارد (۷) و کاهلر و همکاران (۸) صورت گرفت. سپس ژل ها با استفاده از محلول ۵۰% اتانول فیکس شدند.

آزمایش اول: برای طبقه بندی ۲۰۰ توده بومی جو ایرانی، از هر توده تعداد ۱۰ بذر خیسانده شد. عصاره مخلوط ۷-۶ نمونه تصادفی از هر توده تهیه شده و الکتروفورز عصاره های آنزیمی انجام شد. باندهای موجود در هر ستون (هر ستون مربوط به یک توده بومی) مورد شناسائی و یادداشت برداری قرار گرفت.

طبقه بندی ۲۰۰ توده با استفاده از اندیس فاصله ژنتیکی 1-F

(۱۱) و به کمک یک برنامه کامپیوتری به روش UPGMA<sup>۱</sup>

(Hordeum) مورد استفاده قرار گرفته اند (۶). به علاوه تمایز مکانهای ژنی استراز در بین جمعیت های جو، تنوع آنها در داخل جمعیت ها و اختصاصی بودن آلوزایم های استراز به محیطهای خاص از آنها ابزارهای مناسبی برای بررسی تنوع و طبقه بندی جمعیت ها به وجود آورده است (۳ و ۱۴).

در این مقاله مطالعه تنوع و تغییرات ژنتیکی موجود در میان توده های بومی جو ایرانی با استفاده از ۵ مکان ژنی ایزوزایمی را تشریح می کنیم. اهداف اصلی شامل دستیابی به الگوی پراکنش پلی مورفیسم ژنتیکی و استفاده از آن در طبقه بندی توده های بومی جو، یافتن فراوانی های آللی چهار مکان ژنی استراز Est 1, Est 2, Est 3 و Est 4 در داخل تعدادی از جمعیت های بومی و استفاده از آنها در بررسی روابط ژنتیکی بین جمعیت ها می باشد.

### مواد و روشها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۲۰۰ توده بومی جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) متعلق به مناطق مختلف ایران بود که از کلکسیون غلات وزارت کشاورزی تامین شد. از روش الکتروفورزی ژل نشاسته برای مطالعه دو سیستم آنزیمی استراز (EST) و گلوتامات اگسلات ترانس آمیناز (GOT) استفاده شد. بذور درون پتری هایی که حاوی یک لایه کاغذ صافی بودند خیسانده شده و در یک اتاقک رشد در ۲۲ درجه سانتیگراد (بدون نور) قرار گرفتند. پلومول زرد و بدون کلروفیل گیاهچه های ۷ روزه از بالای کلئوپتیل قطع شده (به اندازه تقریبی ۲ سانتیمتر) و پس از افزودن بافر عصاره گیری به نسبت ۱ نمونه: ۱/۵ بافر، در درون چاهکهای چینی مخصوص بر روی ظرف حاوی یخ و جهت تهیه عصاره آنزیمی کوبیده شد.

بافر عصاره گیری شامل ۲/۴۲ گرم تریس<sup>۱</sup>، ۶/۸ گرم ساکارز، ۱/۲ گرم PEG<sup>۲</sup> و ۰/۰۷ گرم EDTA<sup>۳</sup> در ۲۰۰ میلی لیتر بوده و PH محلول به کمک اسید کلریدریک بر روی ۷/۵ تنظیم شد. هنگام استفاده به ازای ۱۰ میلی لیتر از این محلول ۶۰ میکرولیتر محلول مرکاپتواتانول<sup>۴</sup> به آن افزوده شد.

1 - Tris

2 - Polyethyleneglycole

3 - Ethylendiamine tetra acetic acid

4 -2-Mercaptoethanole

5 - Hydrolized potato starch 6-Unweighted Paired Group Method Using Arithmetic Average

سیستم آنزیمی GOT در برگ هایی با طول عمر متفاوت نتیجه تقریباً یکسانی داد. تغییر جزئی در PH محلول های بافری باعث وضوح بیشتر باندها گردید (PH بافر الکترودی، ۸/۳ و PH بافر ژل، ۷/۸) از میان ۷ مکان ژنی استراز تنها از نتایج مربوط به ۴ مکان ژنی Est 1، Est 2، Est 3 و Est 4 (به علت تظاهر کودامینت آنها) در محاسبات استفاده شد. مکان ژنی GOT-1 در تمام نمونه ها یک شکل (منومورف) بوده و الگوی باندینگ تمام نمونه ها مانند الگوی وارسته شاهد اطلس بود. این نتیجه با نتایج محققینی چون زیانکای و زانگ و جارادت (۶ و ۱۸) مطابقت دارد.

آزمایش اول: کلاستر بندی توده های بومی بر اساس ضریب فاصله ژنتیکی i-F

الف - تجزیه کلاستر نمونه ها

بر اساس باندهای موجود در هر ستون که مربوط به نمونه تصادفی مخلوط از افراد یک توده بومی بودند کل نمونه های مورد بررسی در ۲ دسته ۱۰۰ تایی مورد تجزیه کلاستر قرار گرفتند نتایج تجزیه کلاستر به صورت دندروگرام های شکل های ۱ و ۲ می باشد.

در میان نمونه های مورد بررسی تغییرات ژنتیکی برای آلوزایم های استراز وجود داشت. این تنوع آلی مشاهده شده در مکانهای ژنی استراز موضوع مطالعات وسیعی بوده است (۱). می توان از نتایج تجزیه کلاستر در بررسی انطباق دسته بندی بر اساس صفات مورفولوژیکی و دسته بندی بر اساس مارکرهای بیوشیمیایی (آیزوزایم ها) استفاده نمود. در صورت یکسان بودن دو روش کلاستر بندی می توان با تجزیه ایزوزایمی در آزمایشگاه در هزینه و زمان صرفه جوئی نمود. سینگ و همکاران (۱۵ و ۱۶) در تحقیق خود بر روی کلکسیون لویبایهای زراعی تشابهی بین دو روش کلاستر بندی بر اساس صفات مورفولوژیکی و کلاستر بندی بر اساس مارکرهای بیوشیمیایی مشاهده نموده اند.

