بررسی تنوع ژنتیکی و رابطه جغرافیایی میان ۱۸ جمعیت وحشی *Agropyron desertorum* توسط پروتئین‌های کل

پروین صالحی شانجانی*، علی اشرف جعفری، محسن کلاگری و مهدیه محمد اسماعیلی

تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۳۱

چکیده

علف‌گندمی‌بیابانی (*Agropyron desertorum*) یکی از گرامینه‌های مهم مرتعی چندساله برای ایجاد چراگاه و تولید علوفه خشک است. در این تحقیق الگوی پروتئینی ۱۸۰ ژنوتیپ از ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفت. براساس الگوی SDS-PAGE، تعداد ۴۶ باند در ۳ منطقه اصلی و قسمتهای بین‌منطقه‌ای مشاهده گردید. اگرچه بسیاری از باندها در بسیاری از جمعیت‌ها وجود داشتند ولی میزان تراکم پروتئین برخی باندها در برخی جمعیت‌ها کاملاً متفاوت بود. به‌طوری‌که در ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی پنج الگوی پروتئینی کاملاً متفاوت شناسایی شد. تفاوت این الگوها بسیار دور از انتظار و بیش از تفاوت الگوی پروتئینی بین جمعیت‌های یک گونه بوده و ساختار جغرافیایی خاصی نیز نداشتند. از آنجایی‌که بصورت استاندارد مطالعه الگوی پروتئینی صرف‌نظر از میزان رنگ باندها براساس حضور و عدم حضور باندها انجام می‌شود، بنابراین آنالیزهای این مقاله نیز از این استاندارد تبعیت نمود. براساس حضور و عدم حضور باندها جمعیت‌های همدان و اردبیل، و همدان و بوئین‌زهرا که بیشترین فاصله ژنتیکی را در میان ۱۸ جمعیت مورد مطالعه داشتند برای ایجاد دورگی که از پتانسیل تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار باشد برای معرفی شدند. درحالی‌که براساس الگوی پروتئینی حاصل از میزان رنگ باندها، پیشنهاد می شود از تلاقی دوبدو بین جمعیت‌های پنج فرم پروتئینی برای دورگ‌گیری استفاده شود. این نتایج نشان می‌دهد که در برنامه‌های اصلاحی علف‌گندمی‌بیابانی باید تنوع ژنتیکی ارقام علف‌گندمی‌بیابانی بوسیله استفاده از والدین مختلف افزایش یابد. افزایش اساس ژنتیکی برای اصلاح علف‌گندمی‌بیابانی می‌تواند بوسیله کاربرد سیستماتیکی ژرم‌پلاسم که الگوی پروتئینی متفاوتی داشته و ویژگی‌های کمی بهتری دارند حاصل شود.

واژه‌های کلیدی: علف‌گندمی‌بیابانی، *Agropyron desertorum*، تنوع ژنتیکی، الکتروفورز (SDS-PAGE)

* نویسنده مسئول، تلفن: ۸۵-۴۴۷۸۷۲۷۶-۰۲۱ ، پست‌الکترونیکی: Psalehi@rifr-ac.ir

مقدمه

جنس *Agropyron* Gaertn. متشکل از ۱۰ تا ۱۵ گونه است که به دلیل شباهت بسیار به یکدیگر به‌عنوان کمپلکس علف‌گندمی‌تاجدار شناخته می‌شوند (۶). از میان گونه‌های این جنس علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) از مهمترین گیاهان علوفه‌ای کشور بوده و اهمیت زیادی در تغذیه دام و افزایش فراورده‌های دامی برخوردار است. علف‌گندمی‌بیابانی گیاهی علفی چندساله بوده که سازگاری وسیعی به شرایط آب و هوای متفاوت ایران داشته و در سطح وسیعی از مراتع کشور شامل استانهای شمالی و رشته کوه‌های البرز و زاگرس می‌روید (۱۷). علف‌گندمی‌بیابانی خاص نواحی نسبتاً سرد و یا سردسیر است ولی به علت ذخیره مواد غذایی در ریشه، قادر است در مقابل خشکی و عوامل نامساعد مقاومت نماید. ریشه افشان علف‌گندمی‌بیابانی تا عمق ۲۵۰- ۳۵۰ سانتیمتری در زمین نفوذ کرده و بخوبی می‌تواند در نواحی با بارندگی سالانه ۲۰۰-۵۰۰ میلیمتر به خوبی مستقر گردد. این گیاه

در مواقع بحرانی (گرما و خشکی) به خواب رفته و خود را در مقابل عوامل ناسازگار حفظ می‌نماید. با فرا رسیدن روزهای سرد پاییز و فراهم شدن شرایط محیطی، رشد خود را آغاز می‌کند. بنابراین علف‌گندمی‌بیابانی در بهار و پاییز با تولید علوفه سبز نقش مؤثری در تعلیف دام دارد (۳۳). با توجه به اهمیت علف‌گندمی‌بیابانی، حفاظت ژنتیکی و کاربرد علمی و صحیح آن کمک زیادی به احیاء مراتع و افزایش تولید علوفه کشور می‌نماید.

یکی از مشکلاتی که به‌نژادگران در اصلاح و حفاظت علف‌گندمی‌بیابانی با آن مواجه هستند عدم امکان تمایز آن با سایر گونه‌های جنس .*Agropyron* Gaertn است. تمایز بین گونه‌های مختلف جنس اگروپایرون به دلیل شباهت بسیار و نیز امکان تلاقی بین گونه‌های آن بسیار دشوار است (۱۰). طبق نظر Knowles (۲۱) علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) که یک گونه تتراپلوئید می‌باشد می‌تواند در اثر اتوپلوئیدی *A. cristatum* و یا در اثر آمفی‌پلوئیدی بین *A. cristatum* و برخی گونه‌های خویشاوند دیگر تولید شده باشد. Taylor و McCoy (۴۳) بوسیله کروماتوگرافی و آنالیز کاریوتایپیک، علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) را حاصل آمفی‌پلوئیدی بین *A. imbricatom* و *A. pectiniforme* دانستند. هر دو گونه مذکور از نظر مورفولوژیکی بسیار به یکدیگر و نیز به گونه *A. cristatum* شبیه هستند که در طبقه‌بندی جدید به‌عنوان زیرگونه *A. cristatum* معرفی شده‌اند (۴۴). درحالی‌که طبق نظر Asay و همکاران (۶) علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) در نتیجه دورگ‌گیری بین *A. cristatum* و *A. mangolicum* و مضاعف‌شدگی کروموزومی بعدی حاصل شده است. اگرچه اتفاق نظری در مورد منشأ علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) وجود ندارد ولی آنچه مسلم است علف‌گندمی‌بیابانی می‌تواند حاصل تلاقی گونه‌های مختلفی از جنس .*Agropyron* Gaertn باشد.

مهمترین شرط کاربرد و اصلاح ذخایر گیاهی شناخت ساختار و تنوع ژنتیکی آنهاست. به‌طوری‌که زیربنای هر برنامه اصلاحی از طریق مطالعه پارامترهای ژنتیکی پی‌ریزی می‌گردد (۲۰). وجود تنوع ژنتیکی در گیاهان نه‌تنها برای سازگاری در برابر تغییرات محیطی بلکه برای تولید ارقام جدید اهمیت دارد (۵). گوناگونی ویژگیهای مرفولوژیکی، زراعی و شیمیایی جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی در ایران به خوبی بررسی شده است (۱۳، ۱۷ و ۱۸). موفقیتهای خوبی نیز در مطالعاتی که با استفاده از تکنیکهای مبتنی بر DNA شامل RAPD (۵ و ۴۱)، SSR (۹)، و AFLP (۲۳ و ۲۶) در گونه‌های مختلف *Agropyron* صورت گرفته، بدست آمده است. پژوهشهای فوق حکایت از وجود تنوع و تمایز ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در میان جمعیت‌های *Agropyron* مطالعه شده داشت.

