بررسی تنوع ژنتیکی میان جمعیت هایی از گونه برموس تومنتلوس *Bromus Tomentellus* بر اساس مطالعات الکتروفورز پروتئین کل و بررسی ارتباط آن با عوامل اکولوژیکی

خدابخش جنگلی: دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد ،پروین صالحی شانجانی: استادیار موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور،علی اشرف جعفری: دانشیار موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور

چکیده

این تحقیق به منظورمطالعه تنوع ژنتیکی میان جمعیت هایی از گونه برموس تومنتلوس *BromusTomentellus* بر اساس مطالعات الکتروفورز پروتئین کل و بررسی ارتباط آن با عوامل اکولوژیکی انجام شد.

به این منظور الگوی پروتئینی ۸۰ ژنوتیپ از ۸ جمعیت گونه تومنتلوس برای تعیین میزان تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفت.بر اساس نتایج SDS–PAGE ، ۲۴ باند قابل تکثیر،پپتید پروتئینی برای مطالعه تنوع ژنتیکی ثبت گردید.درصد پلی مورفیسم در کل باندها از ٪۵۲ تا ٪۱۹ متفاوت بود.همبستگی ماتریکس فاصله های ژنتیکی و جغرافیایی به وسیله آزمون منتل ثابت نشد و ضریب همبستگی بین آنها از نظر آماری معنی دار نگردید (P= ۰/۰۰۴۹، R^2=۰/۴۰۰) و این نشان دهنده عدم وجود شیب محیطی در گوناگونی پروتئین های کل است.

از آنجایی که ایران مرکز تنوع گونه های برموس است چنین تنوع بالایی در ویژگی های مختلف این گیاه دور از انتظار نمی باشد.بنابراین در برنامه های اصلاحی بروموس می بایست تنوع ژنتیکی ارقام به وسیله استفاده ازوالدین مختلف افزایش یابد. افزایش اساسی ژنتیکی برای اصلاح بروموس می تواند به وسیله کابرد سیستماتیکی ژرم پلاسم که الگوی پروتئینی متفاوتی داشته و ویژگی های کمی بهتری دارند حاصل شود.

واژه های کلیدی: *BromusTomentellus* ، تنوع ژنتیکی ، الکتروفورز، پروتئین کل ،عوامل اکولوژیکی، SDS -PAGE ،

مقدمه

گیاه *Bromus Tomentellus* دارای ساقه های بسیار پر پشت و ریشه های قوی بوده و از گونه های نسبتاً خوش خوراک و مرغوب مراتع ییلاقی و میان بند است رویش بذر این گونه در سال های خشک نیز به سهولت انجام می شود و کشت آن نیز راحت است. در ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۳۴۰۰ متر از سطح دریا دیده می شود.(کریمی، ۱۳۶۹) عملکرد علوفه این گونه نسبتاً کم است،اما برای ایجاد چراگاههای چندین ساله و اصلاح مراتع کوهستانی مناسب است.(شیدایی و نعمتی ۱۳۵۷)

در یک بررسی به عمل آمده توسط نساج و حیدری (۱۳۷۸) طی یک دوره ده ساله مشاهده شد که بذر های این گونه فاقد دوره خواب بوده و با کاهش قوه نامیه همراه است. بروموس تومنتلوس یکی از گیاهان مقاوم به تنشهای حیاتی و غیر حیاتی می باشد و نقش مهمی در تولید علوفه در مراتع ایران دارد.دستیابی به ارقام سازگار و پر محصول برای مناطق مختلف کشور یکی از راه های جبران کمبود علوفه است.حفاظت و شناخت منابع با ارزش گیاهی برای اصلاح و تولید ارقام پر محصول مهمترین هدفی است که دانشمندان بسیاری را ترغیب به پژوهش بر روی منابع ژنتیکی می کند.تنوع در ژرم پلاسم پایه و اساس اصلاح گیاهی است.ارزیابی و تعیین میزان تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از شاخص های مهم از گزینش ژنوتیپ های مطلوب وانتخاب والدین در برنامه های اصلاحی است(Liوهمکاران،۲۰۰۶).عدم شناخت ویژگی های زراعی، زیستی و بیوشیمیایی،کاربرد ژرم پلاسم را محدود می کند و عدم استفاده از ژرم پلاسم برای اصلاح گیاهان زراعی به معنی اتلاف منابع است.(Ghafor و همکاران ۲۰۰۸).

تکنیک های مولکولی ابزار مهمی برای تنوع ژنتیکی می باشند. از میان آنها مارکر های مولکولی پروتئینی،سدیم دو دسیل سولفات پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز(SDS-PAGE) در مقایسه با مارکر های مولکولی DNA بسیار ارزان هستند. مارکر های مولکولی پروتئینی به علت اعتبار و سهولت در تشریح ساختار زنتیکی ژرم پلاسم گیاهان و حل مسائل تاکسونومیکی و تکاملی آنها بسیار استفاده شده اند.

