مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۲، سال ۱۳۸۲ (۴۵۴-۴۴۷)

مطالعه روابط خویشاوندی وتنوع ژنتیکی ارقام و لاینهای گندم (*Triticum aestivum*) با نشانگرهای RAPD

بابک عبدالهی مندولکانی[1]، بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی[2]، علی اکبر شاه‌نجات بوشهری[3]، محمدرضا قنادها[4] و منصور امیدی[5]
۱، ۲، ۳، ٤، ٥، دانشجوی دوره دکتری اصلاح نباتات، استادیاران و دانشیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۱۰/۱۸

خلاصه

برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم، دی ـ ان ـ ای ژنومی به روش دلاپورتا (۱۹۸۳) استخراج والگوی نواربندی آنها با۵۰ آغازگر RAPD مورد مطالعه قرار گرفتند.هشت آغازگر تکثیر دی ـ ان ـ ای الگو را بخوبی انجام داده و در بین ژنوتیپها چند شکلی نشان دادند. بقیه آغازگرها فاقد نوار و یا منومورف بودند.در مجموع ۱۵۳۲ نوار تولید شد. نوارهایی که دارای تکرارپذیری بالایی بودند انتخاب و وارد محاسبات شدند. آغازگرUBC66 بیشترین تعداد نوار و آغازگرUBC77 کمترین تعداد نوار را تولید کردند. در بین ارقام ولاینها بیشترین و کمترین تعداد نوار به ترتیب مربوط به ارقام دیهیم و رشید بودند. تجزیه کلاستر بر اساس حضور(۱) وعدم حضور (۰) نوار با استفاده ازضریب تطابق ساده و مبتنی بر روش UPGMA با نرم افزارSPSS انجام گرفت.دامنه ضرایب تشابه از۰/٤۰تا۰/۹۱متغیر بود.میانگین ضرایب تشابه۰/٦٤ بود. میانگین ضرایب تشابه لاینها بیشتر از ارقام بود.لاین ۷۱۰۷ کمترین تشابه را با ارقام داشت. بیشترین تشابه ژنتیکی بین ارقام آزادی وخزر۱ دیده شد. این ارقام دارای بعضی خصوصیات مشابه، مانند داشتن والد مشترک ، زودرسی و حساسیت به ریزش می باشند. بیشترین تمایز ژنتیکی بین لاین ۷۱۰۷ ورقم کرج ۳ بود. دارنگاره (دندروگرام) حاصله دو گروه عمده را نشان داد.هرگروه شامل ١٤ عضو بود. همچنین هر یک از گروهها به زیرگروههایی تقسیم شدند. با توجه به میانگین ضرایب تشابه لاینها، وجود چنین تنوعی در بین لاینها از جذابیت مطلوبی برخوردار نیست و لازم است نسبت به گسترش ژرم پلاسم وتنوع ژنتیکی آنها اقدام شود. همچنین این چنین تحقیقاتی پیش نیاز اساسی برای برنامه های دورگ گیری بشمارمی رود.

واژه‌های کلیدی: گندم هگزاپلوئید ، تنوع ژنتیکی، نشانگرRAPD

مقدمه

آگاهی دقیق از تنوع ژنتیکی مجموعه‌های ژنتیکی گیاهی ضمن حفظ ذخائر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه‌های اصلاحی تامین می‌کند.همچنین 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 ومکان یابی ژنها رافراهم می‌سازد (۲۷).برای بررسی تنوع ژنتیکی روشهای مختلفی ازجمله توزیع جغرافیایی مورفولوژیکی (۱۰)، آیزوزایم (۱۴) و بررسی‌های سیتولوژیکی (۲۱) استفاده شده است که هر یک از این روشها به علت محدودیتهایشان قادر به تعیین دقیق و سریع تنوع ژنتیکی نمی باشند. از طرفی استفاده از نشانگرهایRFLP[1]، که مبتنی بر تفاوت در طول قطعات برش یافته حاصل از آنزیمهای برشی است، به علت پایین بودن پلی‌مورفیسم حاصله از این

مکاتبه کننده: بابک عبدالهی مندولکانی

1 . Restriction Fragment Length Polymorphism

روش در ارقام اصلاحی، طولانی بودن تجزیه و تحلیل و خطر مواد رادیواکتیو محدود شده است (۲۲).