از میان روشهای مختلف مطالعه تنوع ژنتیکی تکنیک الکتروفرز ژل سدیم‌دودسیل‌سولفات- پلی‌اکریل‌آمید (SDS-PAGE) بدلیل ارزانی و عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی و وجود پلی‌مورفیسم، کاربرد بالایی در ارزیابی روابط فنوتیپی در بین ذخایر گیاهی داشته و از آن به طور وسیعی در مطالعات رده‌بندی جنس‌ها و نیز ارزیابی تنوع بین گونه‌ها و درون گونه‌ها استفاده می‌شود. مطالعات بسیاری روی بسیاری از گونه‌های گیاهی ازجمله تیره Poaceae (۱۱)، Cucurbitaceae (۳۵)، تیره Fabaceae (۲۸)، ارقام پنبه (۲۸)، *Pisum Sativum* (۳۲)، *Avena fatua* (۲۷) و ارقام گندم (۲۹) گزارش شده است. این گزارش‌ها کارایی نشانگر پروتئینی را در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گیاهی تأیید نموده و نشان داده که نشانگر پروتئینی به دلیل عدم تأثیرپذیری از شرایط محیطی اطلاعات تاکسونومیکی مفیدی را فراهم می‌نماید. پژوهشگران می‌توانند بوسیله اطلاعات حاصل از نشانگر پروتئینی ژنوتیپ‌های برتر را انتخاب کنند تا از آنها به‌عنوان والدین برای هیبریداسیون و معرفی جمعیت‌های جدید

استفاده شود (۱۵). از آنجایی‌که فشار بر مراتع موجب فرسایش ژنتیکی شده و گرم شدن تدریجی زمین استفاده از انواع اصلاح‌شده گونه‌های مرتعی را ضروری می‌نماید، مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت‌های علف‌گندمی‌بیابانی می‌تواند کمک شایانی به حفاظت، احیاء و توسعه این گونه با ارزش مرتعی نماید. هدف از انجام این تحقیق ۱) مطالعه تنوع و تمایز ژنتیکی موجود بین جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی براساس نشانگر پروتئینی، ۲) بررسی وجود ساختار جغرافیایی در داده‌های ژنتیکی و ۳) معرفی جمعیت‌هایی است که از تلاقی آنها می‌توان به بالاترین میزان هتروزیس رسید. در این پژوهش اطلاعات مفیدی در مورد background ژنتیکی علف‌گندمی‌بیابانی در اختیار قرار خواهد گرفت تا امکان ارائه برخی راهبردهای مؤثر برای حفاظت، اصلاح ژنتیکی و کاربرد پایدار از منابع ژرم‌پلاسم حاصل گردد.

مواد و روشها

بذرهای ۱۸ جمعیت وحشی علف‌گندمی‌بیابانی از بانک ژن منابع طبیعی ایران تهیه شد. مشخصات مختلف جمعیت‌های مورد مطالعه در جدولهای ۱ و ۲ ذکر شده است. در این تحقیق الکتروفورز پروتئینهای کل به روش SDS-PAGE (الکتروفورز ژل سدیم‌دودسیل‌سولفات پلی‌اکریل‌آمید) انجام شد (۲۲). از ۱۸۰ ژنوتیپ متعلق به ۱۸ جمعیت مورد مطالعه (هر جمعیت ۱۰ ژنوتیپ) به میزان یک گرم برگ از هر ژنوتیپ جدا گردید. نمونه‌ها به نسبت ۱ گرم برگ به ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول استخراج (Tris-HCl یک مولار، pH=7.5، Na2EDTA یک مولار و ۲- مرکاپتواتانل ۰/۰۴٪) و به خوبی در هاون سرد همگن شدند. پس از ده دقیقه سایش عصاره وارد لوله آزمایش شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس عصاره‌ها برای صاف کردن به مدت ۱۵ دقیقه با دور xg ۱۳۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند. محلول صاف شده رویی با محلول بافر نمونه (Tris-HCl نیم مولار، pH=6.8، SDS ۰/۲٪ و ۲-مرکاپتواتانل ۰/۵٪ گلیسرول ۱٪ و برموفنل بلو ۰/۰۲٪) به نسبت ۱:۱ مخلوط و وارد میکروتیوپ درب‌دار اپندروف منتقل و در دستگاه بن ماری در درجه حرارت ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه جوشانده شد. نمونه تا زمان مصرف در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. ۳۰ میکرولیتر از هر نمونه بر روی ژل سدیم‌دودسیل‌سولفات پلی‌اکریل‌آمید بارگیری گردید (۲۰). ژلها پس از انجام الکتروفورز به مدت ۳۰ دقیقه داخل محلول تثبیت (شامل ۲۰ گرم تری کلرو استیک اسید در ۱۰۰ میلی لیتر آب) قرار گرفت. سپس به مدت ۴ ساعت در محلول رنگ‌آمیزی (شامل کماسی بلو ۰/۲۵٪، متانل ۲۵٪ و اسید اسیتیک ۱۰٪) رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت ژلها برای امکان وضوح باندهای پروتئین به مدت ۱۲ ساعت در دو مرحله در محلول رنگبر (شامل متانل ۲۵٪ و اسید استیک ۱۰٪) قرار گرفت. دستگاه مولد برق با ولتاژ ۱۸۰ ولت با شدت جریان ۴۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. زمان جداسازی پروتئینها حدود ۵ ساعت و میزان حرکت عصاره در ژل ۱۰ سانتیمتر بود. اطلاعات حاصل از پروتیینهای کل به صورت باندهای مجزای پروتئینی برای بدرهای مختلف روی صفحه ژل پلی اکریل آمید نمایان گردید. برای تعیین وزن مولکولی باندهای پروتئینی از لدر با وزن‌های مولکولی۲۹۰۰۰، ۴۵۰۰۰، ۱۳۲۰۰۰ و ۲۷۲۰۰۰ دالتون استفاده گردید.

آنالیز داده‌ها: جایگاه هر یک از این باندها بر روی ژل از طریق حرکت نسبی آنها مشخص و به صورت اعداد کمی بیان گردید. براساس وجود (عدد یک) یا عدم وجود هر باند (عدد صفر) در فواصل مختلف، نسبت به تشکیل ماتریس داده‌ها اقدام گردید. فراوانی باندها، نسبت تعداد باندهای پلی‌موف نسبت به تعداد کل باندها و پلی‌مورفیسم باندها با نرم‌افزار NTSYS-pc (۳۶) محاسبه شد. تسهیم گوناگونی ژنتیکی درون و میان گروهی توسط آزمون واریانس مولکولی (AMOVA ؛ ۱۲) و برنامه نرم‌افزاری ARLEQUIN 1.1 (۳۹) تعیین شد. اهمیت هر جزء

واریانس با آزمون permutation (۱۲) مطالعه شد. فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها براساس معادله نی (۳۱) برآورد شد. از آزمون UPGMA و NJ با نرم‌افزار NTSYS-pc (۳۶) و از روش PCoA تجزیه به مختصات اصلی (۱۶) برای تفسیر ماتریکس فاصله ژنتیکی استفاده شد. برای بررسی رابطه بین عوامل ژنتیکی و اکولوژیکی از نرم‌افزار SPSS و معادله کارل-پیرسون استفاده گردید. برای بررسی همبستگی فاصله‌های جغرافیایی با صفات ژنتیکی از تست مانتل (۲۵) استفاده شد.