محققان می توانند به وسیله اطلاعات حاصل از پروتئین ها،ژنوتیپ های برتر را انتخاب کنند تا از آنها به عنوان والدین برای هیبریداسیون و معرفی ارقام جدید استفاده شود. با توجه به کارایی بالا و هزینه پایین این روش و نیز انتشار برخی پژوهش ها از کارایی این روش در مطالعات بین گونه ای بر روی جو وحشی(*Hordeumspontaneum*) توسط NEVO (۱۹۸۳) و *Pisum–Satvium* توسط Ghafoor و همکارانش(۲۰۰۸) و بر روی توت فرنگی (*Fragaria*) توسط *Tomohro Yanagi* و همکاران(۲۰۱۰).

هدف از این تحقیق:

۱ -شناسایی تنوع ژنتیکی و پلی مورفیسم درون گونه ای برموس تومنتلوس بر اساس پروتئین های کل
۲ -شناسایی عوامل اکولوژیکی مرتبط با تنوع ژنتیکی حاصل از الگوی پروتئین کل
۳ -معرفی جمعیت هایی است که تلاقی آنها را می توان به بالاترین میزان هتروزیس رسید.

مواد و روش ها:

۸ جمعیت بروموس تومنتلوس موجود در بانک ژن منابع **طبیعی** برای مطالعه پروتئین کل گیاهک انتخاب شدند(جدول شماره ۱) منشاء و مشخصات جمعیت ها و جدول (شماره ۲) ویژگی های آب و هوایی مناطق جمع آوری این نوع ژنوتیپ ها را نشان می دهند.

در این تحقیق الکتروفورز پروتئین های گل گیاهک به روش SDS- PAGE[1] انجام شد. از ۸۰ ژنوتیپ متعلق به ۸ جمعیت مورد مطالعه(هر جمعیت ۱۰ ژنوتیپ) به میزان یک گیاهک از هر ژنوتیپ جدا گردید.

نمونه ها به نسبت یک گیاهک به ۸۰ میکرولیتر از محلول استخراج (Tris-Hcl یک مولار با۷/۵ =PH ،NA2EDTA یک مولار و ۲- مرکاپتو اتانل٪ ۰/۰۴)به خوبی در هاون سرد همگن شدند.

پس ازده دقیقه سایش، عصاره ها وارد لوله آزمایش شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس عصاره ها جهت صاف کردن با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند.محلول صاف شده رویی، با محلول بافر نمونه(Tris-Hcl نیم مولار با PH=6/8 ، 2% SDS، ۲- مرکاپتواتانل 5%،گلیسرول 1%،برموفنل بلو 0/02%) به نسبت ۱:۱ مخلوط و به میکروتیوپ درب دار آپندروف منتقل و در دستگاه بن ماری در درجه حرارت 95 C° به مدت ۳ دقیقه جوشانده شدند سپس نمونه ها تا زمان مصرف در فریزر در دمای 20 C°- نگهداری گردیدند.

۳۰ میکرولیتر از هر نمونه بر روی ژل سدیم دو دسیل سولفات پلی اکریل آمید(Leammli ،۱۹۷۰) بارگیری گردید.ژلها پس از انجام الکتروفورز به مدت ۳۰ دقیقه داخل محلول تثبیت(شامل ۲۰ گرم تری کلرواستیک اسید در ۱۰۰ میلی لیتر آب) قرار گرفت سپس به مدت ۴ ساعت در محلول رنگ آمیزی(کماسی بلو٪۲۵، متانل ٪۲۵ و اسید استیک 10%) رنگ آمیزی شدند. در نهایت ژل جهت امکان وضوح باند های پروتئین به مدت ۱۲ ساعت در دو مرحله در محلول رنگ بر (متانل ٪۲۵ و اسید استیک ٪۱۰) قرار گرفت. دستگاه مولد برق با ولتاژ ۱۸۰ ولت و شدت جریان ۴۰ میلی آمپر تنظیم شد. زمان جداسازی پروتئین حدود ۵ ساعت و میزان حرکت عصاره در ژل ۱۰ سانتی متر بود.

[1] - سدیم دو دسیل سولفات ژل پلی اکریل امید

اطلاعات حاصل از پروتئین های کل گیاهک به صورت باندهای مجزای پروتئینی برای ژنوتیپ های مختلف بر روی صحفه ژل پلی آکریل آمید نمایان گردید.