با پیدایش فن واکنش زنجیره‌ای پلیمراز،تکنیکهای مولکولی مطلوب و جدیدی مبتنی برآن از جمله RAPD [1]، AFLP [2]، SSR [3]، گسترش یافت که امکان تعیین دقیق و سریع تنوع ژنتیکی تعداد زیادی نمونه را فراهم ساخته است. همچنین نشانگرهای RAPD ، که در آن توالیهای دی ـ ان ـ ای ژنومی با آغازگرهای کوتاه و اختیاری تکثیر می‌شود، به علت مزایایی از قبیل: نامحدود بودن تعداد نوارها، عدم استفاده از مواد رادیواکتیو، سادگی و سرعت عمل آن گستردگی زیادی را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی پیدا کرده است (۲۰، ۲۲ ، ۲۸). جوزانی و همکاران (۱۳۷۸) نشانگر RAPD را برای تعیین چند شکلی در ۲۸ رقم تجارتی سیب زمینی بکار بردند و سودمندی این نشانگر را برای دسته بندی ژرم پلاسم و ارزیابی تنوع ژنتیکی بیان کردند. کاربرد نشانگرهای RAPD به عنوان مارکر ژنتیکی در گیاهان خودگرده افشان با سطح تنوع داخل گونه‌ای پایین مانند گندم ثابت شده است(۸). کائو و همکاران (۴) نشانگر RAPD را برای طبقه‌بندی و تمایز ۱۸ نمونه‌ی گندم بکار بردند و سودمندی این نشانگر را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی اظهار کردند. لیو و همکاران (۱۹۹۹) با استفاده از نشانگر RAPD بیست لاین گندم هگزاپلوئید را در چهار گروه قرار دادند و پیشنهاد کردند که آنالیز RAPD برای دسته‌بندی لاین‌های گندم و شناسایی والدین برای تولید هیبریدهای برتر مفید است. از نشانگرهای RAPD برای ترسیم نقشه‌ی لینکاژی (۲۵) و بررسی همبستگی آنها با صفات و بیماری‌های مهم زراعی (۲۶) نظیرزنگ سیاه استفاده شده است.

هدف از این تحقیق ارزیابی و تعیین سطح تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی ۲۱ رقم و ۷ لاین گندم هگزاپلوئید و نهایتا گروه‌بندی آنها به روش تجزیه‌ی کلاستر بود.

مواد و روشها

استخراج دی ـ ان ـ ای ژنومی

دی- ان- ای ژنومی از ۰/۱ گرم بافت تازه برگی که ۱۲-۱۰ روز از تاریخ کاشت آن گذشته بود به روش دلاپورتا (۱۹۸۳) استخراج شد. کیفیت وکمیت دی- ان-ای استخراجی از طریق اسپکتروفتومتری مشخص شد. نمونه هایی که دارای کیفیت بالا بودند انتخاب و محلول کاری با غلظت ۱ نانوگرم در میکرولیتر تهیه شده و در آزمایشات استفاده گردید.

آغازگر

تعداد ۵۰ آغازگر تصادفی از شرکت سیناژن تهیه و بکارگرفته شدند. آغازگرهای مورد استفاده ۱۰ نوکلئوتیدی و دارای حداقل ۶۰-۵۰ درصد CG بودند. همچنین هیچکدام از آغازگرها دارای انتهای خود مکملی نبودند.