جدول ۱- برخی از ویژگیهای ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی

ردیف	منشأ ژنوتیپ	کد ژنوتیپ در بانک ژن منابع طبیعی	علامت اختصاری به فارسی	علامت اختصاری به انگلیسی
۱	نامشخص	۲۱۳	بانک ژن۱	Gba
۲	نامشخص	۳۴۷۷	بانک ژن۲	GBb
۳	نامشخص	۳۴۱	بانک ژن۳	GBc
۴	نامشخص	۷۷۴۸	بانک ژن۴	GBd
۵	دماوند	۱۳۶۹	دماوند ۱	DamavandA
۶	دماوند	۳۹۶۵	دماوند ۲	DamavandB
۷	زنجان	۳۹۵۱	زنجان	Zanjan
۸	بجنورد	۳۰۱۴	بجنورد	Bojnord
۹	کرج	۳۹۷۴	کرج	Karaj
۱۰	اردبیل	۴۰۰	اردبیل	Ardebil
۱۱	بویین زهرا	۷۴۷	بویین زهرا	Bouinzahra
۱۲	قروه	۶۳۱	قروه	Ghorveh
۱۳	فریدن	۴۰۳۶	فریدن	Farydan
۱۴	همدان	۷۴۲	همدان	Hamedan
۱۵	اسدآباد	۲۸۷	اسدآباد	Asadabad
۱۶	بافت	۷۷۹۴	بافت ۱	BaftA
۱۷	بافت	۷۸۵۲	بافت ۲	BaftB
۱۸	شهرکرد	۴۰۵۱	شهرکرد	Shahrekord

جدول ۲- برخی از ویژگیهای منطقه‌ای و آب و هوایی جمعیت‌های مورد مطالعه

	میانگین دمای کمینه **	میانگین دمای بیشینه**	٪ رطوبت نسبی	میانگین بارندگی ماهانه *	طول جغرافیایی	عرض جغرافیای	ارتفاع از سطح دریا (متر)
دماوند	۱/۶	۸/۵	۵۱/۳	۳۱۹/۶	۵۲° ۲۴'	۳۵° ۴۳'	۲۹۸۵
زنجان	۴/۴	۱۸/۴	۵۴/۴	۲۶۷/۳	۴۸° ۲۹'	۳۶° ۴۱'	۱۶۶۳
بجنورد	۷/۲	۱۹/۹	۶۰	۲۵۹/۸	۵۷° ۱۹'	۳۷° ۲۸'	۱۰۹۱
کرج	۹/۳	۲۱/۶	۴۵/۷	۲۳۶/۵	۵۰° ۵۴'	۳۵° ۵۵'	۱۳۱۲
اردبیل	۲/۹۸	۱۶	۷۴	۲۷۳/۱	۴۸° ۱۷'	۳۵° ۴۳'	۱۳۳۲
بویین زهرا	۷/۳۴	۲۱/۸	۵۲/۴	۳۰۴/۶	۵۰° ۰۰'	۱۳° ۱۵'	۱۲۷۸
قروه	۵/۸	۱۷/۸	۴۳/۹	۳۱۵/۸	۴۷° ۴۸'	۳۶° ۱۵'	۱۹۰۶
فریدن	۳/۷	۱۸/۲	۴۲/۸	۲۹۲/۷	۵۰° ۲۹'	۳۵° ۱۰'	۲۳۰۰
همدان	۴/۲	۱۳/۳	۵۲/۵	۲۶۴	۴۸° ۳۲'	۳۳° ۰۱'	۱۷۴۹
اسدآباد	۸/۳	۱۹/۷	۱۶/۱	۳۰۵/۵	۴۸° ۴۳'	۳۵° ۱۲'	۱۶۷۹
بافت	۸/۸	۲۱/۴	۴۰/۵	۲۴۹/۸	۵۶° ۳۵'	۳۹° ۱۴'	۲۲۸۰
شهرکرد	۳/۲	۲۰/۲	۴۹/۹	۳۱۵/۳	۵۰° ۵۱'	۳۲° ۲۰'	۲۰۶۱

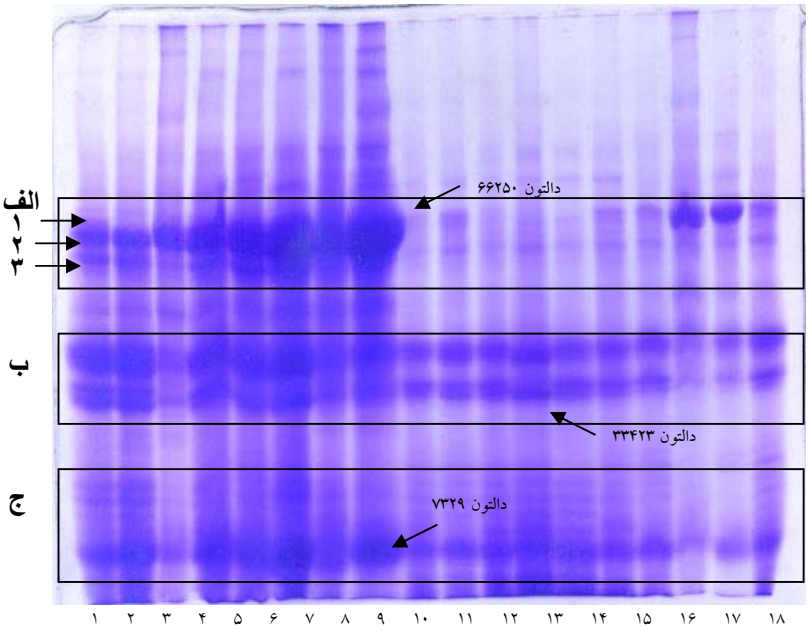
*، میزان بارندگی بر حسب میلیمتر و **، دما برحسب درجه سانتیگراد (طی سالهای ۱۹۹۸-۲۰۰۷)

جدول ۳- برخی از ویژگیهای ژنتیکی در ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی مورد مطالعه براساس داده‌های پروتئین

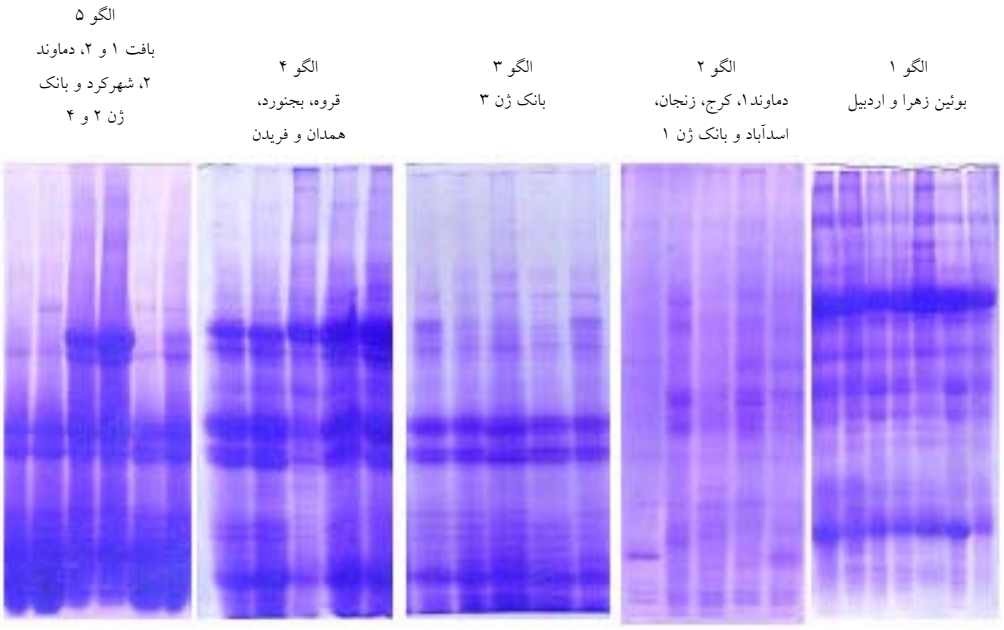
منشأ	بانک ژن۱	بانک ژن۲	بانک ژن۳	بانک ژن۴	دماوند ۱	دماوند ۲	زنجان	بجنورد	کرج	اردبیل	بوین زهرا	قروه	فریدن	همدان	اسدآباد	بافت ۱	بافت ۲	شهر کرد
میانگین تعداد باند	۳۱	۲۷	۲۳	۲۵	۲۷	۲۷	۱۵	۲۷	۳۱	۳۱	۳۱	۳۱	۲۹	۱۴	۲۶	۲۷	۳۲	۱۸
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۵٪	۳۱	۲۷	۲۳	۲۵	۲۷	۲۷	۱۵	۲۷	۳۱	۳۱	۳۱	۳۱	۲۹	۱۴	۲۶	۲۷	۳۲	۱۸
تعداد باند نادر	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۲	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۲۵٪	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۰	۰	۲	۵	۳	۳	۲	۱	۰	۲	۳	۱
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۵۰٪	۴	۲	۲	۲	۴	۲	۱	۱	۴	۶	۴	۴	۵	۲	۱	۵	۷	۲
درصد پلی‌مورفیسم	۶۷/۳۹	۵۸/۷۰	۵۰	۵۴/۳۵	۵۸/۷۰	۵۸/۷۰	۳۲/۶۱	۵۸/۷۰	۶۳/۰۴	۴۱/۳۰	۶۷/۳۹	۶۰/۸۷	۵۲/۱۷	۳۰/۴۳	۴۷/۸۳	۵۸/۷۰	۶۹/۵۷	۳۹/۱۳
هتروزیگوسیتی	۰/۲۰۷	۰/۱۷۴	۰/۱۸۲	۰/۱۳۷	۰/۲۰۶	۰/۲۱۳	۰/۱۰۰	۰/۲۰۹	۰/۲۲۲	۰/۱۳۴	۰/۲۷۸	۰/۲۳۲	۰/۱۷۳	۰/۰۸۸	۰/۱۴۹	۰/۱۸۰	۰/۱۷۹	۰/۱۱۹
اشتباه استاندارد	۰/۰۲۷	۰/۰۲۸	۰/۰۳۱	۰/۰۲۴	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵	۰/۰۳۰	۰/۰۳۱	۰/۰۲۸	۰/۰۳۰	۰/۰۳۱	۰/۰۲۸	۰/۰۲۴	۰/۰۲۷	۰/۰۲۶	۰/۰۲۳	۰/۰۲۴

