

انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو برای ارزیابی روابط ژنتیکی در خویشاوندان وحشی گندم *Aegilops* و *Triticum* جنس‌های

Transferability of barley microsatellite markers for assessing genetic relationships of wheat wild relatives of *Triticum* and *Aegilops* genera

احمد احمدی لکی^۱، سید ابوالقاسم محمدی^۲، محمد مقدم^۳ و مصطفی ولیزاده^۴

چکیده

احمدی لکی، ا. س.ا. محمدی، م. مقدم و م. ولیزاده. ۱۳۹۹. انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو برای ارزیابی روابط ژنتیکی در خویشاوندان وحشی گندم جنس‌های *Aegilops* و *Triticum* نشریه علوم زراعی ایران. ۲(۲۲): ۱۶۷-۱۵۲.

ژنومیک مقایسه‌ای هم‌خطی بین ژنوم گونه‌های خویشاوند نزدیک گیاهی را با دقت بالایی نشان داده و امکان تبادل نشانگرها بین آن‌ها را فراهم می‌سازد. هدف این تحقیق ارزیابی انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو بین گونه‌های جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* برای تعیین روابط ژنتیکی آن‌ها بود. آزمایش در سال ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. از ۱۶۵ جفت آغازگر ریزماهواره جو مورد بررسی در ۴۰ ژنوتیپ از نه گونه از جنس‌های *Aegilops* و *Triticum* و ۶۲ جفت آغازگر (۳۰/۳ درصد) در ژنوم یکی از گونه‌های مورد مطالعه تکثیر موفق داشت و ۵۰ جفت آغازگر (۳۷/۵ درصد) در ژنوم یکی از گونه‌های مورد مطالعه تکثیر نمود. میانگین اطلاعات چند شکلی و تنوع ژنی به ترتیب ۰/۵۵ و ۰/۶۰ برآورد شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده الگوریتم تعزیزیه خوش‌های و ضریب فاصله تکاملی به چهار گروه تفکیک شدند. گونه‌های جنس‌های *Aegilops* و *Triticum* در دو گروه جداگانه قرار گرفته و در داخل هر جنس نیز گروه‌بندی با ساختار ژنوم آن‌ها تطابق داشت. در تعزیزیه به بردارهای اصلی، دو بردار اصلی اول به ترتیب ۰/۶۲ و ۰/۸۲ درصد از تنوع مولکولی را توجیه کردند و توزیع ژنوتیپ‌ها براساس این دو بردار با گروه‌بندی تعزیزیه خوش‌های مطابقت داشت. نتایج این آزمایش نشان داد که از نشانگرهای انتقال پذیر جو می‌توان با موفقیت در مطالعات ژنتیکی و بهترزایی در گندم و خویشاوندان آن استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: انتقال پذیری، تنوع ژنتیکی، جو، خویشاوندان وحشی گندم و نشانگرهای ریزماهواره.

این مقاله مستخرج از رساله کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۱

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و عضو قطب علمی اصلاح مولکولی غلات (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: mohammadi@tabrizu.ac.ir)

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و عضو قطب علمی اصلاح مولکولی غلات

۴- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز و عضو قطب علمی اصلاح مولکولی غلات

هستند. این آلل‌های مفید در ارقام امروزی گندم وجود ندارند و می‌توان از آنها برای گسترش پایه ژنتیکی، افزایش کمیت و کیفیت عملکرد و تحمل به تنש‌های زیستی و غیرزیستی گندم استفاده کرد (Feuillet and Muehlbauer, 2009; Hovhannisyan *et al.*, 2011; Lina *et al.*, 2012) شامل ۱۱ گونه دیپلوبید، ۱۰ گونه تراپلوبید و دو گونه هگزاپلوبید با ژنوم‌های B, D, C, S, N, M هستند. این گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی را نشان می‌دهند. برخی از این گونه‌ها حداقل در یکی از ژنوم‌های خود با گندم مشترک هستند که امکان انتقال صفات مطلوب به گندم را از طریق تلاقی‌های رایج یا روش‌های نوترکیبی امکان پذیر می‌سازد (Schneider *et al.*, 2008)، بنابراین مطالعه تنوع و رابطه ژنتیکی بین گونه‌های جنس‌های *Aegilops* و *Triticum* برای گسترش خزانه‌ژنی گندم، جلوگیری از فرسایش ژنتیکی و اهداف بهنژادی ارزشمند محسوب می‌شود (Lina *et al.*, 2012).

در طول تکامل گیاهان، عواملی مانند جهش، نوترکیبی، مهاجرت، جریان ژنی، رانده شدگی ژنتیکی و گزینش، باعث تغییر ساختار ژنتیکی و ایجاد جنس‌ها و گونه‌های متعدد شده‌اند (Maestra and Naranjo, 2000; Feuillet and Muehlbauer, 2009) بین گونه‌ها و جنس‌های خویشاوند گیاهان زراعی می‌تواند در شناسایی گونه‌های مفید برای استفاده در برنامه‌های به نژادی گیاهی مؤثر باشد. نشانگرهای DNA با توجه به خصوصیاتی مانند چند شکلی بالا، توزیع تصادفی در ژنوم، عدم تأثیرپذیری از عوامل محیطی، غیروابسته بودن به مرحله رشد، بافت و اندام و قابل ارزیابی بودن در هر مرحله رشدی، ابزارهای مفیدی در این راستا محسوب می‌شوند. در بین نشانگرهای DNA نیز ریزماهواره‌ها به علت وجود در نواحی رمز کننده و غیر رمز کننده، چند الی بودن و امتیازدهی هم‌بارز، از جمله نشانگرهای متداول مورد

مقدمه

جايكزييني توده‌های بومی با ارقام اصلاح شده جدید باعث کاهش تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های اصلاحی و فرسایش ژنتیکی در آن‌ها شده است. با توجه به تغییر اقلیم و سخت شدن شرایط تولید، بنظر می‌رسد که استفاده از ژن‌های مفید موجود در توده‌های بومی و خویشاوندان وحشی آنها برای گسترش پایه ژنتیکی محدود ژرم‌پلاسم‌های اصلاحی جهت تولید ژنوتیپ‌های پرمحصول متتحمل به تنش‌ها و سازگار به شرایط تغییر اقلیم ضروری است (Tilman *et al.*, 2011). یکی از راه‌های بهبود عملکرد گندم، توسعه پایه ژنتیکی ژرم‌پلاسم با استفاده از گونه‌های وحشی خویشاوند آن می‌باشد. خویشاوندان در طی تکامل به انساب شرایط نامساعد سازگار شده و دارای ژن‌های با ارزشی مانند ژن‌ها و آلل‌های تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شده‌اند. لازمه استفاده از خویشاوندان وحشی، تعیین روابط تکاملی آن‌ها با یکدیگر و گونه‌های زراعی است که استفاده بهینه از آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی ممکن (Colmer *et al.*, 2006; Feuillet and Muehlbauer, 2009)

جنس‌های *Aegilops* و *Triticum*، دو جنس مهم از خانواده گندمیان (Poaceae) هستند که علاوه بر اهمیت اقتصادی از نظر منابع ژنتیکی نیز دارای اهمیت فراوانی هستند (Feuillet and Muehlbauer, 2009; Lina *et al.*, 2012) سه *Ae. tauschii* و *Ae. speltoides*، *T. urartu* گونه خویشاوند وحشی گندم هستند که به ترتیب اجداد ژنوم‌های A (Huang *et al.*, 2002) و B (Miki *et al.*, 2019; Safari and Mehrabi, 2019) و ژنوم D (Huang *et al.*, 2002; Feldman and Levy, 2005; Gororo *et al.*, 2002) در گندمهای امروزی معرفی شده‌اند. علاوه بر این، گونه‌های این دو جنس دارای ژن‌ها و آلل‌های منحصر به فرد متعددی

استفاده هستند (Oliveira *et al.*, 2006). مطالعات ژنومیک مقایسه‌ای اخیر نشان داده است که توالی‌های حفاظت شده‌ای برای نشانگرها و ژن‌ها در موقعیت مشابه ژنوم گونه‌های خویشاوند در گیاهان وجود دارند که در طول تکامل اغلب حفاظت شده هستند (Andrew *et al.*, 2000; Castillo *et al.*, 2010).