جایگاه هر یک از این باند ها بر روی ژل از طریق حرکت نسبی (Relation Mobility) آنها مشخص و به صورت اعداد کمی بیان گردد.براساس وجود هر باند(عدد یک) و عدم وجود هر باند(عدد صفر) در فواصل مختلف نسبت به تشکیل ماتریکس داده ها اقدام گردید. فراوانی باندها، با نرم افزار NTSYS-PC، (Rohlf ،۲۰۰۴) محاسبه شد.

تسهیم گوناگونی ژنتیکی درون و میان گروهی توسط آزمون واریانس مولکولی AMVOA[۱] (Excoffier و همکاران،۱۹۹۲) و برنامه نرم افزاری ARLEQUIN1/1 (Schnieder و همکارن،۱۹۹۷)تعیین شد.اهمیت هر جزء واریانس با آزمورن Permutation (Excoffier و همکاران ،۱۹۹۲) مطالعه شد.فاصله ژنتیکی میان جمعیت ها بر اساس معادل نی (Nei،۱۹۷۸) بر آورد شد. از آزمون UPGMA[۲] با نرم افزار NTSYS–PC (Rohif،۲۰۰۴) برای تفسیر ماتریکس فاصله ژنتیکی استفاده شد.برای بررسی رابطه بین عوامل ژنتیکی و اکولوژیکی از نرم افزار SPSS و معادله کارل - پیرسون استفاده گردید. برای بررسی همبستگی فاصله صفات با یکدیگر از تست منتل Mantel ۱۹۶۷) استفاده شد.

نتایج :

در این تحقیق الگوی پروتئینی ۸ جمعیت بروموس تومنتلوس برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفت.تعداد ۲۴ باند در ۸ جمعیت مورد مطالعه مشاهده گردید مقایسه تعداد باند در میان جمعیت های مختلف نشان می دهد که بیشترین تعداد باند پروتئینی مربوط به جمعیت های تهران،کرج(۲) و شهرکرد(با ۲۴ باند)،کرج (۱) با(۲۱باند) و بروجن و خرم آباد(با ۲۰ باند) و کمترین تعداد مربوط به جمعیت زنجان با (۱۱ باند) می باشد. برای جمعیت های تهران و کرج (۲) به ترتیب ۲ و ۱ باند نادر مشاهده گردید(شکل ۱) و (جدول ۳).

میانگین تعداد باند با فراوانی ٪ ۲۵در تهران،کرج(۱) ، کرج (۲) و خرم آباد به ترتیب ۲،۱،۱،۱ می باشد. تعداد باند با فراوانی ۵۰ درصد در جمعیت های تهران ،کرج (۱) ،کرج (۲) ،شهرکرد و خرم آباد به ترتیب ۴،۱،۳،۵،۱ باند مشاهده گردید و برای جمعیت های زنجان،بروجن و سنندج هیچ باندی با فراوانی ٪۵۰ درصد مشاهده نگردید(جدول ۳).

نتایج نشان می دهند که بیشترین درصد پلی مورفیسم باندهای مربوط به جمعبت های تهران و شهر کرد (٪۵۲) و کمترین درصد پلی مورفیسم باند ها مربوط به زنجان (٪۱۹) میباشد. اگر چه باند های پروتئینی مشترک زیادی داخل جمعیت های مذکور وجود داشت اما باند های اختصاصی نیز مشاهده شد که خاص هر جمعیت بودند.

۲- Analysis Of Molecular Variance
۲- Unweighted Pair Grop Method With Arithmetic Avraging

برای تشریح الگوی تمایز،فاصله ژنتیکی بین جمعیت ها بر اساس بر آورد Unbiased[1] فاصله ژنتیکی Nei در جمعیت های بروموس تومنتلوس مناطق مختلف محاسبه شد(جدول ۴) مقدار فاصله ژنتیکی از۰/۰۳۶ (بین جمعیت های خرم آباد و کرج (۱) تا ۰/۳۱۲ (بین جمعیت های زنجان و کرج(۲) با میانگین ۰/۰۸۰٪ متغیر بود.

بیشترین فاصله ۰/۳۱۲ بین جمعیت زنجان و کرج (۲) و کمترین فاصله ۰/۰۳۶ بیم خرم آباد و کرج (۱) بود.روابط ژنتیکی ۸ جمعیت بروموس تومنتلوس بر اساس روش Neighbor- Joining شکل (۲) نشان داده شده است.نمودار تشکیل شده نشان دهنده تطابق نسبی ژنتیکی با فاصله جغرافیایی است.