PCR و شرایط الکتروفورزی

روشی که برای PCR بکار برده شده روشی بودکه اساس آن روش ویلیامز است(۲۸). اجزای تشکیل دهنده‌ی هر واکنش۲۵ میکرولیتری عبارت بود از: ۱) بافر۱۰X با غلظت 1X ، ۲) کلرید منیزیم با غلظت ۱/۱۴ میلی مول ، ۳) dNTP به غلظت ۰/۱۷۵ میلی مول از هر کدام ، ۴) آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی به غلظت ۰/۵ میکرومول ،۵) ۵ میکرولیتر دی ـ ان ـ ای ژنومی با غلظت ۱ نانوگرم ۶)۰/۲ میکرولیتر آنزیم تگ ۵ واحد در میکرولیتر و ۷) آب دو بار استریل بود. مخلوطهای واکنش آماده شده برای تکثیر به دستگاه ترموسایکلر فارماسیا انتقال می‌یافت. قبل از تکثیر به هر کدام از نمونه ها ۳۰ میکرولیتر روغن معدنی جهت جلوگیری از تبخیر مواد اضافه می‌شد.الگوی دمائی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بدین ترتیب بود: قسمت اول: یک چرخه، ۹۴ درجه به مدت ۲ دقیقه، قسمت دوم: ۴۵ چرخه شامل ۹۲ درجه به مدت یک دقیقه ، ۳۵ درجه به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه به مدت سه دقیقه، قسمت سوم: یک چرخه شامل ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه.

برای انجام الکتروفورز، از ژل عمودی پلی‌اکریل‌آمید با غلظت ۶٪ که شامل ۱۵ چاهک بود استفاده شد. برای الکتروفورز از ولتاژ ثابت ۲۰۰ ولت به مدت ۲/۵ ساعت استفاده شد. نشانگر مورد استفاده CG بود. رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به مدت ۴۵ دقیقه انجام شده بعد ژلها با آب مقطر شسته شده و در نهایت به کمک دستگاه ترانسلومیناتور عکس‌برداری صورت گرفت.

تجزیه آماری داده ها

برای تجزیه آماری،نوارهایی در محدوده‌ی ۱۵۰۰-۱۰۰

1 . Random Amplified Polimorphic DNA

2 . Amplified Fragment Length Polimorphism

3 . Simple Sequence Repeat

جفت باز که دارای تکرارپذیری بالائی بودند انتخاب و وارد محاسبات شدند (۱۲). ژلهای بدست آمده براساس حضور نوار (۱) و عدم حضور نوار (۰) رتبه بندی شدند. تجزیه کلاستر(۲) بر همین اساس با استفاده از ضرایب تطابق ساده مبتنی بر روش UPGMA[1] انجام گرفته و در نهایت دارنگاره(دندروگرام) حاصله رسم شد. تمامی مراحل تجزیه با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

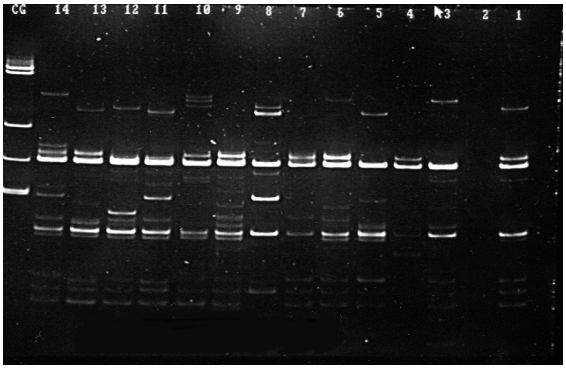
نتایج و بحث

بطور کلی از ۵۰ آغازگر بکار رفته ۸ آغازگر پلی مورفیسم قابل توجهی را نشان دادند که به راحتی قابل دسته بندی بودند. نوارهای تولید شده بوسیله این ۸ آغازگر در محدوده‌ی ۱۵۰۰-۱۰۰ جفت باز بودند.هشت آغازگر درمجموع ۱۵۳۲ نوار تولیدکردند(جدول ۱). میانگین نواردهی برای هر آغازگر۱۹۱/۵ بود. بیشترین و کمترین نوار به ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC66 و UBC77 بود(جدول۱). در بین ارقام و لاینها، دیهیم بیشترین و رشید کمترین نوار را داشتند.الگوی نواربندی آغازگر UBC64 برای ۲۸ رقم و لاین در شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است.پلی‌مورفیسم بدست آمده با این آغازگر در این شکل بخوبی مشخص می باشد.