جدول ۴- ماتریس برآورد ناریب فاصله ژنتیکی بین ۱۸جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی براساس داده‌های پروتئینی

	بانک ژن۱	بانک ژن۲	بانک ژن۳	بانک ژن۴	دماوند ۱	دواوند ۲	زنجان	بجنورد	کرج	اردبیل	بوین زهرا	قروه	فریدن	همدان	اسدآباد	بافت ۱	بافت ۲	شهر کرد
بانک ژن۱	۰																	
بانک ژن۲	۰/۰۴۷	۰																
بانک ژن۳	۰/۱۱۴	۰/۱۲۳	۰															
بانک ژن۴	۰/۰۷۰	۰/۰۶۱	۰/۱۸۰	۰														
دماوند ۱	۰/۰۳۷	۰/۰۹۸	۰/۱۷۸	۰/۱۰۷	۰													
دماوند ۲	۰/۰۷۲	۰/۰۶۸	۰/۰۹۲	۰/۱۴۴	۰/۱۱۸	۰												
زنجان	۰/۰۷۸	۰/۰۶۰	۰/۲۱۳	۰/۰۸۸	۰/۰۹۷	۰/۱۵۴	۰											
بجنورد	۰/۰۹۱	۰/۰۸۸	۰/۰۹۲	۰/۱۲۸	۰/۱۳۲	۰/۰۹۲	۰/۱۴۰	۰										
کرج	۰/۰۶۹	۰/۰۹۶	۰/۱۳۹	۰/۱۷۷	۰/۱۲۲	۰/۰۶۶	۰/۱۷۴	/۰۹۸	۰									
اردبیل	۰/۲۲۰	۰/۲۶۵	۰/۲۸۹	۰/۴۰۱	۰/۳۰۷	۰/۲۱۴	۰/۳۶۴	۰/۲۴۷	۰/۱۴۳	۰								
بوین	۰/۲۰۰	۰/۰۲۵۹	۰/۲۵۱	۰/۳۴۹	۰/۲۴۵	۰/۱۵۰	۰/۳۹۲	۰/۱۹۲	۰/۱۱۷	۰/۲۰۰	۰							
قروه	۰/۱۵۵	۰/۱۷۵	۰/۰۸۲	۰/۲۵۱	۰/۱۹۷	۰/۰۸۸	۰/۲۷۶	۰/۰۹۷	۰/۱۲۱	۰/۲۲۹	۰/۱۳۸	۰						
فریدن	۰/۱۰۲	۰/۱۲۳	۰/۱۰۰	۰/۱۷۶	۰/۱۶۱	۰/۱۳۱	۰/۱۸۸	۰/۰۸۶	۰/۰۸۱	۰/۱۸۵	۰/۲۰۵	۰/۱۴۹	۰					
همدان	۰/۱۰۲	۰/۰۸۱	۰/۱۹۱	۰/۰۲۳	۰/۱۴۷	۰/۱۷۳	۰/۱۰۹	۰/۱۳۶	۰/۲۲۰	۰/۴۶۲	۰/۴۱۱	۰/۲۹۴	۰/۱۸۹	۰				
اسدآباد	۰/۰۹۴	۰/۰۷۱	۰/۱۵۱	۰/۱۰۵	۰/۱۴۲	۰/۰۷۲	۰/۱۴۱	۰/۱۱۵	۰/۱۲۴	۰/۲۸۵	۰/۲۲۲	۰/۱۲۷	۰/۱۸۲	۰/۱۳۹	۰			
بافت ۱	۰/۰۶۸	۰/۰۷۶	۰/۱۳۵	۰/۰۷۶	۰/۰۷۲	۰/۱۳۰	۰/۰۷۴	۰/۰۹۱	۰/۱۳۳	۰/۳۳۸	۰/۲۶۳	۰/۱۸۴	۰/۱۲۴	۰/۰۹۵	۰/۱۲۵	۰		
بافت ۲	۰/۰۶۳	۰/۰۷۰	۰/۱۵۱	۰/۰۵۲	۰/۰۹۱	۰/۱۲۴	۰/۰۸۷	۰/۱۱۰	۰/۱۳۲	۰/۳۲۰	۰/۲۷۶	۰/۲۰۸	۰/۱۱۲	۰/۰۶۲	۰/۱۲۲	۰/۰۳۰	۰	
شهرکرد	۰/۰۵۹	۰/۰۶۲	۰/۱۷۲	۰/۰۳۷	۰/۰۹۴	۰/۱۲۹	۰/۰۸۹	۰/۱۲۶	۰/۱۶۲	۰/۳۶۰	۰/۳۴۰	۰/۲۵۵	۰/۱۵۷	۰/۰۴۱	۰/۱۱۷	۰/۰۷۸	۰/۰۵۱	۰



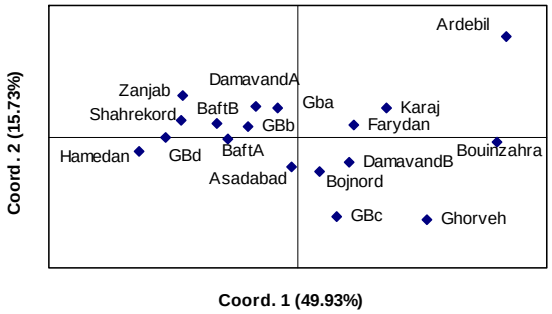
شکل ۱- نمونه‌ای از تصویر الکتروفورز پروتئینهای کل استخراج شده در جمعیت‌های مورد مطالعه علف‌گندمی‌بیابانی (نمونه‌های ۱، ۲ و ۴-۸ مربوط به جمعیت قروه؛ نمونه‌های ۹-۱۵ و ۱۷-۱۸ مربوط به جمعیت بانک ژن ۳ و نمونه‌های ۳ و ۱۶ نمونه‌های مقیاس بودند).