ب - تجزیه کلاستر شهرستانها

۲۰۰ نمونه مورد بررسی در مجموع متعلق به ۴۵ شهرستان بودند (جدول ۱). بر اساس کل باندهای مشاهده شده در نمونه های هر شهرستان تجزیه کلاستر انجام شده و دندروگرام شکل ۳ به دست آمد. به ازای مقدار ۲۹/۰ برای ضریب فاصله ۱۳ کلاستر به دست

(۱۷) انجام و دندروگرام های مربوطه رسم شد.

تجزیه کلاستر برای ۴۵ شهرستان (مبداء ۲۰۰ نمونه) نیز بر اساس مقادیر I-F انجام و دندروگرام مربوطه رسم شد. آزمایش دوم از میان نمونه های بررسی شده در آزمایش اول ۲۶ توده بومی جو که از لحاظ مکانهای ژنی استراز دارای تنوع بودند انتخاب شدند. این جمعیت ها نماینده هایی از مناطق مختلف جغرافیایی بودند. با توجه به محدودیت بذر، از هر جمعیت تعداد مناسب بذر خیسانده شده و پس از جوانه زنی عصاره های بافتی افراد جمعیت به صورت انفرادی مورد الکتروفورز قرار گرفتند. در هر جمعیت فراوانی الی برای هر مکان ژنی استراز محاسبه شد. ضرایب فاصله ژنتیکی (D)، همسانی ژنتیکی (I)، تنوع ژنتیکی برای هر مکان ژنی (h)، و متوسط تنوع در کل مکانهای ژنی (H)، بر اساس فرمول پیشنهادی نی (۱۲) برای جوامع کوچک و به وسیله یک برنامه کامپیوتری محاسبه شد. تجزیه کلاستر بر روی ماتریس مقادیر همسانی ژنتیکی به روش UPGMA اسنیت و سوکال (۱۷) صورت گرفت و دندروگرام مربوطه رسم شد.

### نتایج و بحث

در این تحقیق از دو سیستم آنزیمی (GOT، EST) برای مطالعه بر روی کلکسیون جوهای بومی ایرانی استفاده شد. کنترل ژنتیکی تظاهر این مکانهای ژنی قبلاً توسط کاهلر و آلارد (۷) و کاهلر و همکاران (۸) تعیین شده است. لذا تفسیر ژنتیکی اطلاعات حاصل از مطالعه این دو مکان ژنی بر اساس روش پیشنهادی محققین مذکور صورت گرفت.

نتایج آزمایشها نشان داد که بهترین الگوی باندینگ هنگامی به دست می آید که از برگهای زرد (اتیوله) با طول عمر ۷ روز استفاده شود. استفاده از برگهای سبز و افزودن مرکاپتواتانول برای کاهش اثر ترکیبات مزاحم نتیجه کاملاً مطلوبی به دست نداد. در مورد سیستم آنزیمی استراز در بدوری با طول کمتر از ۷ روز باندهای نواحی C.B.A واضح ولی باندهای نواحی دیگر واضح نبودند. در بدوری با طول عمر بیشتر از ۷ روز (۱۱-۹ روز) باندهای ناحیه C واضح نبودند. با به بلوغ رسیدن گیاه بیشتر باندها کمرنگ می شوند. این نتیجه توسط کاهلر و آلارد (۷) نیز گزارش شده است.

آمد (جدول ۱). پی بردن به علت عدم انطباق کلاسترهای حاصله با اقلیمهای جغرافیایی امری است که نیاز به مطالعات وسیع دارد. استفاده از سیستم های آنزیمی زیاد و تعداد نمونه های مساوی از هر شهرستان عواملی هستند که می توانند در توجیه این پدیده به وسیله آزمایشهای

دیگر مفید شوند.

آزمایش دوم: مطالعه ۲۶ جمعیت انتخابی

از میان جمعیت های مورد بررسی ۲۶ جمعیت که از لحاظ باندهای آلوزیمی دارای تنوع بیشتری بودند انتخاب شده و مورد مطالعه الکتروفورزی قرار گرفتند.

الف - فراوانی های آلی

فراوانی های آلی برای چهار مکان استراز Est 3, Est 2, Est 1

و Est 4 در هر جمعیت محاسبه شد. در این مطالعه در مجموع ۱۹ ال در چهار مکان ژنی استراز یافت شد که ۵ ال متعلق به مکان ژنی Est 1، ۶ ال متعلق به مکان ژنی Est 2، ۳ ال متعلق به مکان ژنی Est 3 و ۵ ال متعلق به مکان ژنی Est 4 بودند. جدول ۲ تعداد افراد و فراوانی های آلی محاسبه شده برای ۲۶ جمعیت مورد بررسی را نشان می دهد در مجموع رایج ترین الها در مکان ژنی Est 1 به ترتیب ال های 1.0 و 1.8 می باشند. این نتایج با بررسی کاهلر و آلارد (۷) بر روی ۲۴۰ تک خوشه جو ایرانی موجود در کلکسیون جهانی مطابقت دارد.