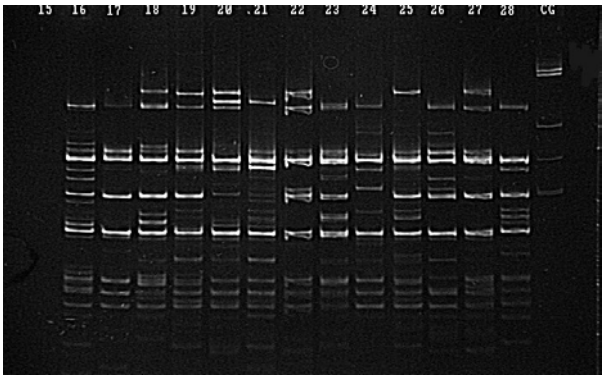
جدول ۱- توالی آغازگرهای تولیدکننده چند شکلی،تعداد کل نوارهای و دامنه‌ی نوارهای تولید شده

آغازگر	توالی	تعداد کل باندها	دامنه‌ی باندهای تولید شده
UBC1	CCTGGGCTTC	۱۶۰	۱۰۰-۷۶۰
UBC5	CCTGGGTTCC	۲۷۳	۱۰۰-۱۳۸۰
UBC13	CCTGGGTGGA	۱۴۲	۱۴۰-۶۳۰
UBC64	GAGGGGGGGA	۲۰۷	۱۳۰-۱۳۰۰
UBC66	GAGGGCGTGA	۲۸۵	۱۰۷-۷۰۰
UBC77	GAGCACCAGG	۱۰۴	۱۱۵-۵۰۰
UBC82	GGGCCCGAGG	۱۳۹	۱۰۲-۶۰۰
UBC84	GGGCGCGAGT	۲۲۲	۱۱۰-۵۸۰

1.Unweighted Pair-Group Method Average



شکل۱- الگوی نواربندی ، قطعات دی- ان- ای تکثیر شده بر اساس آغازگر UBC64، ۱۴ رقم گندم: به ترتیب ازراست به چپ:آزادی،خزر ۱، کرج۱، کرج۲،کرج۳، اروند۱، مغان۱، مغان۲، نوید، چناب، رشید، استار، قفقاز، دیهیم، نشانگر اندازه:CG
(۱۴۴۴، ۱۳۵۷، ۴۵۷، ۳۶۸، ۳۱۵، ۳۱۲ جفت باز)



شکل۲- الگوی نواربندی ، قطعات دی - ان - ای تکثیر شده بر اساس آغازگر UBC64، ۱۴ رقم گندم: به ترتیب از چپ به راست: الموت۱، الموت۲، داراب۱، داراب۲، عدل جدید، عدل قدیم، آذر، ل ۲۷۳، ل۵۸۳، ل۵۱۸ ،ل ۶-۵۲۴، ل۷۱۰۷، ل ۵۸۰۶، ل۶-۷۰۰۷/۲، نشانگر اندازه:CG (۱۴۴۴، ۱۳۵۷، ۴۵۷، ۳۶۸، ۳۱۵، ۳۱۲ جفت باز)

با توجه به درصد بالای خودباروری در گندم و پیچیدگی ژنوم انتظار می رفت که تغییرات در بین ارقام و خصوصا لاینهای مورد استفاده پایین باشد(۶، ۱۷). با این حال ممکن است تنوع ژنتیکی و تغییرات نسبتا بالایی در بین این ارقام ولاینها به جهت اینکه برخی از آنها حاصل تلاقی ارقام خارجی و داخلی می باشد وجود داشته باشد. در هر صورت تجزیه کلاستر و رسم دارنگاره مبتنی بر روش UPGMA دوگروه عمده را نشان داد که هر گروه شامل ۱۴ عضو بود (شکل۳). گروه اول شامل ارقام،

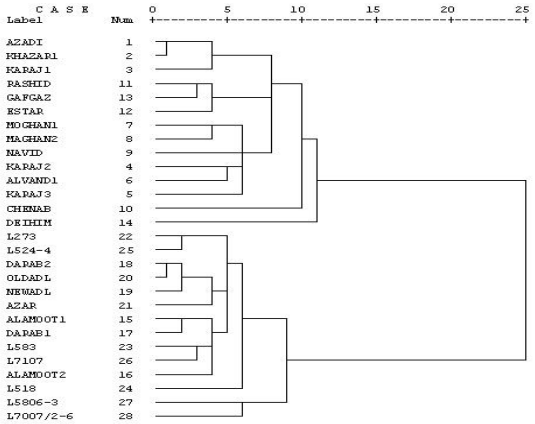
جدول ۲- ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها بر مبنای ضرایب تطابق ساده