شکل ۲- تصویر الکتروفورز پروتئینهای کل استخراج شده در نمونه‌های مورد مطالعه علف‌گندمی‌بیابانی

نتایج

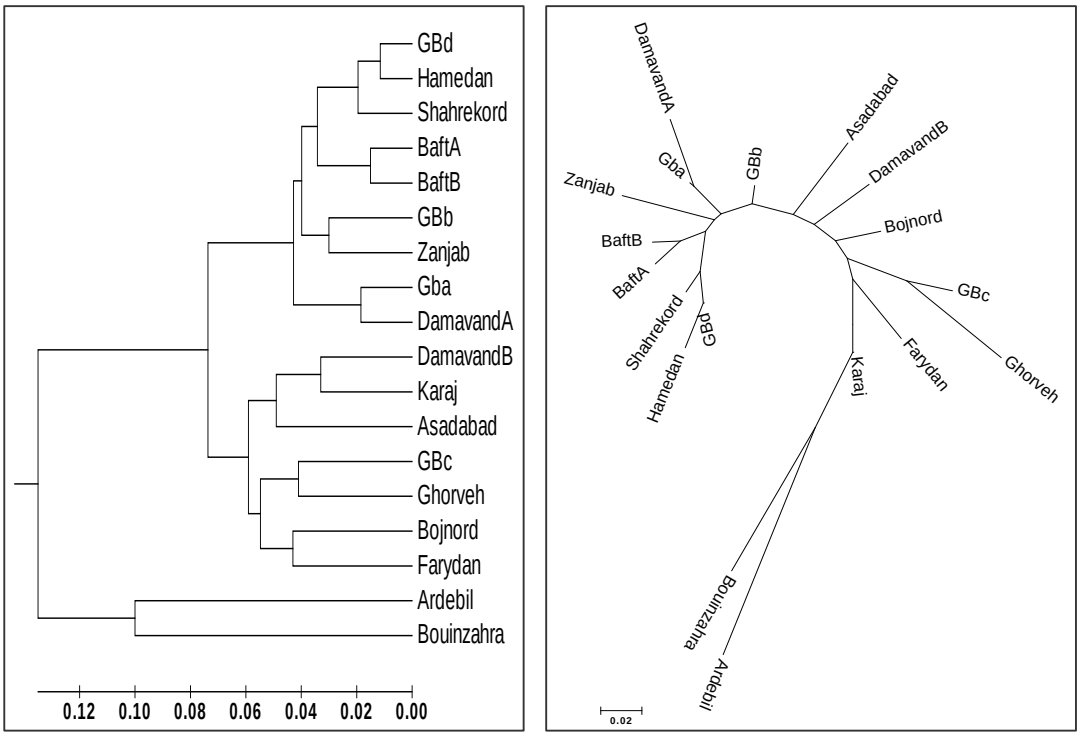
در این تحقیق الگوی پروتئینی ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۴۶ باند در ۱۸ جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی مورد مطالعه مشاهده گردید که در ۳ منطقه اصلی و باندهای بین منطقه‌ای گروه‌بندی شدند. اگرچه بسیاری از باندها در بسیاری از جمعیت‌ها وجود داشتند ولی میزان پروتئین برخی باندها در برخی جمعیت‌ها کاملاً متفاوت بود (شکل ۱). برای مثال همانگونه که در شکل یک مشاهده می‌شود منطقه الف ژل دارای سه باند شاخص است که در نمونه‌های قروه باندهای شماره دو و سه بسیار پررنگ بوده، درحالی‌که در نمونه‌های بانک‌ژن ۳ باندهای شماره یک و دو پر رنگ می‌باشد. الگوی پروتئینی ۱۸ جمعیت تفاوتهای بسیار زیادی از نظر میزان و تراکم پروتئین در برخی باندها نشان داد، به‌طوری‌که توانستیم ۵ الگوی پروتئینی کاملاً متفاوت تشخیص دهیم (شکل ۲). الگو ۱: باندهای منطقه الف بسیار پررنگ و باندهای منطقه ب کم رنگ است (در جمعیت‌های بوئین‌زهرا و اردبیل مشاهده شد)؛ الگو ۲: کلیه باندهای سه منطقه کم رنگ است، در حالی‌که باندهای بین منطقه‌ای رنگ مشابهی با نمونه‌های سایر الگوها دارند (در جمعیت‌های دماوند۱، کرج، زنجان، اسدآباد و بانک ژن ۱ مشاهده شد)؛ الگو ۳: باندهای منطقه الف کم رنگ بوده، در حالی‌که منطقه ب دارای چهار باند بسیار پررنگ است (فقط در جمعیت بانک ژن ۳ مشاهده شد)؛ الگو ۴: منطقه الف دارای دو باند بسیار پررنگ و منطقه ب دارای چهار باند بسیار پررنگ است (در جمعیت‌های قروه، بجنورد، همدان و فریدن مشاهده شد)؛ الگو ۵: منطقه ب دارای دو باند بسیار پررنگ بوده و باندهای منطقه الف در برخی نمونه‌ها پر رنگ و در برخی نمونه‌ها کم رنگ است (در جمعیت‌های بافت ۱ و ۲، دماوند ۲، شهرکرد و بانک ژن ۲ و ۴ مشاهده شد). تفاوت این الگوها بسیار دور از انتظار و بیش از تفاوت الگوی پروتئینی بین جمعیت‌های یک گونه بوده و ساختار جغرافیایی خاصی نیز ندارند. از آنجایی‌که بصورت استاندارد مطالعه الگوی پروتئینی صرف‌نظر از میزان رنگ باندها براساس حضور و عدم حضور باندها انجام می‌شود، بنابراین آنالیزهای این مقاله نیز از این استاندارد تبعیت نمود. بر این اساس، مقایسه تعداد باند در میان جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی نشان می‌دهد که جمعیت‌ها دارای تعداد بسیار متفاوتی باند از ۱۴ باند (در جمعیت همدان) تا ۳۲ باند (در جمعیت بافت۲) می‌باشند (جدول ۳). در جمعیت‌های زنجان و قروه یک باند نادر و در جمعیت اردبیل دو باند نادر مشاهده شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد پلی‌مورفیسم باندها مربوط به جمعیت بافت ۲ (۶۹/۵۷٪) و کمترین درصد پلی‌مورفیسم باندها مربوط به همدان (۳۰/۴۳٪)، با میانگین ۵۳/۸۶٪ می‌باشد. بیشترین و کمترین نسبت تعداد باندهای پلی‌مورف نسبت به کل باندها در بوئین‌زهرا (۰/۲۷۸) و همدان (۰/۰۸۸) مشاهده شد.



شکل۳ - نمودار رسته‌بندی ۱۸جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی مورد مطالعه براساس فاصله ژنتیکی با استفاده از دو مؤلفه اصلی

برای تشریح الگوی تمایز، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها براساس برآورد unbiased فاصله ژنتیکی Nei در بذرهای جمعیت‌های مناطق مختلف محاسبه شد (جدول ۴). مقدار فاصله ژنتیکی از ۰/۰۲۳ (بین جمعیت‌های بانک ژن ۴ و همدان) تا ۰/۴۶۲ (بین جمعیت‌های همدان و اردبیل) با میانگین ۰/۱۵۱ متغیر بود. از فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها برای آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCoA) استفاده شد.