در مکان ژنی Est 2 رایج ترین ال ها، ال های 2.0 و 2.7، در مکان ژنی Est 3 ال های 4.4 و 4.9 و در مکانهای ژنی Est 4 ال 6.4 می باشند. کاهلر و آلارد (۷) در بررسی نمونه های آسیایی کلکسیون جهانی جو رایج ترین ال در مکان ژنی Est 2 را ال 2.7، در مکان ژنی Est 3 ال های 4.9 و 5.4 و در مکان ژنی Est 4 ال 6.4 گزارش نمودند.

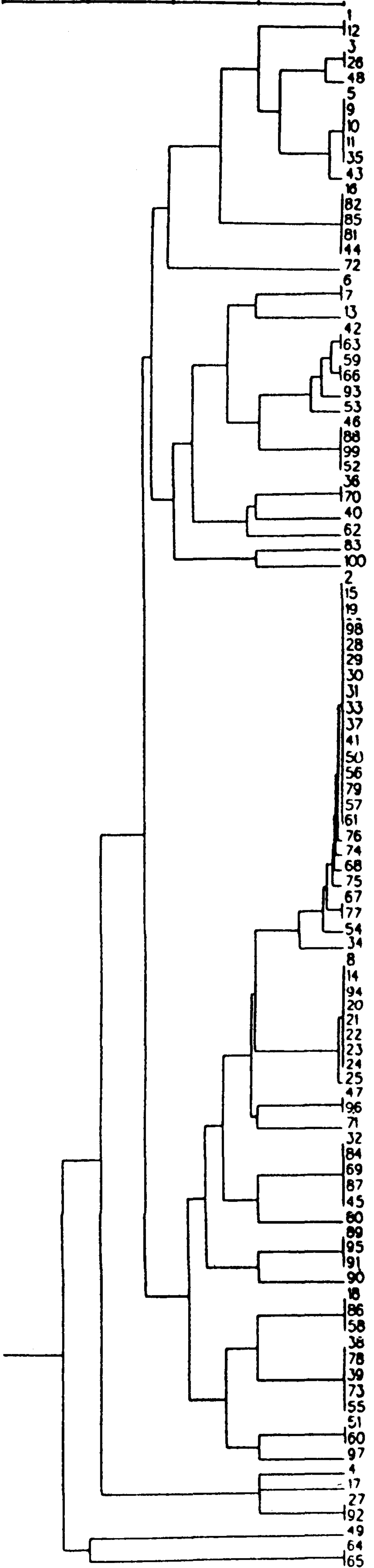
ب - ضرایب فاصله ژنتیکی و همسانی ژنتیکی

برای مقایسه میزان تشابه ژنتیکی جمعیت ها، ضرایب فاصله ژنتیکی (D) و همسانی ژنتیکی (I) نی (۲) برای جوامع کوچک به وسیله برنامه کامپیوتری محاسبه و مقادیر I در جدول ۳ آورده شده است. میانگین مقادیر I برابر ۰/۷۰۷ و دامنه تغییرات آن بین ۰/۰۰ - ۱ می باشد. کمترین مقدار همسانی ژنتیکی بین جمعیت های ۲ و ۳ (فریمان و سبزوار) و جمعیت های ۳ و ۱۶ (سبزوار و داراب) نشاندهنده تمایز ژنتیکی زیاد بین این جمعیت ها (برخلاف فاصله جغرافیایی کم بین جمعیت های ۲ و ۳) و بیشترین مقدار همسانی ژنتیکی بین جمعیت های ۱۰ و ۲۰ (روانسر و بافت) نشاندهنده کمترین تمایز ژنتیکی بین آنها از نظر مکانهای ژنی استراز می باشد (بر خلاف فاصله جغرافیایی نسبتاً زیاد بین دو جمعیت).

جدول ۱ - کلاسترهای مربوط به ۴۵ شهرستان

کد	مبدأ	تعداد نمونه	کلاستر
۱	میاندوآب	۲۰	۱
۲	گرگان	۲۲	
۳	تبریز	۷	
۴	آذربایجان (نامعلوم)	۱۰	۲
۸	کرد	۲	
۱۹	قزوین	۸	
۱۰	بوشهر	۱	
۲۶	خرم آباد	۳	
۳۲	مشهد	۲	
۳۴	سرخس	۲	
۱۲	همدان	۴	
۵	ماهیدشت	۴	
۶	سرپل ذهاب	۱	
۷	کرمانشاه	۳	
۹	روانسر	۱	
۲۰	کرمان	۱۷	
۱۶	بجنورد	۱۳	
۱۸	یزد	۲	
۲۱	بافت	۲	
۳۱	تربت جام	۹	
۲۲	زرنج	۲	
۳۰	مراغه	۴	
۲۴	قوچان	۳	
۳۳	فریمان	۴	
۳۸	بیجار	۲	۳
۳۹	کردستان (نامعلوم)	۲	
۱۴	بروجرد	۱	۴
۳۵	نامعلوم	۲۰	
۱۷	اردکان	۲	
۲۳	بم	۱	
۲۵	گلپایگان	۴	
۲۹	شهرکرد	۳	
۲۸	جلفا	۱	
۳۵	شیروان	۱	
۴۳	بابل	۲	
۴۱	البرز (نامعلوم)	۲	۵
۱۳	ملایر	۱	۶
۴۴	تفت	۱	۷
۳۶	نیشابور	۲	۸
۱۱	زابل	۲	۹
۳۷	اردبیل	۲	
۱۵	اشتهارد	۱	۱۰
۴۰	تهران	۲	۱۱
۲۷	ماکو	۱	۱۲
۴۲	تربت حیدریه	۱	۱۳