هدف این تحقیق، بررسی روابط تکاملی گونه‌های خویشاوند گندم از دو جنس *Triticum* و *Aegilops* با استفاده از نشانگرها ریزماهواره جو و برآورد میزان انتقال پذیری و چندشکلی نشانگرها ریزماهواره جو در گونه‌های این جنس‌ها بوده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. مواد گیاهی مورد مطالعه شامل پنج ژنوتیپ از هر کدام از گونه‌های (B) *Ae. tauschii* Coss. (D) *speltoides* Tausch. (U) *Ae. tauschii* Coss. (D) *ambellulata* (UC) *triuncialis* L. (UC) *crassa* Boiss. *T. boeoticum* (A^b) *Ae. columnaris* Zhuk. (UM) و (GA^a) *T. araraticum* Boiss. و سه ژنوتیپ از گونه *T. urartu* (A^a) بود (جدول ۱). بذر ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی از بانک ژن گیاهی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر کرج تهیه شد.

برای استخراج DNA ۱۵ بذر از هر ژنوتیپ در گلخانه کشت و DNA ژنومی از نمونه‌های برگی به روش (Saghai Maroof *et al.*, 1984) CTAB استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA نمونه‌ها به ترتیب با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفوتومتر تعیین و برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، نمونه‌های DNA به غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. برای بررسی انتقال پذیری از ۱۶۵ جفت آغازگر SSR جو از نوع Bmac، Bmag، SCSSR استفاده شد.

استفاده از نشانگرها برای این اهداف ممکن است که ژنومیک مقایسه‌ای اخیر نشان داده است که توالی‌های حفاظت شده‌ای برای نشانگرها و ژن‌ها در موقعیت مشابه ژنوم گونه‌های خویشاوند در گیاهان وجود دارند که در طول تکامل اغلب حفاظت شده هستند (Andrew *et al.*, 2000; Castillo *et al.*, 2010).

موضوع استفاده از نشانگرها یک گونه یا جنس را در گونه‌های دیگر و یا حتی جنس‌های خویشاوند، امکان‌پذیر می‌سازد (Adonina *et al.*, 2005; Yildirim *et al.*, 2009; Castillo *et al.*, 2010) در اغلب موارد به علت عدم وجود نشانگرها ریزماهواره اختصاصی برای گونه‌ها وحشی، از نشانگرها گونه‌های زراعی در گونه‌ها و حتی جنس‌های خویشاوند نزدیک استفاده می‌شود. به استفاده از آغازگرها، کاوشنگرها و یا نشانگرها یک گونه در گونه‌ها و جنس‌های دیگر انتقال پذیری (Transferability) ژنومی گندم و جو نشان دهنده همولوژی کافی بین این ژنوم‌ها در نواحی احاطه کننده جایگاه‌های ریزماهواره می‌باشد، بنابراین در مطالعات مختلف از نشانگرها ریزماهواره گندم و جو در بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی و نیز تعیین روابط بین ژنوتیپ‌ها در گونه‌های خویشاوند این گیاهان استفاده شده است (Sourdille *et al.*, 2001; Holton *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2002; Zhang 2006; Castillo *et al.*, 2009). به عنوان مثال، از ریزماهواره‌های گندم برای مطالعه گونه‌های خویشاوند *T. durum* (Fahima *et al.*, 1998) *T. dicoccoides* *Ae. tauschii*, *T. timopheevii* (Korzun *et al.*, 1999) *Ae. searsii* (*Ae. Longissima* *speltoides* *S. cereale*, *al.*, 2001; Adonina *et al.*, 2005) (Röder *et al.*, 1998) *H. vulgare*, *Triticosecale* (triticale)

جدول ۱- جنس، گونه و ترکیب ژنومی ژنوتیپ‌های *Triticum* و *Aegilops* مورد مطالعهTable 1. Genera, species and genomic composition of *Triticum* and *Aegilops* genotypes

گونه Species	ژنوم Genome	کد ژنوتیپ Access. code	محل جمع آوری Location	گونه Species	ژنوم Genome	کد ژنوتیپ Access. code	محل جمع آوری Location
<i>Ae. ambellulata</i>	U	KC-50032	-	<i>Ae. columnaris</i>	UM	TN-01-0314	West Azer.- Urmia
<i>Ae. ambellulata</i>	U	TN-01-726	Fars-Fars	<i>Ae. columnaris</i>	UM	TN-01-0860	West Azer.- Urmia
<i>Ae. ambellulata</i>	U	TN-01-785	Ilam-Darrehshahr	<i>Ae. columnaris</i>	UM	TN-01-0864	-
<i>Ae. ambellulata</i>	U	KC-50053	-	<i>Ae. columnaris</i>	UM	TN-01-0289	Zanjan-Takestan
<i>Ae. ambellulata</i>	U	TN-01-725	Fars-Fars	<i>Ae. speltoides</i>	S	KC-50043	Kurdistan-Marivan
<i>Ae. triuncialis</i>	UC	KC-50018	-	<i>Ae. speltoides</i>	S	KC-50049	-
<i>Ae. triuncialis</i>	UC	KC-50016	-	<i>Ae. speltoides</i>	S	KC-50051	-
<i>Ae. triuncialis</i>	UC	KC-50004	Markazi-Delijan	<i>Ae. speltoides</i>	S	KC-50045	Kurdistan-Bane
<i>Ae. triuncialis</i>	UC	KC-50012	Tehran-Damavand	<i>Ae. speltoides</i>	S	KC-50047	Kurdistan-Bane
<i>Ae. triuncialis</i>	UC	KC-50010	Tehran-Tehran	<i>T. araraticum</i>	AG	KC-55059	West Azer.-Sardasht
<i>Ae. crassa</i>	DM	KC-50119	Khorasan- Bojnurd	<i>T. araraticum</i>	AG	KC-55061	-
<i>Ae. crassa</i>	DM	TN-0744	-	<i>T. araraticum</i>	AG	KC-55058	West Azer.-Sardasht
<i>Ae. crassa</i>	DM	TN-0730	-	<i>T. araraticum</i>	AG	KC-55060	-
<i>Ae. crassa</i>	DM	TN-50092	-	<i>T. boeoticum</i>	A	KC-55035	-
<i>Ae. crassa</i>	DM	TN-0723	Fars-Fars	<i>T. boeoticum</i>	A	KC-55033	Kurdistan-Bane
<i>Ae. tauschii</i>	D	TN-621	Khorasan- Bojnurd	<i>T. boeoticum</i>	A	KC-55034	Kurdistan-Bane
<i>Ae. tauschii</i>	D	TN-304	West Azer.- Urmia	<i>T. boeoticum</i>	A	KC-55036	-
<i>Ae. tauschii</i>	D	TN-697	-	<i>T. urartu</i>	A	KC-55047	-
<i>Ae. tauschii</i>	D	TN-308	West Azer.- Urmia	<i>T. urartu</i>	A	KC-55043	West Azer.-Sardasht
<i>Ae. tauschii</i>	D	TN-50006	-	<i>T. urartu</i>	A	KC-55045	Ilam-Ilam

دماه ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی در دماه ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت هفت دقیقه بودند. محصولات تکثیر شده با استفاده از ژل پلی اکریل آمید چهار درصد غیر واسرشته‌ساز با ضخامت ۰/۲ میلی‌متر در دستگاه ژل اسکن ۳۰۰۰ (Corbett, Australia) با رنگ آمیزی اتیدیومبروماید تفکیک شدند. برای تعیین اندازه نسبی قطعات تکثیر شده از نشانگر اندازه مولکولی با اندازه قطعات ۱۰۰۰-۵۰ جفت بازی در سه قسمت ژل استفاده گردید.