با توجه به اینکه حدود ۷۷/۴۴ درصد گوناگونی در میان سه مؤلفه اصلی قرار دارد، بنابراین این سه مؤلفه به‌عنوان مؤلفه‌های اصلی در نظر گرفته می‌شوند. جمعیت‌های مختلف فاصله ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای از یکدیگر داشتند. به‌طوری‌که توسط مؤلفه اصلی اول که ۴۹/۹۳ درصد از گوناگونی کل را به خود اختصاص می‌دهد، جمعیت‌های اردبیل، بوئین‌زهرا، فریدن، کرج، دماوند ۲، بانک ژن ۳ و قروه را از باقی جمعیت‌ها جدا کردند. مؤلفه اصلی دوم ۱۵/۷۰ درصد از گوناگونی کل را به خود اختصاص داد (شکل ۳). برای تشریح الگوی تمایز فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها از روش UPGMA استفاده شد. در دندروگرام حاصل، کلیه جمعیت‌های مورد بررسی به ۲ خوشه عمده تقسیم شدند (شکل سمت چپ ۴)، که جمعیت‌های اردبیل و بوئین‌زهرا در گروه جداگانه‌ای نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار داشتند. این نتایج بوسیله دندروگرام NJ نیز تأیید شد (شکل سمت راست ۴). براساس دندروگرام NJ و پلات PCoA ساختار جغرافیایی خاصی در بین جمعیت‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. به‌طوری‌که اردبیل و بوئین زهرا که فاصله جغرافیایی قابل ملاحظه‌ای با هم داشتند در یک گروه قرار گرفتند و سایر جمعیت‌ها که از مناطق جغرافیایی کاملاً متفاوتی بودند نیز در یک گروه قرار گرفتند. در همین ارتباط ضرایب همبستگی جفت ماتریس‌های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت‌های علف‌گندمی‌بیابانی با استفاده از آزمون مانتل محاسبه شد. همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی مناطق مختلف و جغرافیایی بسیار کم بود که از لحاظ آماری نیز معنی‌دار نبود ($R=۰/۰۲$ ، $p=۰/۰۹$) (شکل ۵). پس در نتیجه‌گیری کلی مشاهده می‌شود که رابطه جغرافیایی با ویژگیهای ژنتیکی مناطق مختلف به وسیلهٔ آزمون مانتل ثابت نشد.



شکل ۴- دندروگرام ۱۸جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی حاصل از مقادیر داده‌های فاصله ژنتیکی با روش NJ (شکل سمت راست) و UPGMA (شکل سمت چپ).

جدول ۵- آنالیز واریانس مولکولی داده‌های پروتئینی ۱۸جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی

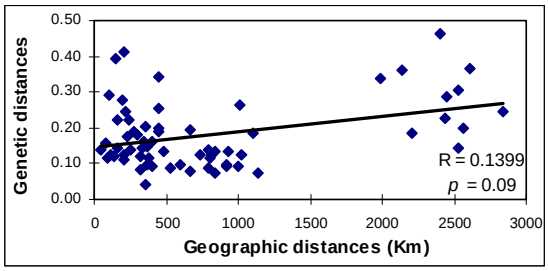
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درصد فراوانی	احتمال
بین جمعیت‌ها	۱۷	۴۳۷/۹۳۹	۲۵/۷۶۱	۳۰	
درون جمعیت‌ها	۱۹۲	۷۹۶/۹۰۰	۴/۹۱۹	۷۰	۰/۰۱۰

جدول ۶- همبستگی بین صفات جغرافیایی و صفات ژنتیکی ۱۸جمعیت علف‌گندمی‌بیابانی

	ارتفاع از سطح دریا	میانگین باندگی ماهانه	درصد رطوبت نسبی	میانگین دمای بیشینه	میانگین دمای کمینه
میانگین تعداد باند	-۰/۱۱۶	۰/۰۷۳	-۰/۰۰۲	۰/۲۱۱	۰/۳۲۴
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۵٪	-۰/۱۱۶	۰/۰۷۳	-۰/۰۰۲	۰/۲۱۱	۰/۳۲۴
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۲۵٪	-۰/۱۴۲	۰/۰۲۲	۰/۴۴۷	۰/۰۲۹	۰/۰۶۲
میانگین تعداد باند با فراوانی ≤ ۵۰٪	۰/۲۴۲	-۰/۰۲۶	۰/۲۸۹	-۰/۰۹۰	۰/۰۸۲
هتروزیگوسیتی	-۰/۱۱۱	۰/۱۳۲	-۰/۰۵۴	۰/۲۶۴	۰/۵۲۴

نتیجه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) (جدول ۵) نیز سطح نسبتاً بالایی از تمایز ژنتیکی را در درون جمعیت‌ها (۹۳٪) نشان داد. به‌طوری‌که فقط ۷٪ از گوناگونی میان جمعیت‌های مختلف قرار داشت.

تجزیه و تحلیل رابطه پیرسون نشان داد که بین چهار شاخص پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف و عوامل اقلیمی رابطه‌ای وجود نداشت. بعلاوه اینکه هیچ رابطه‌ای بین ارتفاع از سطح دریا و پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت‌های علف‌گندمی‌بیابانی مورد بررسی مشاهده نگردید (جدول ۶).



شکل ۵- لگاریتم ضریب همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی پروتئینهای کل جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی با فاصله جغرافیایی

بحث

در این پژوهش گوناگونی ژنتیکی جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی به‌عنوان ضرورتی اجتناب‌ناپذیر برای برنامه‌های اصلاحی مطالعه گردید. نتایج حکایت از وجود تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در بین جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی داشت. براساس یافته‌های Gardiner و Forde (۱۴) اختلاف موجود در فراوانی باندها در افراد و به تبع آن در جمعیت‌های مختلف ناشی از تفاوت در تعداد ژنهای کدکننده پروتئینهای کل است. اگرچه تحقیقی در مورد بررسی تنوع جمعیت‌های ایرانی علف‌گندمی‌بیابانی بوسیله نشانگر پروتئینی انجام نشده ولی پژوهشهای قبلی که براساس ویژگیهای مختلف مورفولوژیکی، فنولوژیکی و زیستی (۱۸) و نشانگر RAPD (۴۱) در جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی صورت گرفته حکایت از تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های وحشی علف‌گندمی‌بیابانی ایران دارد. چنین تنوع بالایی در ویژگیهای مختلف این گیاه احتمالاً به علت هتروزیگوتی ناشی از ویژگی دگرگشنی گیاه علف‌گندمی‌بیابانی می‌باشد (۳۷). این موضوع نشان می‌دهد که اصلاح علف‌گندمی‌بیابانی بوسیله انتخاب ساده والدین امکان‌پذیر بوده، بنابراین در برنامه‌های اصلاحی علف‌گندمی‌بیابانی می‌توان تنوع ژنتیکی ارقام علف‌گندمی‌بیابانی را بوسیله استفاده از والدین مختلف افزایش داد. افزایش تنوع ژنتیکی برای اصلاح علف‌گندمی‌بیابانی می‌تواند بوسیله کاربرد سیستماتیکی

ژرم‌پلاسم که الگوی پروتئینی متفاوتی داشته و ویژگیهای کمی بهتری دارند حاصل شود.

نتایج حاصل از تسهیم گوناگونی ژنتیکی درون و میان جمعیتی توسط آزمون واریانس مولکولی AMOVA که براساس حضور و عدم حضور باندها بدست آمد، سطح نسبتاً بالایی از گوناگونی ژنتیکی را در درون جمعیت‌ها (۹۳٪) برآورد نمود، به‌طوری‌که فقط ۷٪ گوناگونی کل در بین جمعیت‌ها قرار داشت. وجود تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالا که ناشی از ماهیت دگرگشنی در علف‌گندمی‌بیابانی‌می‌باشد با نتایج حاصل از مطالعه جمعیت‌های مختلف چندین گونه از اگروپایون بوسیله نشانگر AFLP (۲۶) مطابقت دارد. بدین ترتیب براساس حضور و عدم حضور باندها، اختصاص الگوی پروتئینی خاصی به هر یک از جمعیت‌ها و یا برخی جمعیت‌ها امکان‌پذیر نگردید. درحالی‌که بوسیله مطالعه کیفی و براساس تراکم رنگ باندها جمعیت‌های علف‌گندمی‌بیابانی به گونه بسیار آشکاری الگوی متفاوتی را نشان دادند. براساس تراکم رنگ باندها پنج الگوی کاملاً مشخص شناسایی شد که می‌توان به وسیله تلاقی بین آنها به هتروزیس قابل ملاحظه‌ای رسید. تفسیر وجود چنین تفاوتی می‌تواند ناشی از ماهیت پیدایش علف‌گندمی‌بیابانی در هر جمعیت خاص باشد. به‌طوری‌که طبق مطالعات موجود، علف‌گندمی‌بیابانی (*A. desertorum*) می‌تواند ناشی از اتوپلوئیدی *A. cristatum* و یا آمفی‌پلوئیدی *A. cristatum* با سایر گونه‌های نزدیک بوجود آمده باشد (۶، ۱۰، ۲۱، ۴۳ و ۴۴). طبق نتایج حاصل از این پژوهش و با توجه به مشاهده پنج فرم مختلف پروتئینی می‌توان اظهار نمود که منشأ پیدایش هر یک از جمعیت‌های مورد مطالعه می‌تواند متفاوت باشد. البته اظهارنظر دقیق‌تر نیازمند مطالعه همه جانبه بوسیله نشانگرهای بیشتری است.