1 - F  
1.00 0.75 0.50 0.25 0.00



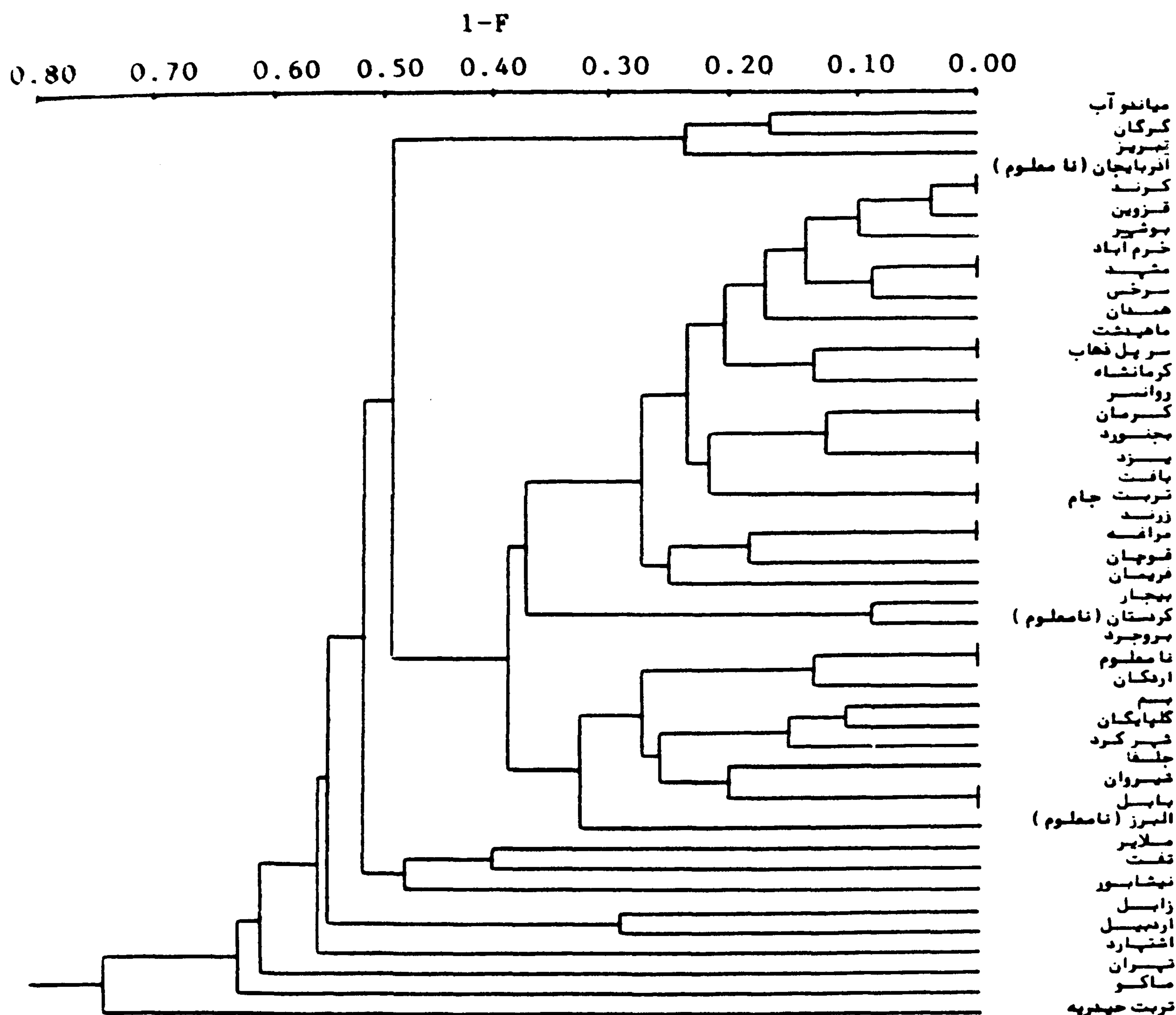
- 80001 میانو آب
- 80013 کرمان
- 80004 میانو آب
- 80028 نکی آباد (معلوم)
- 80030 نسیم
- 80006 زابل
- 80010 میانو آب
- 80011 ارمبیل
- 80012 کرمان
- 80037 قرظین
- 80045 سراب
- 80018 کرمان
- 80093 آذربایجان
- 80096 تهران
- 80092 آذربایجان
- 80046 نسیم
- 80078 شهر گره
- 80007 میانو آب
- 80008 میانو آب
- 80015 ساره
- 80044 سراب
- 80068 مطب
- 80061 بجنورد
- 80071 مطب
- 80104 کرمان
- 80053 بجنورد
- 80048 نسیم
- 80099 کرمان
- 80110 همدان
- 80054 بجنورد
- 80038 قرظین
- 80076 الهیز (معلوم)
- 80042 سراب
- 80064 بجنورد
- 80094 آذربایجان
- 80111 همدان
- 80002 بروجرد
- 80017 کرمان
- 80021 باسل
- 80109 همدان
- 80030 یزد
- 80031 قرظین
- 80032 قرظین
- 80033 قرظین
- 80035 قرظین
- 80039 میانو آب
- 80043 سراب
- 80052 بجنورد
- 80058 بجنورد
- 80090 آذربایجان
- 80059 بجنورد
- 80063 بجنورد
- 80082 گلپایگان
- 80080 شهر گره
- 80073 مطب
- 80081 گلپایگان
- 80072 مطب
- 80083 گلپایگان
- 80056 بجنورد
- 80036 قرظین
- 80009 میانو آب
- 80016 تربت جام
- 80105 کرمان
- 80022 کرمان
- 80023 انقبار
- 80024 اربابیه (معلوم)
- 80025 اربابیه (معلوم)
- 80024 مسین آباد (معلوم)
- 80027 چوبک (معلوم)
- 80049 نسیم
- 80107 نسیم
- 80077 الهیز (معلوم)
- 80034 قرظین
- 80095 آذربایجان
- 80074 مطب
- 80098 نا معلوم
- 80047 نسیم
- 80091 آذربایجان
- 80100 کرمان
- 80106 کرمان
- 80102 کرمان
- 80101 کرمان
- 80020 باسل
- 80097 آذربایجان
- 80060 بجنورد
- 80040 جلفا
- 80084 گلپایگان
- 80041 ساکو
- 80079 شهر گره
- 80057 بجنورد
- 80053 بجنورد
- 80062 بجنورد
- 80108 آذربایجان
- 80005 زابل
- 80019 تربت حیدریه
- 80039 یزد
- 80103 کرمان
- 80051 نسیم
- 80044 مطب
- 80070 مطب