میزان انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو در خویشاوندان گندم به صورت نشانگرهایی با تکثیر موفق در گونه‌های مورد مطالعه تعیین گردید. برای نشانگرهای چندشکل، تعداد آلل (N_a)، تنوع ژنی (H_e)، میزان اطلاعات چند شکلی (PIC)، تعداد آلل مؤثر (N_e)، تعداد آلل خصوصی، شاخص اطلاعات شانون (I) و تنوع ژنی ناریب (uH_e) با استفاده از

GBM (Li *et al.*, 2003) (Ramsay *et al.*, 2000) استفاده شد که جایگاه کروموزومی ۱۸ نشانگر روی کروموزوم H1، ۲۸ نشانگر روی کروموزوم H2، ۱۵ نشانگر روی کروموزوم H3، ۳۲ نشانگر روی کروموزوم H5، ۱۸ نشانگر روی کروموزوم H6 و ۲۶ نشانگر روی کروموزوم H7 قرار داشتند.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل چهار میکرولیتر Master mix (https://ampliqon.com/en/products) یک میکرولیتر از هر آغازگر، دو میکرولیتر DNA ژنومی و سه میکرولیتر آب دی‌یونیزه بود. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دماه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در دماه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دماه ۵۵-۶۰ درجه سانتی گراد (بسته به آغازگر) به مدت ۳۰ ثانیه و بسط در

با شاخص‌های تکثیر غیراختصاصی، نوارهای ضعیف، قطعاتی با اندازه خارج از انتظار و نوارهای کشیده (Stutter) ارائه شده توسط کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2008) بودند، از تجزیه و تحلیل حذف شدند. بر اساس این چهار شاخص، از ۵۵ جفت آغازگر چند شکل، ۵۰ جفت نشانگر که دارای تکثیر مناسب بودند برای تجزیه‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. برای این جایگاه‌ها، قطعات تکثیری در محدوده ۱۱۰ تا ۳۵۰ جفت باز بودند، ولی اکثر ال‌ل‌ها در محدوده ۲۰۰ جفت باز قرار داشتند. تعداد آغازگرهای استفاده شده از کروموزوم‌های مختلف جو از ۱۵ (H4) تا ۳۲ (H5)، با میانگین ۲۳/۷ آغازگر برای هر کروموزوم، متغیر بود. کروموزوم H2 با ۵۰ درصد و کروموزوم H3 با ۲۵ درصد، به ترتیب بیشترین کمترین میزان تکثیر نشانگرهای ریزماهواره‌های جورا در جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* داشتند. بیشترین و کمترین میزان نشانگرهای چند شکل به ترتیب متعلق به کروموزوم H2 (۱۲) و H1 (۴) بودند (جدول ۲). تعداد نشانگرهای چند شکل و تک شکل به تفکیک هر گونه در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین و کمترین میزان نشانگرهای چندشکل، به ترتیب با ۴۱ و ۲۳ نشانگر در مشاهده شدند.

جایگاه کروموزومی، تعداد آلل‌ها، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و تنوع ژنی برای نشانگرهای چند شکل در جدول ۴ ارائه شده است. در مجموع ۵۰ جفت آغازگر ریزماهواره چند شکل جو، ۲۲۳ آلل در خویشاوندان وحشی گندم تکثیر گردید. تعداد آلل‌ها از ۲ تا ۱۴ با متوسط ۴/۴۶ به ازای هر جایگاه متغیر بود. نشانگر SC07079-H7 با ۱۴ آلل بیشترین تعداد و ۱۳ نشانگر با دو آلل کمترین تعداد آلل را دارا بودند. میانگین تنوع ژنی برای نشانگرهای جو ۰/۶ به دست آمد. کمترین میزان تنوع ژنی (۰/۱۴) در نشانگرهای H2 GBM1459-H7 و Bmac0044-H7 و SC07079-H7 بیشترین مقدار آن (۰/۹۱) در نشانگر

(Liu and Muse, PowerMarker 3.25 (2005) Peakall and Smouse, 2012) GenAIEx6.5) برآورد شدند. میزان اطلاعات چند شکلی، تنوع ژنی نی و شاخص شانون به ترتیب با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شدند:

$$(Botstein *et al.*, 1980) \text{ PIC} = 1 - \sum p_i^2 - \sum 2p_i p_j^2 \quad (1)$$

$$(\text{Nei}, 1973) \text{ He} = 1 - \sum p_i^2 \quad (2)$$

$$(\text{Nei}, 1978) \text{ uHe} = 2n(1 - \sum p_i^2)/(2n - 1) \quad (3)$$

$$(\text{Magurran} 2004) \text{ I} = -1 * \sum (p_i * \ln p_i) \quad (4)$$

در این رابطه‌ها، p_i و p_j به ترتیب فراوانی ال‌های نام و نام در یک جایگاه ریزماهواره می‌باشد.

روابط تکاملی گونه‌های جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* براساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره Neighbor-joining جو با استفاده از الگوریتم MEGA V.5/05 (Jukes Cantor) با استفاده از نرم‌افزار Tamura *et al.*, 2011) انجام و برای تعیین تعداد خوش مطلوب از روش Bootstrap استفاده شد. علاوه بر این، تجزیه به بردارهای اصلی (PCoA) به عنوان روش مکمل تجزیه خوش‌های جهت تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها انجام گرفت. برای تعیین خصوصیات ژنتیکی درون و بین گونه‌ها از تجزیه واریانس مولکولی GenAIEx6.5 (AMOVA) با استفاده از نرم‌افزار Peakall and Smouse, 2012) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که از ۱۶۵ جفت آغازگر ریزماهواره جو مورد استفاده، ۶۲ جفت آغازگر (۳۷/۵ درصد) حداقل در یکی از گونه‌های دو جنس *Triticum* یا *Aegilops* تکثیر شدند. اندازه تقریبی قطعات تکثیری مطابق اندازه آن‌ها در ژنوم جو بودند. از ۶۲ جفت آغازگر با تکثیر موفق، ۵۵ جفت (۳۳/۳ درصد در کل نشانگرهای مورد بررسی) چند شکل بودند. نشانگرهایی

جدول ۲- انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو در جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* بر اساس کل نشانگرهای ریزماهواره ارزیابی شده، نشانگرهای تکثیر شده و نشانگرهای چندشکل

Table 2. Transferability of barley SSR markers in *Triticum* and *Aegilops* species based on number of total SSR markers, amplified SSR markers and polymorphic SSR markers