شناسایی جمعیت‌ها و اختصاص الگوی پروتئینی خاصی به ارقام مختلف گیاهی موضوعی است که براساس نوع گونه نتایج ضد و نقیضی در مورد آن منتشر شده است. الگوی پروتئینی بسیاری از گیاهان تاکنون با اهدافی مثل مطالعه تنوع ژنتیکی و شناسایی ارقام زراعی مطالعه شده است (۸، ۱۰، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰ و ۳۲) که عموماً حکایت از کاربرد بالای نشانگر پروتئین در شناسایی گونه‌ها و ارقام مختلف یک گونه دارد. ولی نتایج بسیاری نیز وجود دارد که حکایت از عدم جداسازی ارقام مختلف توسط الگوهای پروتئینی است (۳، ۴، ۱۹، ۲۴ و ۴۰). از آنجایی‌که جمعیت‌های مورد مطالعه اختلاف قابل ملاحظه‌ای از نظر الگوی پروتئینی داشتند، بنابراین پیدا کردن ارتباطی بین منشأ جمعیت‌ها و الگوی گروه‌بندی بسیار دشوار بود. به‌طوری‌که ساختار جغرافیایی در ویژگیهای باندهای پروتئین‌های کل علف‌گندمی‌بیابانی مناطق مختلف به وسیله آزمون مانتل مشاهده نگردید و ضریب همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی از نظر آماری معنی‌دار نگردید (p=۰/۰۹ ، R=۰/۱۳۹۹). البته عدم وجود ارتباط بین تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی در گیاهان مختلفی گزارش شده است (۴، ۱۹، ۲۴ و ۴۰). با توجه به این واقعیت که در بسیاری از گیاهان، گوناگونی پروتئینی ارتباطی با توزیع جغرافیایی و عوامل اکولوژیکی نشان نمی‌دهد، این نشانگر می‌تواند ابزار مفیدی برای شناسایی جمعیت‌هایی که دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند باشد تا از آنها در برنامه‌های حفاظت و اصلاح استفاده شود. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که به‌رغم برداشت بی‌رویه از مراتع، جمعیت‌های مختلف علف‌گندمی‌بیابانی از تنوع قابل ملاحظه‌ای برخوردارند که باید در هر دو برنامه حفاظتی *in situ* و *ex situ*، حفاظت از جمعیت‌های وحشی علف‌گندمی‌بیابانی مورد توجه قرار گیرد. از آنجایی‌که وجود تنوع ژنتیکی یکی از شرایط ضروری برای موفقیت برنامه‌های اصلاحی است، بنابراین می‌توان از جمعیت‌هایی که از تنوع و تمایز ژنتیکی بالایی برخوردار هستند در دورگ‌گیری با ارقام زراعی استفاده کرد تا از خطر دپرسشن ناشی از خویش‌آمیزی جلوگیری بعمل آید. البته وجود گوناگونی

بالا نیز از شروط مهم دیگر کارایی چنین نشانگری است، به طوری‌که Ghafoor و همکارانش (۱۵) با مطالعه الگوهای پروتئینی جمعیت‌های مختلف *Vigna mungo*، نه‌تنها هیچ ارتباطی بین تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی جمعیت‌های مورد مطالعه پیدا نکردند، بلکه تنوع درون جمعیتی بسیار پایینی نیز درون جمعیت‌ها ثبت نمودند. براساس این مشاهدات آنها الگوی پروتئینی را فقط نشانگر مناسبی برای مطالعه میان گونه‌ای پیشنهاد نمودند. درحالی که با توجه به تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای که در جمعیت‌های مورد مطالعه علف‌گندمی‌بیابانی مشاهده شد، می‌توان براساس نتایج پژوهش حاضر متمایزترین جمعیت‌ها را انتخاب نمود تا بوسیله تلاقی بین آنها بیشترین میزان هتروزیس حاصل گردد. بدین ترتیب براساس حضور و عدم حضور باندها جمعیت‌های همدان و اردبیل، و همدان و بوئین‌زهرا که بیشترین فاصله ژنتیکی را در میان ۱۸ جمعیت مورد مطالعه داشتند برای ایجاد تنوع ژنتیکی و آزمایش‌های تلاقی در پروژه‌های اصلاحی پیشنهاد می‌شوند. در حالی‌که براساس پروفیل پروتئینی حاصل از میزان رنگ باندها، تلاقی دو بدو بین جمعیت‌های پنج فرم مشاهده شده برای دورگ‌گیری معرفی شدند.

بنابراین با توجه به اهمیت منابع ژنتیکی علف‌گندمی‌بیابانی، لازم است تنوع ژنتیکی این گیاه با استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی نیز مطالعه شود تا شناخت بیشتری از تنوع ژنتیکی منابع ژنتیکی علف‌گندمی‌بیابانی بدست آید.

منابع

۱. حاجی رضایی، م.، باقی زاده، ا.، جوادی، غ.، صادقی زاده، م. ۱۳۸۸. ارزیابی تنوع ژنتیکی تعدادی از ارقام پسته استان کرمان بر اساس نشانگر مولکولی RAPD. مجله زیست شناسی ایران. ۲۲. صفحه ۴۶۲-۴۶۹.

۲. فتوکیان، م.ح.، احمدی، ج.، فابریکی اورنگ، ص. ۱۳۸۸. مطالعه ژنتیکی برخی صفات گندم در شرایط تنش خشکی با استفاده از تجزیه میانگین نسلها. مجله زیست شناسی ایران. ۲۲. صفحه ۴۳۱-۴۴۱.

3. Aliaga-Morel, J.R., Culianez-Macia, F.A., Clemente-Marin, G. and Primo-Yufera, E., 1987. Differentiation of rice cultivars by electrophoresis of embryo protein. Theoretical and Applied Genetics. 74: 224-232.

4. Alipour, H., Rezai, A., Meibodi, S.A.M. and Taheri, M., 2002. Evaluation of genetic variation in soybean lines using seed protein electrophoresis. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 5(4): 85-96.

5. Arghavani, A., Asghari, A., Shokrpour, M. and Chmanabad, M. 2010. Genetic diversity in ecotypes of two *Agropyron* species using RAPD markers. Research Journal of Environmental Sciences. 4: 50-56.

6. Asay, K.H., and K.B. Jensen. 1996. Wheatgrasses. p. 691–724. *In* L.E. Moser et al. (ed.) Cool season forage grasses. ASA, Madison, WI.

7. Asay, K.H., K.B. Jensen, C. Hsiao, and D.R. Dewey. 1992. Probable origin of standard crested wheatgrass, *Agropyron desertorum* Fisch ex Link, Schultes. Canadian Journal of Plant Science. 72: 763–772.

8. Bianchi-hall, C.M., Keys, R.D., Stalker, H.T. and Murphy, J.P., 1993. Diversity of seed storage protein patterns in wild peanut (Arachis, Fabaceae) species. Plant Systematic and Evolution. 186: 1-15.

9. Che, Y., Li, H., Yang, Y., Yang, X., Li, X., He, B., Li, L. 2008.Genetic Diversity of Agropyron Deserotum Schult Originating from China Based on SSR. Journal of Triticeae Crops, 1, DOI: CNKI:SUN:MLZW.0.2008-01-008

10. Dewey, D.R. 1969. Hybrids between tetraploid and hexaploid crested wheatgrasses. Crop Science. 9: 787–791.

11. Duvall, M.R. and Biesboer, DD., 1989. Comparisons of electrophoretic seed protein profiles among North American populations of *Zizania*. Biochemical Systematics and Ecology. 17: 39–43.

12. Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J., 1992. Analysis of molecular Variances among DNA restriction data. Genetics. 131: 479-491.

13. Farshadfar, M. And Farshadfar, E. 2004. Genetic Variation Among Different *Agropyron* Species Based on Morphological and Chemical Indices. JWSS - Isfahan University of Technology. 8 (2): 243-251

14. Gardiner, S.E. and Forde, M.B., 1988. Identification of cultivars and species of pasture legumes by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel genetic diversity in Black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). Field Crops Research. 69: 183–190.

15. Ghafoor, A., Zahoor, A., Qureshi, A.S. and Bashir, M., 2002. Genetic relationship in *Vigna mungo* (L.) Hepper and *V. radiata* (L.) R. Wilczek based on morphological traits and SDS-PAGE. Euphytica. 123: 367-372.

16. Gower, J.C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. Biometrika. 53: 325-338.

17. Jafari, A.A., Seyedmohammadi, A.R., Abdi, N., and Areffi, H.M. 2008. Seed and Hey production in 31 genotypes of desert wheatgrass (*Agropyron desertorum*) using drought tolerance indices. Iranian Journal of Range and Desert Research, 15(1): 114-128 (in Persian)

18. Jafari, A.A., Seyedmohammadi, A.R., and Abdi, N. 2007. Study of variation for seed yield and seed componemts in 31 genotypes of *Agropyron desertorum* through factor analysis. Iranian Journal of Rangelands and Forests plant Breeding and Genetic Research, 15(3): 211-221 (in Persian)

19. Javaid, A., Ghafoor, A. and Anwar, R. 2004. Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. Pakistan Journal of Botany. 30(1): 25-29.

20. Kehr, W.R., 1960. History of germplasm involvement by the national alfalfa improvement conference. Plant breeding Abstracts. 54: 5168.

21. Knowles, R.P. 1955. A study of variability in crested wheatgrass. Canadian Journal of Botany. 33: 534–546.

22. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

23. Majidi, M. M., A. F. Mirlohi. 2010. Genetic similarities among Iranian populations of *Festuca*, *Lolium*, *Bromus* and *Agropyron* using AFLP markers. Iranian Journal of Biotechnology. 8 (1): 16-23

24. Malik, M.F.A., Qureshi, A.S., Ashraf, M., Khan, M.R. and Javed, A., 2009. Evaluation of genetic diversity in soybean (*Glycine max*) lines using seed protein electrophoresis. Australian Journal of Crop Science. 3(2): 107-112.

25. Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research. 27: 209-220.

26. Mellish, A., Coulman, B. and Ferdinandez, Y., 2002. Genetic Relationships among Selected Crested Wheatgrass Cultivars and Species Determined on the Basis of AFLP Markers. Crop Science. 42: 1662–1668.

27. Mirza, B., Shoaib, M., Ahmad, M. and Fu, Y.B., 2007. Genetic diversity in Pakistani populations of *Avena fatua* revealed by seed storage protein polymorphism. Crop Sience. 2(1):41-48.

28. Misset, MT, Fontenelle, C. 1992. Protein relationships between natural populations of *Ulex europaeus* and *U. galli* (Faboideae, Genisteae) and their hybrids. Plant Systematics and Evolution. 179*:* 19–25.

29. Mohd, S., Alam, Z., Zahir, A., Weqar, A., Taufiq, A. and Ikhtir, K. 2007. Characterization of wheat varieties by seed strong protein electrophoresis. African Journal of Biotechnology. 6(5): 497-500.

30. Naveed, M., Motomitsu, K. and Ghulam, M.A., 2005. Genetic Differentiation of cotton cultivars by polyacrylamide gel electrophoresis. Centeral European Agriculture. 6(1): 69-76.

31. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.

32. Nisar, M., Ghafoor, A., Rashid khan, M. and Sharif Qureshi, A., 2006. Screening of *Pisum Sativum* L. germplasm against *Erysiphe pisi* syd. ACTA Biologica Cracoviensia Series Botanica. 48(2): 33-37.

33. Olge, D.G. 2002 Crested Weatgrass Agropyron cristatum. Plant Fact Sheet. USDA NRCS. Idaho State Office.

34. Panda, R.C., Kumar, O.A. and Rao, K.G.R. 1986. The use of seed protein electrophoresis in the study of phylogenetic relationship in Chile pepper (*Capsicum* L.). Theoretical and Applied Genetics. 7: 665-670.

35. Pasha, M.K., Sen, S.P. 1991. Seed protein patterns of Cucurbitaceae and their taxonomic implications. Biochemical Systematics and Ecology. 19: 569–576.

36. Rohlf, J.F. 2004. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.11. Exeter, Setauket, NY.

37. SagÆso z., Tosun, M. and Akgun, I. 1996. Determination of some phenological, morphological and biological characteristics of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) collected from different locations. Turkiy III. C¸ ayõr-Mer'a ve Yembitkileri Kongresi, 17–19 Haziran 1996, Erzurum, pp. 527–534.

38. Sathaiah, V. and Reddy, T.P. 1985. Seed protein profile of caster (*Ricinus communis* L.) and some *Jatropa* species. Genetics In Agriculture. 39: 35-43.

39. Schneider, S., Kuffer, J., Roessli, D., and Excoffier, L. 1997. Arlequin ver.1.1: software for population genetic data analysis, Genetic and Biometry Laboratory, University of Geneva.

40. Sihag, R., Hooda, J.S., Vashishtha, R.D. and Malik, B.P.S. 2004. Genetic divergence in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill]. Annals of Biology. 20(1): 17-21.

41. Taghizade, R., Jafari, A.A., Choukan, R. and Asghari, A. 2009. Investigation of genetic diversity in *Agropyron desertotum* populations using RAPD. Journal on Plant Science Research. 2(4): 8-18.

42. Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., and kumar, S. 2007. MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution. 24: 1596-1599.

43. Taylor, R.J. and McCoy G.A. 1973. Proposed origin of tetraploid crested wheatgrass based on chromatographic and karyoptic analyses. American Journal of Botany. 60: 576–583.

44. Tzvelev, N.N. 1976. Tribe 3. Triticeae Dum. p. 105–206. *In* Poaceae URSS. Nauka Publishing House, St. Petersburg, USSR.

Genetic diversity and geographic relationship among 18 *Agropyron desertorum* populations using total Proteins

Salehi Shanjani P., Jafari A.A., Calagari M. and Mohamad Esmaeeli M.

Research Institutes of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

Crested wheatgrass (*Agropyron desertorum*) is a perennial grass that is used for pastures and hay production. This study evaluated total proteins profiles of 180 genotypes of Crested wheatgrass from 18 populations, to determine the extent of genetic diversity. On the basis of SDS-PAGE, 46 reproducible bands in three zones and inter-zones were revealed. Although the number of bands in different populations were comparable but the density of polypeptides in some bands were clearly different in some populations. According these observations five differentiated Protein profiles were recognized and 18 populations classified in 5 groups. Differences among the profiles of different populations were unexpectedly bigger than intra-specific differentiation. There were not found geographic structure among populations with same protein profiles. According present and absent of bands were studied in genetic analysis, populations Hamedan and Ardebil; and Hamedan and Boeenzahra showed highest Nei genetic distances. These populations suggested for hybridization and production new cultivars with higher heterosis. However base on quality and dye density of bands in the protein profiles, pair wise hybridization among different populations of each of five groups were suggested. These results suggested that the genetic base of cultivated crested wheatgrass should be broadened by involving diverse parents in the breeding program. Expansion of the genetic base for crested wheatgrass breeding might be accomplished by systematic use of germplasm that differs in protein profiles and has better quantitative traits.

Key words: Crested wheatgrass, *Agropyron desertorum*, SDS-PAGE, Genetic diversity