GENOTYPE	AZADI	KHAZAR1	KARAJ1	KARAJ2	KARAJ3	ALVAND1	MOGHAN1	MAGHAN2	NAVID	CHENAB	RASHID	ESTAR	GAFGAZ	DEIHIM	ALAMOOT1	ALAMOOT2	DARAB1	DARAB2	NEWADL	OLDADL	AZAR	L273	L583	L518	L524-4	L7107	L5806-3	L7007/2-6
AZADI																												
KHAZAR1	0.91																											
KARAJ1	0.86	0.86																										
KARAJ2	0.80	0.77	0.81																									
KARAJ3	0.75	0.73	0.79	0.80																								
ALVAND1	0.75	0.74	0.74	0.84	0.83																							
MOGHAN1	0.78	0.79	0.79	0.82	0.81	0.84																						
MAGHAN2	0.77	0.76	0.79	0.80	0.78	0.79	0.84																					
NAVID	0.80	0.80	0.79	0.80	0.80	0.82	0.84	0.81																				
CHENAB	0.74	0.74	0.77	0.70	0.76	0.74	0.76	0.75	0.76																			
RASHID	0.77	0.74	0.74	0.76	0.77	0.79	0.81	0.86	0.77	0.74																		
ESTAR	0.80	0.78	0.80	0.73	0.75	0.77	0.76	0.77	0.77	0.76	0.84																	
GAFGAZ	0.79	0.76	0.77	0.76	0.77	0.81	0.77	0.81	0.77	0.74	0.86	0.86																
DEIHIM	0.72	0.70	0.70	0.74	0.74	0.80	0.76	0.71	0.72	0.66	0.76	0.74	0.78															
ALAMOOT1	0.52	0.50	0.49	0.49	0.45	0.46	0.48	0.46	0.49	0.45	0.53	0.50	0.46	0.46														
ALAMOOT2	0.51	0.48	0.44	0.44	0.44	0.45	0.47	0.42	0.45	0.47	0.47	0.46	0.41	0.42	0.83													
DARAB1	0.52	0.49	0.48	0.48	0.45	0.48	0.49	0.45	0.47	0.47	0.54	0.52	0.48	0.45	0.88	0.87												
DARAB2	0.49	0.48	0.44	0.44	0.43	0.44	0.48	0.44	0.46	0.44	0.50	0.48	0.44	0.43	0.82	0.86	0.86											
NEWADL	0.54	0.52	0.47	0.47	0.45	0.47	0.50	0.48	0.49	0.45	0.54	0.52	0.48	0.45	0.79	0.79	0.83	0.88										
OLDADL	0.54	0.49	0.47	0.47	0.44	0.44	0.48	0.47	0.46	0.44	0.52	0.51	0.47	0.45	0.82	0.84	0.86	0.90	0.88									
AZAR	0.57	0.56	0.52	0.53	0.49	0.52	0.55	0.51	0.54	0.49	0.55	0.55	0.49	0.51	0.83	0.86	0.83	0.86	0.84	0.86								
L273	0.56	0.56	0.51	0.52	0.46	0.49	0.54	0.51	0.54	0.50	0.53	0.51	0.47	0.47	0.83	0.83	0.83	0.84	0.81	0.82	0.83							
L583	0.52	0.55	0.48	0.47	0.45	0.47	0.50	0.47	0.50	0.48	0.52	0.51	0.46	0.44	0.83	0.87	0.84	0.86	0.84	0.82	0.86	0.86						
L518	0.54	0.54	0.49	0.48	0.45	0.46	0.48	0.48	0.50	0.45	0.53	0.50	0.45	0.45	0.81	0.81	0.80	0.83	0.81	0.81	0.83	0.80	0.85					
L524-4	0.53	0.53	0.48	0.49	0.44	0.48	0.51	0.47	0.49	0.46	0.51	0.49	0.45	0.45	0.82	0.83	0.83	0.84	0.83	0.84	0.86	0.88	0.83	0.83				
L7107	0.52	0.52	0.45	0.44	0.40	0.42	0.47	0.45	0.49	0.45	0.49	0.49	0.42	0.41	0.86	0.84	0.82	0.86	0.81	0.83	0.83	0.84	0.87	0.85	0.83			
L5806-3	0.55	0.55	0.51	0.50	0.44	0.48	0.48	0.49	0.53	0.49	0.56	0.53	0.49	0.45	0.82	0.73	0.77	0.77	0.77	0.76	0.77	0.79	0.82	0.80	0.79	0.81		
L7007/2-6	0.57	0.56	0.51	0.51	0.47	0.48	0.51	0.51	0.49	0.50	0.56	0.56	0.52	0.48	0.74	0.72	0.74	0.72	0.77	0.75	0.76	0.73	0.76	0.73	0.79	0.71	0.82	