	کل نشانگرهای ریزماهواره ارزیابی شده	کروموزوم‌های جو Barley chromosomes							کل Total
		H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
Total SSR markers	18	28	28	15	32	18	26	165	
Amplified SSR markers	5 [*] (27.7%)	14	7	7	13	8	8	62	
Polymorphic SSR markers	4 [*] (22.2%)	12	6	7	12	7	7	55	

*The digits within parenthesis indicate percentage amplified and polymorphic markers

^{*} اعداد داخل پرانتز درصد نشانگرهای تکثیر شده و چند شکل را نشان می‌دهند

جدول ۳- چند شکلی و تک شکلی نشانگرهای ریزماهواره جو در جنس‌های *Triticum* و *Aegilops*

Tabel 3. Polymorphic and monomorphic barley SSR markers in *Triticum* and *Aegilops* species

گونه Species	کل نشانگرها Total markers	کل نشانگرهای تک شکل Monomorph markers	نشانگرهای چند شکل Polymorph markers
<i>Ae. ambellulata</i>	50	9 (18%)	41(82%)
<i>Ae. ttiuncialis</i>	50	15 (30%)	35 (70%)
<i>Ae. crassa</i>	50	21 (42%)	29 (58%)
<i>Ae. tauschii</i>	50	23 (46%)	27 (54%)
<i>Ae. colummaris</i>	50	8 (16%)	42 (84%)
<i>Ae. speltoides</i>	50	20 (40%)	30 (60%)
<i>T. araraticum</i>	50	22 (44%)	28 (56%)
<i>T. boeoticum</i>	50	23 (46%)	27 (54%)
<i>T. urartu</i>	50	27 (54%)	23 (46%)

H3,H1<[۳/۹]H2<[۴/۴]H5<[۵/۸۶]
 [۳/۵]. نشانگرهای کروموزوم‌های H4 و H1 به ترتیب
 بیشترین و کمترین میزان تنوع ژنی و PIC را دارا بودند
 (میانگین تنوع ژنی: H4<[۰/۷۳]H6<[۰/۶۵]
 [۰/۵۲]H2 H1<[۰/۶]H5<[۰/۶۳]H3<[۰/۶۴]
 H3<[۰/۶]H7 H6<[۰/۶۸]H4:PIC میانگین
 .[۰/۴۶]H1<[۰/۴۸]H2<[۰/۵۵]H5<[۰/۵۷]

مشاهده شد. PIC از ۰/۱۳ تا ۰/۹۰ با میانگین ۰/۵۵ متغیر
 بود که بیشترین مقدار آن به نشانگر SC07079-H7 و
 GBM1459-2H7 و کمترین مقدار آن به نشانگرهای Bmac0044-H7
 تعلق داشت. بیشترین میانگین تعداد
 آلل با ۶/۲ مریوط به نشانگرهای کروموزوم H4 و
 کمترین آن با ۳/۵ مریوط به نشانگرهای کروموزوم‌های
 H7 و H3 بود (میانگین تعداد آلل: ۴H<[۶/۲]

جدول ۴- آغازگرهای ریزماهواره، جایگاه کروموزومی (Ch)، تعداد آلل (N_a)، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) و تنوع ژنی (H_e) در جنس‌های *Aegilops* و *Triticum*

Table 4. Microsatellite primers, Chromosome location (Ch), Alleles number (N_a), Polymorphic information

content (PIC) and gene variation (H_e) in *Triticum* and *Aegilops* species

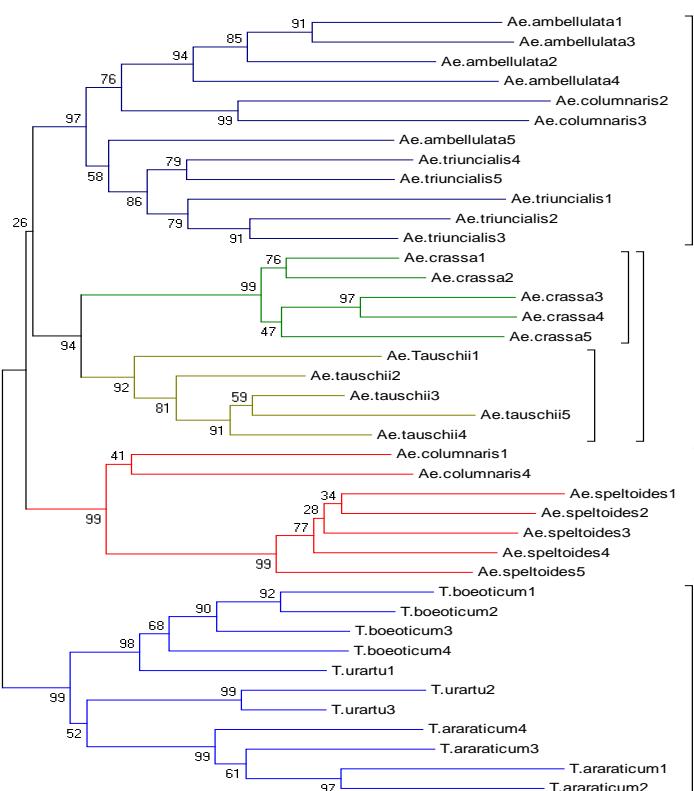
آغازگرهای ریزماهواره				آغازگرهای ریزماهواره					
Microsatellite primers	Ch	N _a	PIC	Microsatellite primers	Ch	N _a	PIC		
GBM1092	H1	2	0.19	0.22	GBM1176	H5	3	0.59	0.66
GBM1234	H1	7	0.83	0.85	GBM1405	H5	5	0.67	0.73
GBM1480	H1	3	0.50	0.58	GBM1426	H5	5	0.66	0.72
SCSSR04163	H1	2	0.34	0.44	GBM1470	H5	2	0.37	0.50
میانگین کروموزوم H1		3.5	0.46	0.52	SCSSR02306	H5	5	0.61	0.66
Mean H1 chromosome				SCSSR02503	H5	2	0.27	0.32	
Bmac0576	H2	3	0.36	0.40	SCSSR07106	H5	9	0.85	0.86
GBM1187	H2	7	0.81	0.84	SCSSR15334	H5	4	0.51	0.56
GBM1251	H2	2	0.16	0.18	SCSSR16991	H5	7	0.70	0.74
GBM1309	H2	6	0.58	0.63	SCSSR18076	H5	2	0.25	0.29
GBM1366	H2	3	0.57	0.65	میانگین کروموزوم H5		4.4	0.55	0.6
GBM1408	H2	2	0.29	0.35	Mean H5 chromosome				
GBM1440	H2	6	0.75	0.77	Bmag0210	H6	4	0.53	0.57
GBM1446	H2	6	0.72	0.76	Bmag0500	H6	5	0.71	0.75
GBM1459	H2	2	0.13	0.14	Bmag0867	H6	4	0.68	0.73
SCSSR00334	H2	5	0.68	0.72	GBM1087	H6	3	0.46	0.55
SCSSR03381	H2	2	0.22	0.25	GBM1400	H6	4	0.56	0.61
SCSSR08447	H2	3	0.51	0.6	SCSSR02093	H6	3	0.45	0.50
میانگین کروموزوم H2		3.9	0.48	0.52	SCSSR05599	H6	7	0.80	0.82
Mean H2 chromosome				میانگین کروموزوم H6		4.3	0.6	0.65	
GBM1118	H3	3	0.55	0.62	Mean H6 chromosome				
GBM1163	H3	2	0.34	0.44	Bmac0044	H7	2	0.13	0.14
GBM1300	H3	2	0.32	0.40	Bmac0064	H7	4	0.57	0.62
GBM1450	H3	5	0.74	0.77	Bmac0224	H7	5	0.69	0.74
SCSSR25691	H3	4	0.69	0.74	GBM1102	H7	2	0.36	0.47
میانگین کروموزوم H3		3.5	0.57	0.63	GBM1432	H7	6	0.76	0.79
Mean H3 chromosome				SCSSR07970	H7	14	0.90	0.91	
GBM1364	H4	6	0.64	0.68	SCSSR15864	H7	8	0.81	0.83
GBM1422	H4	5	0.57	0.62	میانگین کروموزوم H7		5.86	0.6	0.64
GBM1501	H4	6	0.78	0.81	Mean H7 chromosome				
SCSSR14079	H4	9	0.82	0.85	میانگین کل		4.46	0.55	0.6
SCSSR18005	H4	5	0.61	0.67	Total mean				
میانگین کروموزوم H4		6.2	0.68	0.73					
Mean H4 chromosome									