1 - F  
1.00 0.75 0.50 0.25 0.00



- 80112 همدان
- 80116 کرمان
- 80117 کرمان
- 3395 همدان
- 80359 همدان
- 80353 سر بل لهاب
- 80440 یزد
- 80636 ارمگان
- 80495 تربت جام
- 80511 لوزان
- 80355 کرمانشاه
- 80334 خرم آباد
- 80349 کرمان
- 80638 نا معلوم
- 80631 کرمان
- 80642 نا معلوم
- 80360 ماهیخت
- 80510 لوزان
- 20361 ماهیخت
- 80509 لوزان
- 80362 ماهیخت
- 80113 کرمان
- 80114 کرمان
- 80115 کرمان
- 80118 کرمان
- 80389 کرمان
- 80358 کرمانشاه
- 80390 کرمان
- 80489 سوس
- 80356 کرمانشاه
- 80486 مطب
- 80498 نیشابور
- 80494 تربت
- 80629 یزد
- 80517 همدان
- 80632 بافت
- 80499 نیشابور
- 80636 ارمگان
- 80344 سلیمان
- 80119 کرمان
- 80632 بافت
- 80382 ارمبیل
- 80387 کرمان
- 80122 کرمان
- 80363 رونسر
- 80123 کرمان
- 80125 میانو آب
- 80126 میانو آب
- 80127 میانو آب
- 80128 میانو آب
- 80129 میانو آب
- 80130 میانو آب
- 80131 میانو آب
- 80132 میانو آب
- 80133 میانو آب
- 80376 آذربایجان غربی
- 80134 میانو آب
- 80120 کرمان
- 4869 نیکو شهر
- 80121 کرمان
- 80367 میان (معلوم)
- 80371 بجنورد
- 80372 کرمان
- 80493 همدان
- 80377 آذربایجان غربی
- 80388 کرمان
- 80490 لوزان
- 80633 نا معلوم
- 80634 یزد
- 80365 بجنورد
- 80375 کرمان
- 80339 خرم آباد
- 80378 آذربایجان غربی
- 80400 کرمان
- 80403 کرمان
- 80338 خرم آباد
- 80488 سوس
- 80492 لوزان
- 80391 کرمان
- 80405 کرمان
- 80398 کرمان
- 80392 کرمان
- 80406 کرمان
- 80396 کرمان
- 80401 کرمان
- 80397 کرمان
- 80399 کرمان
- 80637 طالت
- 80487 مطب
- 80481 تربت
- 80485 تربت
- 80491 لوزان
- 80482 تربت
- 80484 تربت
- 80135 میانو آب
- 80136 میانو آب
- 80137 میانو آب
- 80480 کرمان
- 80480 تربت
- 80483 تربت

شکلهای ۱ و ۲ - دندروگرام مربوط به تجزیه کلاستر بر روی داده های حاصل از مطالعه چهار مکان ژنی استراز در ۱۰۰ توده بومی جو ایرانی



شکل ۳ - دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر بر روی داده‌های مربوط به ۴۵ شهرستان.

اختلاف نشان دهند و بر عکس جمعیت‌هایی که در محیط‌های متفاوت بوده‌اند مشابه هم باشند.

صفات مورفولوژیکی به ویژه آنهایی که توارث پذیری بالایی دارند، بیشتر تحت تاثیر فشار سلکسیون قرار می‌گیرند و بر عکس ژنهای آلوزایمی به علت ماهیت خاص خود که از نظر گزینشی خنثی می‌باشند (Selectively neutral) کمتر تحت تاثیر فشار سلکسیون قرار می‌گیرند. از این رو می‌توان از آنها به عنوان ابزارهایی قوی در بررسی روابط بین نمونه‌ها استفاده نمود.