آزادی، خزر۱، کرج۱، رشید، قفقاز، استار، مغان۱، مغان۲، نوید، کرج۲، اروند۱،کرج۳، چناب و دیهیم بودکه اکثر ارقام قرار گرفته در این گروه دارای تشابه بالایی بودند. مثلا آزادی و خزر۱ هر دو نسبتا زودرس، دارای والد مشترک و مقاوم به ریزش هستند(۳). همچنین کرج۱، کرج۲ و رشید هرسه پاییزه ، مقاوم به سرما و ریزش می‌باشند (۳). گروه دوم شامل ارقام و لاینهای : ۲۷۳، ۶-۵۲۴، داراب۲، عدل قدیم، عدل جدید، آذر، الموت۱، داراب۱، ۵۸۳، ۷۱۰۷، الموت۲، ۵۱۸، ۳-۵۸۰۶ و ۶-۷۰۰۷/۲ بود. در این گروه نیز اکثرا ارقام با خصوصیات مشابه دیده می شد مثلا، داراب۱، داراب۲ و عدل جدید زودرس و کیفیت نانوایی مشابه دارند(۳).گراسی و همکاران (۲۰۰۱) نیز با مطالعه ای که بر روی براسیکا انجام دادند بیان کردند که نشانگر RAPD روشی مفید برای تایید تفاوتهای مورفولوژیکی می باشد.همچنین در مطالعه ای که پوجار و همکاران (۱۹۹۹) بر روی گندمهای تتراپلوئید انجام دادند زیرگروههای واریته‌های بومی هیچ ارتباطی با توزیع جغرافیایی‌شان نشان ندادند و ارقامی که در زیرگروههای یکسان قرار گرفتند والد مشترک در شجره‌شان داشتند.تمامی لاینها در گروه دوم قرارگرفتند که ناشی از تنوع ژنتیکی پایین لاینها و شباهت آنها به ارقام قرار گرفته در این گروه می باشد. البته لازم به ذکر است که هر گروه به زیرگروههایی تقسیم می‌شد که ارقام با شباهت بالا در این ریزگروه‌ها قرار داشتند. مثلا ارقام آزادی، خزر۱ و کرج۱ که همگی مقاوم به ریزش، دارای والدین خارجی و کیفیت نانوایی نسبتا خوب بودند(۳) در یک زیرگروه قرار گرفتند. همچنین لاینها تماما در زیرگروه های مشابه قرار می گرفتند که احتمالا دلیل بر شباهت آنها به همدیگر و پایین بودن تنوع ژنتیکی آنهاست.

دامنه ضرایب تشابه از۰/۴۰ تا ۰/۹۱متغیر بود.میانگین ضرایب تشابه کل ۰/۶۴ بود.میانگین ضرایب تشابه ارقام۰/۶۳ بود. میانگین ضرایب تشابه لاینها (۰/۸) بیشتر از ارقام بود(جدول۲). بنابراین گسترش و توسعه‌ی پایه‌ی ژنتیکی لاینهای مورد مطالعه امری حیاتی و اجتناب ناپذیر می‌نماید.

لاین ۷۱۰۷ کمترین تشابه را با ارقام مورد مطالعه داشت (۰/۵۸). بنابراین این لاین با انجام مطالعات بیشتر می تواند در برنامه های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد. بیشترین تشابه بین ارقام آزادی و خزر۱ و کمترین تشابه بین رقم کرج۳ و لاین ۷۱۰۷ بود(جدول۲). بنابراین با توجه به فاصله ژنتیکی، این دو رقم و لاین می‌توانند در برنامه‌های دورگ‌گیری به عنوان والدین جهت ایجاد هیبریدهای برتر و هتروزیس بیشتر استفاده شوند. البته لازم به ذکر است که علاوه بر فاصله‌ی ژنتیکی ، عوامل دیگری مانند قابلیت ترکیب پذیری بهتر والدین برای تولید هیبریدهای برتر ضروری است(۱۹).