الگوریتم Neighbor-joining تجزیه خوش‌ای و ضربی فاصله تکاملی Jukes Cantor مورد ارزیابی قرار

روابط تکاملی ژنتیکی مورد مطالعه بر اساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره جو با استفاده از

دو ژنوتیپ دیگر Ae. *columnaris* Zhuk. (UUMM) با ژنوتیپ‌های گونه‌های Ae. *Ambellulata* (UU) و Ae. *Ambellulata* (*triuncialis*) L. (UUCC) به گروه چهارم منتب گردیدند. همانند گروه یک، در گروه‌های دیگر نیز شباهت ژنومی بین اعضای گروه دیده شد و افراد دارای ژنوم مشابه در گروه‌های یکسان قرار گرفتند. علاوه بر تجزیه خوشای از PCoA نیز برای تعیین روابط تکاملی گونه‌ها استفاده شد. در PCoA، سه بردار اصلی اول به ترتیب ۶۴/۲۵، ۲۴/۶۳، ۲۱/۸۶ و ۱۷/۸۶ و در مجموع ۶۴/۹۳ درصد از تغییرات مولکولی کل نشانگرهای ریزماهواره جو را در ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی تبیین کردند. در شکل ۲ روابط ژنوتیپ‌های گونه‌های مختلف براساس دو بردار اصلی اول نشان داده شده است. در تجزیه به

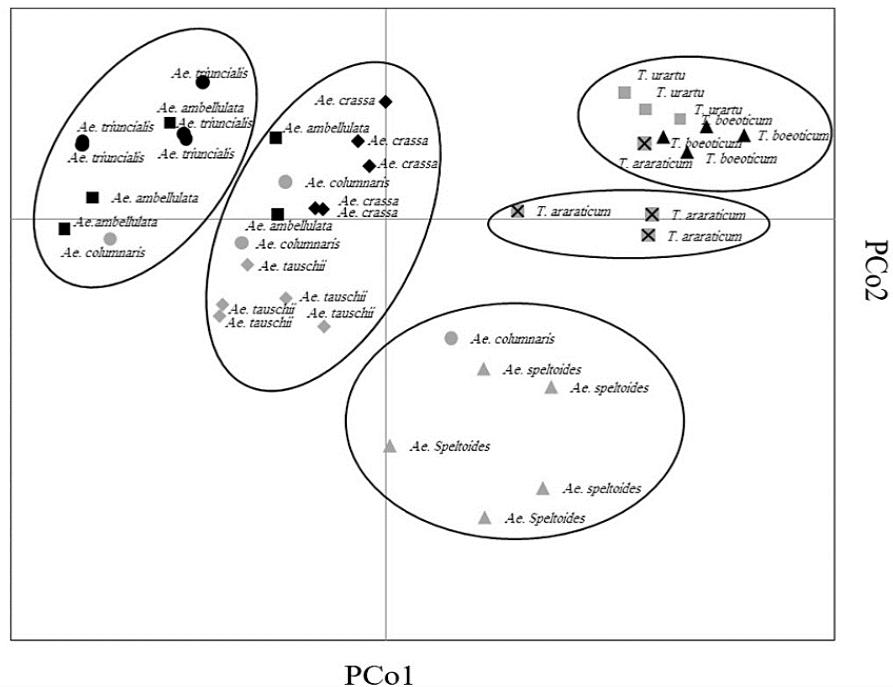
گرفت. براساس نتایج حاصل، ۴۰ ژنوتیپ به چهار گروه مختلف منتب شدند که به مقدار زیادی با ساختار ژنومی و روابط تکاملی آنها مطابقت داشت (شکل ۱). ژنوتیپ‌های گونه‌های جنس Triticum شامل T. *T. Urartu* (AA), *araraticum* (AAGG) و T. *boeoticum* Boiss. (AA) در گروه یک قرار گرفتند. همه ژنوتیپ‌های متعلق به جنس Triticum که در این تحقیق وجود داشتند، در این گروه قرار گرفتند. نکته مشترک دیگر اعضای گروه یک داشتن ژنوم A بود. دو ژنوتیپ از گونه Ae. *columnaris* Zhuk. (UUMM) با ژنوتیپ‌های Ae. *speltoides* Tausch. (SS) و Ae. *tauschii* Coss. تشکیل دادند. ژنوتیپ‌های دو گونه Ae. *crassa* Boiss. (DDMM) و Ae. *speltoides* (DD) به گروه سوم و



شکل ۱- دندروگرام ۴۰ ژنوتیپ از جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* با استفاده از الگوریتم Neighbor-joining و فاصله تکاملی Jukes Cantor بر اساس نشانگرهای ریزماهواره جو

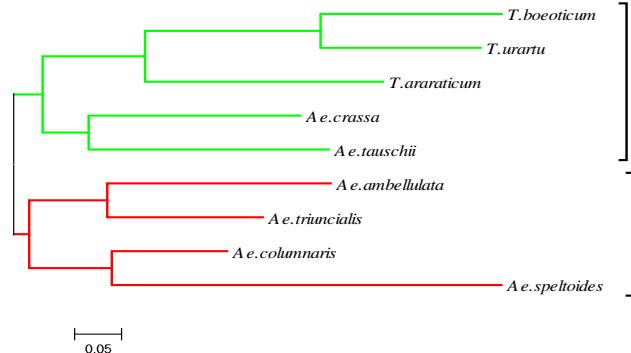
Fig. 1. Dendrogram of 40 accessions of *Aegilops* and *Triticum* using Neighbor-joining algorithm and Jukes

Cantor distance coefficient based on barley SSR markers



شکل ۲- پراکنش ژنوتیپ‌های جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* بر اساس دو بردار اول تجزیه به بردارهای اصلی
Fig. 2. Plot of the first and second principal components according to barley SSR markers in *Aegilops* and

Triticum species



شکل ۳- گروه‌بندی گونه‌های جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* با استفاده از فاصله ژنتیکی نی
Fig. 3. Neighbor-joining dendrogram based on Nei's genetic distance in *Aegilops* and *Triticum* species

گونه جنس *Triticum* در یک گروه و سایر گونه‌های *Triticum* در یک گروه و سایر گونه‌های *Aegilops* در گروه دیگر قرار گرفتند. ارزیابی تنوع درون گونه‌ای نشان داد که بیشترین میزان شاخص شانون و تعداد الال متفاوت به گونه *Ae. ambellulata*, بیشترین میزان تنوع ژنی نی، تنوع ژنی نی ناریب و تعداد الال مؤثر به گونه *Ae. columnaris* و بیشترین تعداد الال اختصاصی به گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. tauschii* به همراه سه

بردارهای اصلی نیز افراد گونه‌ها براساس شbahت ژنومی گروه‌بندی شدند، ولی ژنوتیپ‌های *Ae. columnaris* در بین ژنوتیپ‌های سایر گونه‌های *Aegilops* پراکنده بود. برای تعیین روابط تکاملی گونه‌ها نیز از الگوریتم تجزیه خوش‌های Neighbor-joining براساس فاصله ژنتیکی نی (Nei, 1973) استفاده شد. در دندروگرام حاصله (شکل ۳)، دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. tauschii* به همراه سه

AMOVA مشاهده شد (جدول ۵). براساس *urartu* واریانس درون و بین گروهی به ترتیب ۴۰ و ۶۰ درصد واریانس مولکولی کل را تبیین کردند.