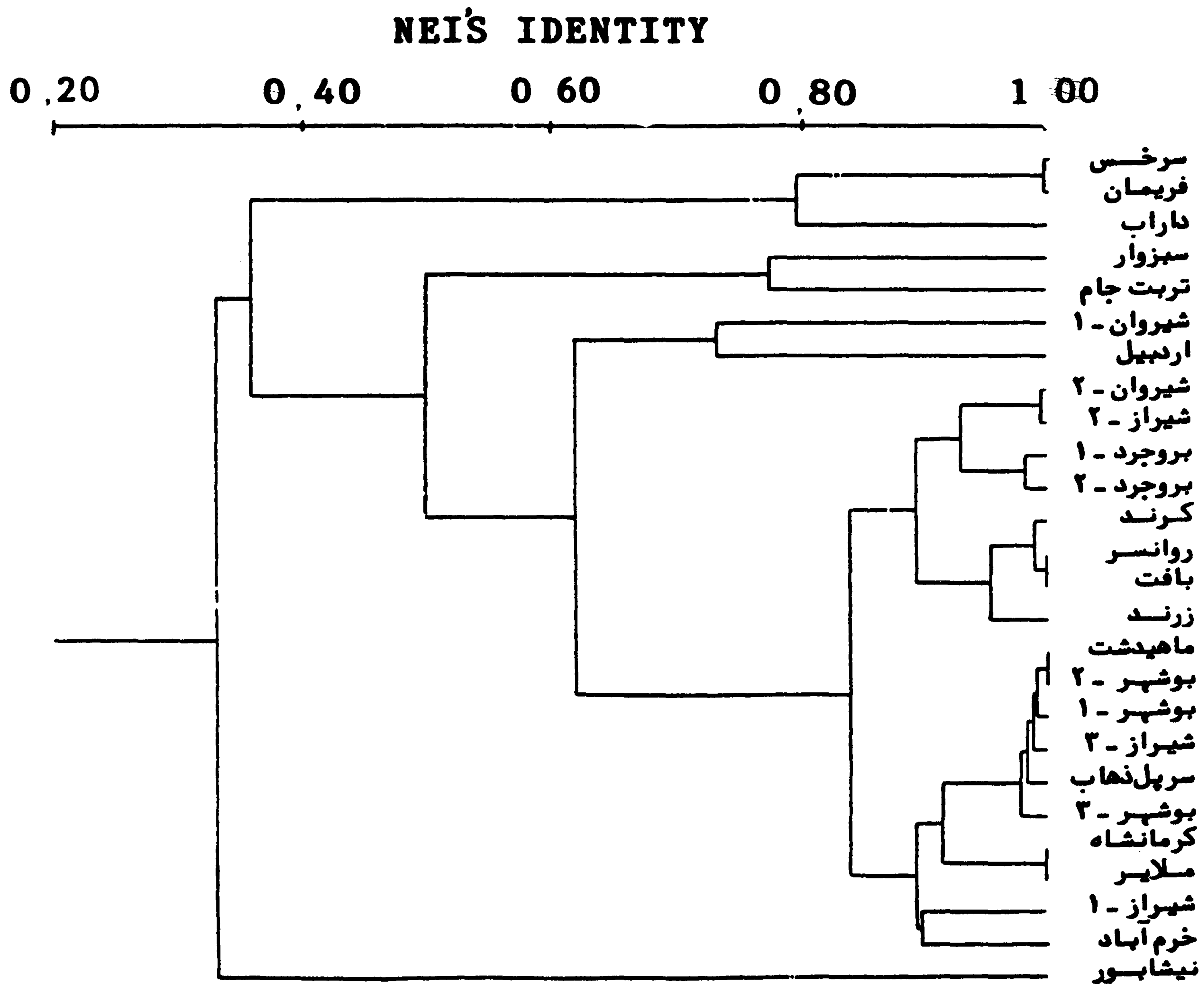
ج - تجزیه کلاستر بر اساس ضریب همسانی ژنتیکی نی (I)

تجزیه کلاستر به روش UPGMA و با استفاده از مقادیر I برای ۲۶ جمعیت دندروگرام شکل ۴ را به وجود آورد. بهترین

در این تحقیق رابطه معقولی بین فواصل جغرافیایی و ضرایب همسانی ژنتیکی (یا فواصل ژنتیکی) بین جمعیت‌ها مشاهده نشد. مطالعه محققین نشان داده است که همبستگی معنی‌داری بین فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی وجود ندارد (۲، ۶، ۱۳ و ۱۴).

برای مثال نیووو همکاران (۱۹۷۹) مقدار فاصله ژنتیکی (D) برای دو ناحیه فاصله جغرافیایی ۲۵ کیلومتر را برابر ۰/۱۹ و برای دو ناحیه با فاصله جغرافیایی ۲۶۰ کیلومتر را برابر ۰/۰۶ به دست آوردند که مقدار همبستگی بین فواصل جغرافیایی و ژنتیکی معنی‌دار نبود ( $r = 0/064$ ).

بدین ترتیب جمعیت‌هایی که تحت تاثیر فشار محیطی مشابه بوده‌اند می‌توانند از نظر مکانهای ژنی ایزوزایمی با همدیگر



شکل ۴ - دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر بر روی داده های مربوط به ۲۶ جمعیت . همسانی های ژنتیکی با استفاده از فراوانی اللی ۴ مکان ژنی استراز محاسبه شده است .

کلاستر هشتم : جمعیت های ماهی دشت ، بوشهر - ۲ ، بوشهر - ۱ ، شیراز - ۳ ، سرپل ذهاب ، بوشهر - ۳ ، کرمانشاه ، ملایر ، شیراز - ۱ و خرم آباد .

کلاستر نهم : جمعیت نیشابور

د - تنوع ژنتیکی

بر اساس فرمول پیشنهادی نی (۱۲) برای جوامع کوچک ، مقادیر تنوع ژنتیکی در هر مکان ژنی (h) برای ۲۶ جمعیت محاسبه شد (جدول ۴).

بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی در مکان ژنی Est1 مربوط به جمعیت شماره ۲۳ (بروجرد - ۲) ، مکان ژنی Est2 مربوط به جمعیت شماره ۱۰ (روانسر) ، در مکان ژنی Est3 نیز مربوط به

تعداد کلاستر به ازای مقدار ضریب تشابه ۰/۸۵ و برابر ۹ کلاستر انتخاب شد.

کلاستر ها به ترتیب شامل :

کلاستر اول : جمعیت های سرخس و فریمان

کلاستر دوم : جمعیت داراب

کلاستر سوم : جمعیت سبزوار

کلاستر چهارم : جمعیت تربت جام

کلاستر پنجم : جمعیت شیروان - ۱

کلاستر ششم : جمعیت اردبیل

کلاستر هفتم : جمعیت های شیروان - ۲ ، شیراز - ۲ ، بروجرد - ۱ ، بروجرد - ۲ ، کرند ، روانسر ، بافت و زرند.