شکل۳- دارنگاره(دندروگرام) فاصله ی ژنتیکی ۲۸ رقم و لاین گندم بر مبنای کلیه ی آغازگرها

در نهایت مشاهدات این تحقیق و سایر مطالعات(۵، ۶، ۷، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۲۴) نشان داد که مارکرهای RAPD یک روش سریع و ارزان قیمت برای ارزیابی تنوع ژنتیکی،مارکرهای ویژه ژنوم و روابط خویشاوندی تعداد زیادی نمونه وهمچنین شناسایی والدین جهت تلاقی و تولید هیبریدهای برتر در برنامه های دورگ‌گیری می‌باشد. همچنین با توجه به میانگین ضرایب تشابه لاینهای مورد مطالعه (جدول۲) وجود چنین تنوعی در بین لاینها از جذابیت مطلوبی برخوردار نبوده و باید نسبت به گسترش پایه ی ژنتیکی آنها اقدام شود

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱. جوزانی غ. ، ۱۳۷۸ ، استفاده از تکنیک RAPD-PCR برای تعیین چند شکلی در بین ارقام تجارتی سیب زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه تهران

۲. مقدم م.،س. آ. شوطی محمدی، م. آقایی سربزه، ۱۳۷۳. آشنایی با روش های آماری چند متغیره(ترجمه)، انتشارات پیشتاز علم.
۳. خدابنده ن.۱۳۷۲. غلات، انتشارات دانشگاه تهران.
4. Cao W. , G. Scoles , P. Hucl & R.N. Chibbar .1999.The use of RAPD analysis to classify *Triticum* accessions.Theor.Appl. Genet.98:602-607.
5.Demeke T.,R.P. Adams & R. Chibbar .1992. Potential taxonomic use of RAPD:a case study in *Brassica*,Theor. Appl. Genet. 84:990-994.
6.Devos K.M & M.D. Gale .1992. The use of random amplified polymorphism DNA markers in wheat. Theor. Apple. Genet. 84:567-572.
7.Dwivedi S.L., S. Gurtu, S. Chandra, W. Yuejin & S.N. Nigam.2001. Assessment of genetic diversity among selected groundnut gerplasm.I: RAPD analysis, Plant Breeding 120, 345-349.
8.Fahima T. , G. L. Sun , A. Beharav , T. Krugman , A. Beiles & E. Nevo .1999. RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations,*Triticum aestivum*, in Israel. Theor. Appl. Genet. 98 : 434-447.
9.Ferdinandez Y.S.N., D.J. Somers & B.E. Coulman .2001. Estimating the genetic relationship of hybrid bromgrass using RAPD markers, Plant Breeding 120, 140-153.
10.Fernandez J.A., J. Sanz & N. Jouve.1987. Biometrical variation to determine phylogenetic relationships between Hordeom and other American species of the genus Horewn (Poaceae), Plant Syst. Evol. 157:105-119.
11.Geraci A., I. Divaret , F. M. Raimondo & A. M. Chevre .2001. Genetic relationships between Sicilian wild populations of *Brassia* analysed with RAPD markers. Plant Breeding 120, 193-196.
12.Hallden C., M. Hansen, N.-O. Nilsson & A. Hjerdin .1996. Competition as a source of errors in RAPD analysis, Theor. Appl. Genet. 93:1158-1192.
13.He S., H. Ohm & S. Mackenzie (1992) Detection of DNA sequence polymorphism among wheat varieties. Theor. Appl. Genet. 84:573-578.
14.Jasaka V..1986, Isoenzyme variation in the barley genus Hordeum L.I. Alchol dehydrogenase and superoxide dismutase, Biochem. Physiol. Pflanz,181:301-320.
15.Joshe C.P. & H.T. Nguyen .1993a. Application of the random amplified polymorphic DNA technique for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. Genome 36: 602-609.
16.Joshe C.P & H.T. Nguyen .1993b. RAPD (random amplified polymorphic DNA) analysis based on intervarietal genetic relationships among hexaploid wheats. Plant Sci. 93: 95-103.
17.Koebner R.M.D .1995. Pre-digestion of the DNA template improves the level of polymorphism of random amplified polymorphic DNA in wheat. Genet. Anal.: Biomol. Engin. 12: 63-67.
18.Kresovich S., J.G.K. Williams, J.R. Mcferson , E.J. Routman, & B.A. Schaal.1992. Characterization of genetic diversity identities and relationships of *Brassica oleracea* L. via a RAPD assay, Theor. Appl. Genet. 85:190-196.
19.Liu Z.Q. , Y. Pel & Z.J. Pu .1999.Relationship between hybrid performance and genetic diversity based on RAPD markers in wheat , *Triticum aestivum* L. Plant Breeding 118, 119-123.
20.McClelland M. & J. Welsh .1994. DNA fingerprinting by arbitrar primed PCR. PCR Methods Appl. 4: s59-s65.
21.Noda K. & K.J. Kasha .1978. A proposed barely karyotype revision based on C-band chromosome identification , Crop. Sci. 18:925-930.
22.Powell W., M. Morgante , C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey & A. Rafalski .1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for gerplasm analysis, Molecular Breeding ,2 : 225-238.
23.Pujar S., S. A. Thamhankar, U. S. Rao and V. S. Gupta.1999. Arbitrary Primed PCR based diversity assessment reflects hierachical groupings of Indian tetraploid wheat genotypes, Theor.Appl. Genet. 99:868-876.
24.Quiros C.F, J. Hu, P. This, A.M. Chevre & M. Delseny .1991. Development and chromosomal localization of genome-specific markers by polymerase chain reaction in *Brassica*. Theor. Appl. Genet. 82: 627-632.