Ae. ambellulata speltoides تعلق داشتند. کمترین مقدار این پارامترها، به غیر از تعداد الال اختصاصی که کمترین مقدار آن مربوط به *Ae. columnaris* بود، در *T.*

جدول ۵- تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای در جنس‌های *Aegilops* و *Triticum* براساس پارامترهای شاخص شanon (I)، تنوع ژنی (H_e)، تنوع ژنی نااریب نی (uH_e)، تعداد آلل متفاوت (N_a) و تعداد آلل اختصاصی (NPA)

Table 5. Within group genetic diversity of species based on Shannon's index (I), Nei's gene diversity (H_e), unbiased Nei's gene diversity(uH_e), Number of different alleles (N_a), Number of effective alleles (N_e) and number of private alleles (NPA) in *Aegilops* and *Triticum* species

گونه Species	I	H _e	uH _e	N _a	N _e	NPA
<i>Ae. ambellulata</i>	0.61(0.05)*	0.38(0.03)	0.43(0.03)	2.16(0.11)	1.83(0.09)	0.16(0.06)
<i>Ae. triuncialis</i>	0.05(0.05)	0.32(0.04)	0.35(0.04)	1.92(0.11)	1.67(0.09)	0.14(0.06)
<i>Ae. crassa</i>	0.40(0.06)	0.26(0.03)	0.29(0.04)	1.74(0.12)	1.56(0.07)	0.10(0.05)
<i>Ae. tauschii</i>	0.38(0.05)	0.24(0.03)	0.27(0.04)	1.72(0.10)	1.49(0.08)	0.10(0.04)
<i>Ae. columnaris</i>	0.59(0.05)	0.39(0.03)	0.45(0.04)	2.04(0.10)	1.85(0.10)	0.04(0.03)
<i>Ae. speltoides</i>	0.43(0.06)	0.28(0.03)	0.31(0.04)	1.80(0.11)	1.59(0.09)	0.16(0.05)
<i>T. araraticum</i>	0.38(0.05)	0.25(0.03)	0.29(0.04)	1.70(0.10)	1.50(0.08)	0.14(0.06)
<i>T. boeoticum</i>	0.34(0.05)	0.23(0.03)	0.26(0.04)	1.60(0.09)	1.44(0.07)	0.08(0.04)
<i>T. urartu</i>	0.30(0.05)	0.20(0.03)	0.24(0.04)	1.50(0.09)	1.40(0.08)	0.06(0.03)

* اعداد داخل پرانتز خطای معیار پارامترهای نشان می دهند

*The digits within parenthesis indicate standard errors of the parameters

کوچک دارای مقدار DNA تکراری بیشتری هستند (Ahn *et al.*, 1993; Kurata *et al.*, 1994) ژنومیک مقایسه‌ای نقشه‌های ژنتیکی ذرت و برنج که حدود ۸۰-۶۰ میلیون سال قبل از هم منشعب شده‌اند، نشان دهنده قطعات ژنومی هم خط بزرگ با محتوی و آرایش ژنی حفاظت شده بین این دو گونه است. وجود محتوی و آرایش ژنی حفاظت شده بین گونه‌های مختلف خانواده Poaceae منجر به ارائه تئوری استفاده از سه ژنوم کلیدی ذرت، جو و برنج با ژنوم‌های نسبتاً کوچک در مقایسه با سایر گندمیان در مطالعات تکاملی سایر گونه‌ها گردید (Bennetzen and Freeling, 1997).

روابط تکاملی تزدیک بین گندم و جو در مقایسه با سایر اعضای زراعی خانواده Poaceae و حفاظت شدگی وسیع محتوی و آرایش ژنی بین این گونه باعث شده است که جو به علت دیپلوید بودن، تعداد کروموزوم کم، اندازه ژنوم کوچک (۵/۱ گیگا جفت‌باز) در

تهیه اولین نقشه ژنتیکی سورگوم با استفاده از کاووشگرهای DNA ذرت نشان داد که محتوای ژنی و تعداد ژن‌ها در این دو گونه خویشاوند به مقدار زیاد حفاظت شده است و هم خطی بالایی بین اعظم قسمت‌های ژنوم آن‌ها مشاهده گردید. الگوهای دورگ گیری توالی‌های DNA ذرت و سورگوم نشان داد که این دو ژنوم بسیار مشابه هستند. با این حال توالی‌های موجود در DNA تکراری ذرت در برخی از کلون‌های ژنومی با DNA سورگوم دورگ نشدن (Hulbert *et al.*, 1990). ارزیابی روابط ژنومی گندمیان مختلف بر اساس نشانگرهای مبتنی بر نواحی ژنومی با نسخه کم و نیز توالی‌های رمزکننده نیز نشان داد که محتوی و آرایش ژنی در آن‌ها تفاوت چندانی با هم نداشته و اندازه ژنوم متفاوت گونه‌های باهم مختلف ناشی از تفاوت در میزان DNA تکراری آن‌ها است و ژنوم‌های بزرگ در مقایسه با ژنوم‌های

در پنج رقم گندم، پنج رقم جو، دو رقم یولاف و دو رقم چاودار نشان داد که انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره جو در گندم ۶۹/۶ درصد، یولاف ۴۳/۵ درصد، و چاودار ۵۲/۲ درصد و نشانگرهای ریزماهواره گندم در جو، یولاف و چاودار به ترتیب ۷۴ و ۷۰ و ۷۰/۴ درصد بودند (Yildirim *et al.*, 2009).

تجزیه خوشای با استفاده از داده‌های نشانگرهای ریزماهواره جو، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نه گونه را به چهار گروه مجزا منتسب کرد. در این گروه‌بندی، به استثنای دو ژنوتیپ (UM) که با *Ae. columnaris* Zhuk. در یک ژنوتیپ‌های گونه (B) *Ae. speltoides* Tausch. گروه قرار گرفتند، گروه‌بندی سایر ژنوتیپ‌ها مطابق با ژنوم آن‌ها بود. به عنوان مثال، می‌توان به گروه‌بندی ژنوتیپ‌های دارای ژنوم D از دو گونه (D) *Ae. tauschii* (D) *Ae. crassa* Boiss. (D^cM^c) با هم اشاره کرد. در بیشتر تحقیقات مربوط به روابط تکاملی گونه‌های خویشاوند وحشی گندم از تعداد گونه کمتر و اغلب شامل گندم و چند خویشاوند وحشی اصلی آن و یا چند گونه *Triticum* و *Aegilops* استفاده شده است (Petersen and Seberg, 2005; Mason-Gamer, 2005). در آزمایش حاضر، روابط تکاملی و تنوع درون گونه‌ای، نه گونه از دو جنس *Triticum* و *Aegilops* با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره جو مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که به علت روابط تکاملی و شباهت‌های ژنومی نزدیک گندم و خویشاوندان وحشی آن با جو، استفاده از نشانگرهای مبتنی بر ژنوم جو برای بررسی تنوع ژنتیکی و روابط تکاملی گونه‌های جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* امکان‌پذیر است.