جدول ۴ - ضرایب تنوع ژنتیکی برای ۲۶ جمعیت

جمعیت	h				H	میانگین تعداد الل در هر مکان ژنی	نسبت مکانهای ژنی پلی مورفیک
	Est1	Est2	Est3	Est4			
سرخس	۰/۰	۰/۰۸۸	۰/۰	۰/۲۴۷	۰/۰۸۴	۱/۷۵	۰/۵
فریمان	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۱/۰۰	۰/۰
سبزوار	۰/۰۹۷	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰۲۴	۱/۲۵	۰/۲۵
تربت	۰/۰	۰/۰	۰/۱۲۰	۰/۰	۰/۰۳	۱/۲۵	۰/۲۵
شیروان ۱	۰/۱۱۲	۰/۲۲۱	۰/۱۱۴	۰/۲۱۴	۰/۱۶۵	۲/۲۵	۱/۰۰
شیروان ۲	۰/۱۵۰	۰/۱۵۵	۰/۱۹۷	۰/۱۰۵	۰/۱۵۱	۲/۵	۱/۰۰
نیشابور	۰/۰	۰/۰	۰/۰۹۷	۰/۰	۰/۰۲۴	۱/۲۵	۰/۲۵
ماهیدشت	۰/۱۲۷	۰/۲۲۹	۰/۳۳۱	۰/۲۳۹	۰/۲۸۴	۲/۰۰	۱/۰۰
کرنده	۰/۵۰۸	۰/۱۰۷	۰/۴۱۱	۰/۰	۰/۲۵۶	۱/۷۵	۰/۷۵
روانسر	۰/۵۰۹	۰/۶۲۰	۰/۵۷۲	۰/۱۲۰	۰/۲۴۵	۲/۵	۱/۰۰
کرمانشاه	۰/۰	۰/۱۲۰	۰/۴۴۳	۰/۰	۰/۱۴۱	۱/۵	۰/۵
سرپل ذهاب	۰/۱۲۰	۰/۲۲۶	۰/۰	۰/۳۴۰	۰/۱۱۵	۲/۲۵	۰/۷۵
شیراز ۱	۰/۵۰۵	۰/۰	۰/۴۴۲	۰/۵۲۶	۰/۳۶۸	۱/۷۵	۰/۷۵
شیراز ۲	۰/۱۹۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۰۴۷	۱/۲۵	۰/۲۵
شیراز ۳	۰/۰	۰/۰	۰/۴۸۳	۰/۱۸۹	۰/۱۶۸	۱/۷۵	۰/۵
داراب	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۲۳۴	۰/۰۵۸	۱/۲۵	۰/۲۵
بوشهر ۱	۰/۰	۰/۰	۰/۱۶۱	۰/۰	۰/۰۴۰	۱/۲۵	۰/۲۵
بوشهر ۲	۰/۲۳۴	۰/۰	۰/۴۰۰	۰/۲۳۴	۰/۲۱۷	۱/۷۵	۰/۷۵
بوشهر ۳	۰/۰	۰/۰	۰/۳۳۷	۰/۴۴۲	۰/۱۹۵	۱/۵	۰/۵
بافت کرمان	۰/۵۰۵	۰/۳۳۷	۰/۵۲۶	۰/۱۸۹	۰/۳۸۹	۲/۰۰	۱/۰۰
زرنده کرمان	۰/۶۲۴	۰/۵۲۶	۰/۴۹۴	۰/۲۳۱	۰/۴۶۹	۲/۲۵	۱/۰۰
بروجرد ۱	۰/۵۳۱	۰/۰	۰/۰	۰/۱۳۱	۰/۱۶۵	۱/۵	۰/۵۰۰
بروجرد ۲	۰/۶۴۶	۰/۱۵۷	۰/۲۸۶	۰/۲۸۶	۰/۳۴۳	۲/۲۵	۱/۰۰
ملایر	۰/۴۸۵	۰/۴۸۵	۰/۴۱۶	۰/۵۲۰	۰/۴۷۶	۲/۰۰	۱/۰۰
خرم آباد	۰/۳۳۷	۰/۰	۰/۵۲۶	۰/۵۲۶	۰/۳۴۷	۱/۷۵	۰/۷۵
اردبیل	۰/۰	۰/۰	۰/۰	۰/۱۵۷	۰/۰۳۹	۱/۲۵	۰/۲۵

بیشتر از ۰/۹۵ نباشد. بر این اساس میانگین تعداد الل ها در هر مکان ژنی پلی مورفیک محاسبه شد (جدول ۴). که دامنه تغییرات مقادیر آن بین ۱ تا ۲/۵ است. کمترین مقدار مربوط به جمعیت فریمان و بیشترین مقدار مربوط به جمعیت های شیروان - ۲ و روانسر است.

نسبت مکانهای ژنی پلی مورفیک برای ۲۶ جمعیت و چهار مکان ژنی استراز محاسبه شد (جدول ۴) که کمترین مقدار آن مربوط به جمعیت فریمان و بیشترین مقدار مربوط به جمعیت های شیروان - ۱، شیروان - ۲، ماهی دشت، روانسر، بافت، زرنده، بروجرد - ۱، بروجرد - ۲ می باشد.

جمعیت شماره ۱۰ (روانسر) و بالاخره در مکان ژنی Est4 مربوط به جمعیت شماره ۱۳ (شیراز - ۱) است. بیشترین مقدار h در میان چهار مکان ژنی مربوط به مکان ژنی Est1 (۰/۶۴) است.

میزان تنوع برای یک منطقه خاص از طریق محاسبه اندیس متوسط تنوع در کل لوکوس ها (H) بر اساس فرمول نی (۱۲) محاسبه گردید دامنه تغییرات (H) بین ۰ تا ۰/۴۷ است که کمترین مقدار مربوط به جمعیت فریمان و بیشترین مقدار مربوط به جمعیت ملایر می باشد.