25.Ukoskit K. & P.G. Tompson .1997. Autopolyploidy versus Alloploidy and low density RAPD likage maps of sweet potato, Amer. Soc. Hort. Sci. 122(6):822-827.
26.Ukoskit K., P.G. Tompson, and C.E. Watson .1997. Identifying a RAPD marker linked to a gene for root-knot nematode resistance in sweet potato,Amer. Soc. Hort. Sci. 122(6): 818-821.
27.Virk P. S. , B. V. Ford-Lloyd , M.T. Jackson and H. J. Newbury .1995.Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. Heredity 74: 170-179.
28.Williams G.K.J., A.R. Kubelic, K.J. Livak, J.A. Rafalski & S.V. Tingey .1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, Nucleic Acids Research. Vol. 18, No.22, 6531-6535.

Assessment of Genetic Diversity Among Wheat Cultivars by Using RAPD – PCR Thecnique

B. ABDOLLAHI MANDOULAKANI[1], B. E. SAYYED TABATABAEI[2], A. A. SHAHNEJAT BUSHEHRI[3], M. R. GHANNADHA[4] AND M. OMIDI[5]
1, 2, 3, 4, 5, Former Graduate Student, Assistant Professors and Associate Professors, Faculty of Agriculture, University of Tehran
Accepted Jan. 8, 2003

SUMMARY

The RAPD procedure was used to evaluate genetic diversity of 28 Iranian wheat cultivars and advanced breeding lines. Genomic DNA was extracted from leaves by Dellaporta method. Fifty decamer primers were used. Eight of them amplified template DNA properly and showed polymorphism among genotypes. The other primers had no band or were monomorph. The bands showing high reproducibility were used in analysis. UBC66 and UBC77 primers produced the greatest and lowest band, respectively. Rashid and Deyhim cultivares yielded the greatest and lowest band, respectively. Cluster analysis was performed based on band presence (1) and absence (0) using simple matching coefficients by UPGMA method. Similarity coefficient ranged from 0.40 to 0.91 with an average of 0.64. The most similarity was between Azadi and Khazar1. The greatest genetic difference was between 7107 line number and Karaj3. Dendrogram indicated two main groups. According to the results of the current research, it is necessary to extend genetic diversity and germplasm of studied breeding lines. Clearly, such researches are prerequisite for hybridization breeding programs.

Key words: Bread Wheat, RAPD marker, Genetic diversity.