سپاسگزاری

از قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز جهت تامین هزینه و امکانات لازم برای انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

مقایسه با گندم (۱۷ گیگا جفت باز) و دارا بودن صفاتی مشابه گندم مانند زمان گلدهی و پاسخ به بهاره‌سازی به عنوان گیاه مدل مناسبی در مطالعات ژنومی مورد استفاده قرار گیرد (Beales *et al.*, 2007). در این راستا، تولید لاین‌هایی با جایگزینی کروموزومی گندم-جو و مطالعه رفتار جفت شدن کروموزوم‌های گندم و جو در غالب ژن *Ph1* گندم و نیز مطالعات ژنومیک مقایسه‌ای با استفاده از نشانگرهای مولکولی، نشان دهنده درجه بالای حفاظت شدگی ژنومی از محتوى و آرایش ژنی بین گندم و جو در مقایسه با سایر اعضای این خانواده می‌باشد (Bennetzen and Freeling, 1997). این موضوع باعث شده است که در تحقیقات مختلف از نشانگرهای جو برای مطالعه روایت تکاملی گونه‌های مختلف خانواده گرامینه استفاده شود.

در آزمایش حاضر از ۱۶۵ نشانگر ریزماهواره جو توزیع شده در هفت کروموزوم آن برای مطالعه روابط تکاملی ۴۰ ژنوتیپ خویشاوند وحشی گندم متعلق به نه گونه از دو جنس *Triticum* و *Aegilops* استفاده شد که از این تعداد، ۶۲ نشانگر (۳۷/۵۷ درصد) قطعاتی حداقل از ژنوم یک گونه را تکثیر کردند و ۵۰ نشانگر (۳۰/۳) درصد کل نشانگرها (در بین گونه‌ها چندشکل بودند. بیشترین میزان انتقال پذیری بین جنسی (۵۰ درصد) به نشانگرهای کروموزوم 2H تعلق داشت. در آزمایش‌های متعددی از نشانگرهای ریزماهواره اعضای خانواده گرامینه برای ارزیابی روابط ژنتیکی بین جنس‌ها و گونه‌های مختلف استفاده شده است. هولتن و همکاران (Holton *et al.*, 2002) در ارزیابی روابط ژنتیکی ۱۱ رقم جو و ۱۵ رقم گندم با استفاده از ۴۱ جفت آغازگر ریزماهواره جو گزارش کردند که ۱۶ (۳۹ درصد) و ۵ نشانگر (۱۲/۱۹ درصد) به ترتیب در ارقام جو و گندم چند شکل بودند. بررسی انتقال پذیری نشانگرهای ریزماهواره در غلات سردسیری براساس ۲۷ نشانگر ریزماهواره گندم و ۲۳ نشانگر ریزماهواره جو

منابع مورد استفاده

References

- Adonina, I.G., E.A. Salina, E.G. Pestsova and M.S. Röder.** 2005. Transferability of wheat microsatellites to diploid *Aegilops* species and determination of chromosomal localizations of microsatellites in the S genome. *Genome* 48: 959-970.
- Ahn, S., J.A. Anderson, M.E. Sorrells and S.D. Tanksley.** 1993. Homoeologous relationships of rice, wheat and maize chromosomes. *Mol. Genet. Genomics* 241: 483-490.
- Andrew, H., J.E. Paterson, M.D. Bawers, X.D. Buraw, G.E. Christin and J.W. Robert.** 2000. Comparative genomics of plant chromosomes. *Plant Cell Rep.* 12: 1523-1539.
- Beales, J., A. Turner, S. Griffiths, J.W. Snape and D.A. Laurie.** 2007. A pseudo-response regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 115: 721-733.
- Bennetzen, J.L. and M. Freeling.** 1997. The unified grass genome: synergy in synteny. *Genome. Res.* 7: 301-306.
- Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick and R.W. Davis.** 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32: 314-331.
- Castillo, A., G. Dorado, C. Feuillet, P. Sourdille and P. Hernandez.** 2010. Genetic structure and ecogeographical adaptation in wild barley as revealed by microsatellite markers. *BMC Plant Biol.* 10: 266-279.
- Castillo, A., H. Budak, A. C. Martin, G. Dorado, A. Borner, M. Roder and P. Hernandez.** 2009. Interspecies and intergenus transferability of barley and wheat D-genome microsatellite markers. *Ann. Appl. Biol.* 156: 347-356.
- Castillo, A., H. Budak, R.K. Varshney, G. Dorado, A. Graner and P. Hernandez.** 2008. Transferability and polymorphism of barley EST-SSR markers used for phylogenetic analysis in *Hordeum chilense*. *BMC Plant Biol.* 8: 97-100.
- Colmer, T. D., T. J. Flowers and R. Munns.** 2006. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J. Exp. Bot.* 57: 1059–1078.
- Fahima, T., M.S. Roder, A. Grama and E. Nevo.** 1998. Microsatellite DNA polymorphism divergence in *Triticum dicoccoides* accessions highly resistant to yellow rust. *Theor. Appl. Genet.* 96: 187-195.
- Feldman, M. and A.A. Levy.** 2005. Allopolyploidy— a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenet. Genome Res.* 109: 250–258.
- Feuillet, C. and G.J. Muehlbauer.** 2009. Genetics and Genomics of the *Triticeae*. *Plant Genetics and Genomics*. Springer.
- Gororo, N.N., H.A. Hagles, R.F. Eastwood, M.E. Nicolas and R.G. Flood.** 2002. Use of *Triticum tauschii* to improve yield of wheat in low-yielding environments. *Euphytica* 123: 241-254.