بر طبق تعریف دوبزانسکی و همکاران (۴) مکان ژنی پلی مورفیک به مکان ژنی گفته می شود که فراوانی رایج ترین الل آن

خاطر تامین بذر و شورای محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر  
تامین هزینه تحقیق تشکر و قدر دانی می شود.

### سپاسگزاری

از کلیه افرادی که به نحوی ما را در انجام این تحقیق یاری  
نمودند بویژه مسئولین محترم کلکسیون غلات وزارت کشاورزی به

### REFERENCES

- 1 - Allard , R.W. 1988. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J.Hered.* 79:225-238.
- 2 - Bekeele, E. 1983. Allozyme genotypic composition and genetic distance between the Ethiopian land race populations of barley . *Hereditas* 98:259-267.
- 3 - Brown, A.H.D. , D.Zohary & E.Nevo. 1978. Outcrossing rates and heterozgosity in natural populations of *Hordeum Spontaneum Koch.* in Israel. *Heredity* 41:49-62.
- 4 - Dobzhansky, T., F.J. Ayala, G.L. Stebbins , & J.W. Valentine , 1973. *Evolution* . W.H. Freeman and company, San Francisco.
- 5 - Huerta, N.L.S.A.J. Huerta , D. Barnhart & J.G. Waines. 1989. Genetic diversity in diploid wheats *Triticum monococcum var. boeotium* and *T. Urartu* (Poaceae). *Theor Appl Genet.* 78:260-264.
- 6 - Jaradat, A.A. 1992. Genetic diversity of four esterase loci in natural populations of *Hordeum spontaneum C.Koch.* from Jordan *Theor. Appl. Genet.* 72:15-26.
- 7 - Kahler, A.L. & R.W. Allard. 1981. Worldwide patterns of genetic variation among four esterase loci in barley (*Hordeum vulgare L.*) *Theor. Appl. Genet.* 59:101-111.
- 8 - Kahler, A.L. S. Heath-paglius & R.W. Allard. 1981. Genetics of isozyme variants in barley II. 6-Phosphogluconate dehydrogenase, glutamate Oxalate Transaminase and acid phosphatase. *Crop Sci.* 21:536-540.
- 9 - Kahler, A.L., M.T. Clegg & R.W. Allard. 1975. Evolutionary changes in the mating system of an experimental population of barley (*Hordeum vulgare L.*) *proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:943-946.
- 10- Kahler, A.L. & R.W. Allard. 1970. Genetics of isozyme variants in barley. I. Esterases. *Crop Sci.* 10:444-448.
- 11- Kazan, K., J.M. Manners , & D.F. Cameron . 1993. Genetic relationship and variation in the *Styfosanthes guianensis* Species complex assessed by random amplified polymorphic DNA. *Genome* 36:43-49.
- 12- Nei, M. 1978. Estimation of the average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- 13- Nevo, E.E. Golenberg & A. Beiles , 1982. Genetic diversity and environmental association of wild wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theor. Appl. Genet.* 62:241-254.
- 14- Nevo, E.D. Zohary, A.H.D. Brown , & M. Haber. 1979. Genetic diversity and environmental associations of wild barley. *Hordeum spontaneum* , in Israel. *Evolution* 33:815-833.
- 15- Singh, S.P., R. Nodari, & P. Gepts. 1991. a. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. *Crop Sci.* 31:19-23.
- 16- Singh, S.P., J.A. Gutierrez, A. Molina, C. Urrea, & P. Gepts. 1991. b. Genetic diversity in cultivated common bean. II. Marker-based analysis of morphological and agronomic traits. *Crop Sci.* 31:23-29.
- 17- Sneath, P.H.A. & R. Sokal. 1973. *Numerical taxonomy*. W.H. Freeman, San Francisco.
- 18- Xiankai, D. & Zhang, Q. 1989. Genetic diversity of six isozyme loci in Cultivated barley of Tibet. *Theor. Appl. Genet.* 78:281-286.

**Study of Polymorphism For Esterase and Glutamate Oxalate  
Transaminase Isozymes in Iranian Barley  
Land Race Populations**

**A.HAGH NAZARY, S.ABD-MISHANI, B.YAZDI-SAMADI AND  
N.KHOODABANDEH**

**Farmer Graduate Student , Professors and Associate Professor,  
Respectively ,College of Agriculture, University of  
Tehran, Karaj,Iran.**

**Accepted 22 Nov.1995.**

**SUMMARY**

200 barley land race populations belong to different regions of Iran were assayed electrophoretically (HSGE) for genetic diversity and polymorphism in 5 enzymatic loci. In this study one isozymic locus was found to be monomorph but a large variation was observed for the four loci(Est1,Est2,Est3,Est4) .In order to classify 200 land race populations and to study the relationships among them, electrophoresis was carried out on random mixed samples (6-7 plumule from each population). Genetic distance coefficients,1-F,were calculated for the observed bands for each sample. Cluster analysis and dendrogram construction was carried out for 200 landrace populations and 45 origins. 13 clusters were obtained for 45 origins. 26 populations among 200 populations wick showed more diversity were selected to measure allelic frequencies of four loci. From a total of 19 allozymes, 5,6 and 5 alleles were observed at the Est1,Est2,Est3 and Est4 loci , respectively. Nei's genetic distances and genetic identities worked out for the populations. Cluster analysis was carried out and dendrogram was generated from genetic identities. 9 clusters were obtained for 26 populations . Nei's genetic heterozygosity(h), mean heterozygosity in all loci(II) , and proportion of polymorphic loci worked out for the populations.