- Holton, T.A., J.T. Christopher, L. McClure, N. Harker and R.J. Henry.** 2002. Identification and mapping of polymorphic SSR markers from expressed gene sequences of barley and wheat. Mol. Breed. 9: 63-71.
- Hovhannisyan, N.A., M.E. Dulloo, A.H. Yesayan, H. Knupffer and A. Amri.** 2011. Tracking of powdery mildew and leaf rust resistance genes in *Triticum boeoticum* and *T. urartu*, wild relatives of common wheat. Czech J. Genet. Plant Breed. 47: 45-57.
- Huang, S.X., A. Sirikhachornkit, X.J. Su, J. Faris, B. Gill, R. Haselkorn and P. Gornicki.** 2002. Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and evolutionary history of polyploid wheat. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 99: 8133–8138.
- Hulbert, S.H., T.E. Richter, J.D. Axtell and J.L. Bennetzen.** 1990. Genetic mapping and characterization of sorghum and related crops by means of maize DNA probes. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 87: 4251-4255.
- Korzun, V., M.S. Roder, K. Wedehake, A. Pasqualone, C. Lotti, M.W. Ganal and A. Blanco.** 1999. Integration of dinucleotide microsatellites from hexaploid bread wheat into a genetic linkage map of durum wheat. Theor. Appl. Genet. 98: 1202-1207.
- Kuleung, C., P.S. Baenziger and I. Dweikat.** 2004. Transferability of SSR markers among wheat, rye, and triticale. Theor. Appl. Genet. 108: 1147–1150.
- Kurata, N., G. Moore, Y. Nagamura, T. Foote, M. Yano, Y. Minobe and M.D. Gale.** 1994. Conservation of genome structure between rice and wheat. BioTechnol. 12: 276-278.
- Li, J.Z., T.G. Sjakste, M.S. Roder and M.W. Ganal.** 2003. Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. Theor. Appl. Genet. 107: 1021-1027.
- Lina, M.A., Y.M. Mohammad and H. Nadia.** 2012. The genetic relationships among *Aegilops* L. and *Triticum* L. species. Asian J. Agric. Sci. 4: 352-367.
- Liu, K. and S.V. Muse.** 2005. Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatics 2: 2128-2129.
- Maestra, B. and T. Naranjo.** 2000. Genome evolution in Triticeae. In: Olmo E., Redi C.A. (Eds.) Chromosomes Today. Birkhäuser, Basel, pp. 155-167.
- Magurran, A.E.** 2004. Measuring Biological Diversity. Blackwell.
- Mason-Gamer, R.J.** 2005. The β -amylase genes of grasses and a phylogenetic analysis of the Triticeae (Poaceae). Am. J. Bot. 92: 1045-1058.
- Miki, Y., K. Yoshida, N. Mizuno, S. Nasuda, K. Sato and S. Takumi.** 2019. Origin of wheat B-genome chromosomes inferred from RNA sequencing analysis of leaf transcripts from section Sitopsis species of *Aegilops*. DNA Res. 26(2): 171-182.
- Nei, M.** 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 70: 3321–3323.

- Nei, M. 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Oliveira, E.J., J.G. Païdua, M.I. Zucch, R. Vencovsky and M.L.C. Vieira. 2006.** Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. *Genet. Mol. Res.* 29: 294-307.
- Peakall, R. and P. Smouse. 2012.** GenAIEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539.
- Pestsova, E., V. Korzun, N.P. Goncharov, K. Hammer, M.W. Ganal and M.S. Röder. 2000.** Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 101: 100–106.
- Petersen, G. and O. Seberg. 2005.** Phylogenetic analysis of allopolyploid species. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 41: 28-37.
- Ramsay, L., M. Macaulay, D. S. Ivanissevich, K. MacLean, L. Cardle, J. Fuller, K. J. Edwards, S. Tuvesson, M. Morgante, A. Massari, E. Maestri, N. Marmiroli, T. Sjakste, M. Ganal, W. Powell and R. A. Waugh. 2000.** Simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Genetics*, 156: 1997-2005.
- Röder, M.S., J. Plaschke, S.U. Konig, A. Borner, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley and M.W. Ganal. 1995.** Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Mol. Gen. Genet.* 246: 327-333.
- Rodríguez-Suarez, C., M.C. Ramirez, A. Martin and S.G. Atienza. 2011.** Applicability of chromosome-specific SSR wheat markers for the introgression of *Triticum urartu* in durum wheat breeding programmes. *Plant Genet. Resour.* 9: 439-444.
- Safari, Z. and A.A. Mehrabi. 2019.** Molecular phylogeny of *Aegilops* L. and *Triticum* L. species revealed by internal transcribed spacers of ribosomal genes. *J. Agric. Sci. Technol.* 21(3): 699-714.
- Saghai Maroof, M.A., R.M. Biyashev, G.P. Yang, Q. Zhangf and R.W. Allard. 1994.** Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 91: 5466-5470.
- Schneider, A., I. Molnár and M. Molnár-Láng. 2008.** Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*, 163(1): 1-19.
- Sharma, S., H.S. Balyan, P.L. Kulwal, N. Kumar, R.K. Varshney, M. Prasad and P.K. Gupta. 2002.** Study of interspecific SSR polymorphism among 14 species from *Triticum-Aegilops* group. *Wheat Info. Serv.* 95: 23-28.
- Sourdille, P., M. Tavaud, G. Charmet and M. Bernard. 2001.** Transferability of wheat microsatellites to diploid Triticeae species carrying the A, B and D genomes. *Theor. Appl. Genet.* 103: 346–352.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011.** MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28(10): 2731-2739.

- Tilman, D., C. Balzer, J. Hill and B. L. Belfort.** 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 108: 20260-20264.
- Varshney, R.K., R. Sigmund, A. Börner, V. Korzun, N. Stein, M.E. Sorrells, P. Langridge and A. Graner.** 2005. Interspecific transferability and comparative mapping of barley EST-SSR markers in wheat, rye and rice. Plant Sci. 168: 195-202.
- Yildirim, A., N. Kandemir, O. Ates Sonmezoglu and T. Eserkaya Gulec.** 2009. Transferability of microsatellite markers among cool season cereals. Biotechnol. Biotechnol. Equip. 23: 1299-1302.
- Zhang, L.** 2006. Study of the transferability of microsatellite markers derived from bread wheat (*T. aestivum*) or rice (*O. sativa*) ESTs (EST-SSRs) to their close and wild relative and evaluation of their potential for the organization of genetic resources in the grass family. Vegetal Biology, Universite Blaise Pascal.

Transferability of barley microsatellite markers for assessing genetic relationships of wheat wild relatives of *Triticum* and *Aegilops* genera

Ahmadi Laki, A.¹, S. A. Mohammadi², M. Moghaddam³ and M. Valizadeh⁴

ABSTRACT

Ahmadi Laki, A., S. A. Mohammadi, M. Moghaddam and M. Valizadeh. 2020. Transferability of barley microsatellite markers for assessing genetic relationships of wheat wild relatives of *Triticum* and *Aegilops* genera. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 22(2): 152-167. (In Persian).

Comparative genomics has revealed a high degree of collinearity between related species, which allows transferability of interspecies and intergenus markers. The aim of this study was to examine the transferability of barley microsatellite markers among species of *Triticum* and *Aegilops* genus for determination of their genetic relationships. The experiments were carried out in faculty of agriculture, university of Tabriz, Iran, in 2016. Among 165 evaluated barley microsatellite primer pairs in 40 genotypes from nine species of *Triticum* and *Aegilops* genus, 62 (37.57%) showed successful amplification at least in the genome of one species and 50 (30.3%) were polymorphic. Using 50 polymorphic primer pairs, 223 alleles were amplified and number of alleles varied from 2 to 14 with an average of 4.46. The mean of polymorphic information content and genetic diversity were 0.55 and 0.6, respectively. The studied genotypes were assigned into four groups using Neighbor-Joining clustering algorithm and Guckes Cantor evolutionary distance coefficient. The species of *Triticum* and *Aegilops* genera were grouped separately, and within each genus, grouping was in accordance with their genome structure. In principal coordinate analysis, two first coordinates explained 24.63 and 21.86% of molecular variation, respectively, and distribution of the genotypes based on two first coordinates was in concordance with grouping of cluster analysis. The results indicated that the transferable barley markers could be successfully utilized in wheat and its wild relatives genetics and breeding studies.

Key words: Barley, Genetic diversity, SSR markers, Transferability and Wheat wild relatives.

Received: June, 2019 Accepted: July, 2020

1. Former MSc Student, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Professor, University of Tabriz, and Center of Excellence in Cereals Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran (Corresponding author) (Email: mohammadi@tabrizu.ac.ir)
3. Professor, University of Tabriz, and Center of Excellence in Cereals Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Professor, University of Tabriz, and Center of Excellence in Cereals Molecular Breeding, University of Tabriz, Tabriz, Iran