در همین ارتباط ضرایب همبستگی جفت ماتریکس های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت های تومنتلوس با استفاده از آزمون منتل محاسبه شد. همبستگی بین ماتریکس های فاصله ژنوتیپ های مناطق مختلف جغرافیایی از لحاظ آماری معنی دار نبود(R^2=۰ /۴۰۰ P =۰ /۰۰۴۹)پس در نتیجه گیری کلی مشخص می شود که رابطه جغرافیایی با ویژگی های باند های پروتئین های کل گیاهک مناطق مختلف به وسیله آزمون منتل ثابت نشد(شکل ۳).

نتیجه تجزیه واریانس مولکولی AMOVA نیز سطح نسبتاً بالایی از تمایز ژنتیکی در درون جمعیت ها ٪۶۸ و میان جمعیت ٪۳۲ رانشان داد (جدول ۵) و (شکل ۴).

تجزیه و تحلیل رابطه پیرسون نشان داد که بین ۶ شاخص پارامترهای تنوع ژنتیکی جمعیت های مختلف و عوامل اقلیمی رابطه زیادی وجود نداشت و هیچ رابطه ای بین ارتفاع از سطح دریا و پارامترهای تنوع ژنتیکی مورد بررسی وجود نداشت .

بحث:

در این پژوهش گوناگونی ژنتیکی جمعیت های مختلف بروموس تومنتلوس به عنوان ضرورتی اجتناب ناپذیر برای برنامه های اصلاحی مورد مطالعه گردید. نتایج،حاکی از از وجود تنوع ژنتیکی قابل ملاحضه ای در بین جمعیت های مختلف این گونه است.بر اساس یافته های Gradiner و Forde(۱۹۸۸) اختلاف موجود درفراوانی باند ها در افراد و به تبع آن جمعیت های مختلف ناشی از تفاوت در تعداد ژنهای کد کننده پروتئین هاست.چنین مقادیری از گوناگونی در پروتئین ها،قابل مقایسه با نتایج Emre و همکاران (۲۰۰۷) است که تنوع ژنتیکی ۸ گونه از اسپرس را در ترکیه مطالعه نموده اند است. و بنابراین در برنامه دهای اصلاحی باید تنوع ژنتیکی ارقام به وسیله استفاده از والدین مختلف افزایش یابد.

[1]- نااریب

تسهیم گوناگونی ژنتیکی درون و میان جمعیتی توسط آزمون واریانس مولکولی AMOVA، سطح نسبتاً بالایی از گوناگونی ژنتیکی را در درون جمعیت ها 68% و در میان جمعیت ها 32% بر آورد نمود. ایمانی (۱۳۸۷) در بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت های Festuca arundinacea نشان داد که تنوع ژنتیکی درون جمعیت ها بیش از تنوع میان جمعیت های مورد مطالعه می باشد.

صالحی شانجانی (۱۳۸۶) در تجزیه واریانس مولکولی AMOVA درختان خوش فرم و بد فرم راش سطح نسبتاً بالایی از تمایز در میان گروه های بد فرم و خوش فرم(حدود ۱۹٪ و در میان گروهای مختلف (حدود۴۲٪) را مشاهده نمود.

بنابراین اختصاص الگوی پروتئینی خاصی به هر یک از جمعیت ها و یا برخی جمعیت ها امکان پذیر نگردید. شناسایی جمعیت ها و اختصاص الگوی پروتئینی خاص به ارقام مختلف گیاهی موضوعی است که بر اساس نوع گونه نتایج ضد نقیضی در مورد آن منتشرگردیده است.

الگوی پروتئینی گیاهان بسیاری تا کنون با اهدافی مثل مطالعه تنوع ژنتیکی و شناسایی ارقام زراعی مطالعه شده است که می توان برای نمونه از مطالعاتی که بر روی ارقام پنبه (Naveed و همکاران ،۲۰۰۵)و گونه *Pisum–Satvium* ،(Nisar و همکاران، ۲۰۰۶) و گونه *Bromus Inermis* (محمدی وهمکاران، ۱۳۸۵) و گونه *Dactylis Glomerata* (کوهی،۱۳۸۹) و ارقام اسپرس (قره چاهی،۱۳۸۹) و گونه *Bromus Tomentellus* (مداح عارفی و همکاران ۱۳۸۰) وگونه زیره سیاه Bunium Persicun B (دهقان کوهستانی و همکاران ۱۳۸۷)و گونه Hyosyamus niger L (یوسفی وهمکاران ۱۳۸۸) انجام شده را نام برد که عموماً حاکی از کاربرد بالای مارکر پروتئین در شناسایی گونه ها و ارقام مختلف یک گونه است. از آنجا که جمعیت های مورد مطالعه اختلاف قابل ملاحضه ای از نظر پروتئین کل نشان دادند، پیدا کردن ارتباط بین منشأ جمعیت ها و الگوی گروه بندی، بسیار دشوار بود. به طوری که ساختار جغرافیایی در ویژگی های باند های پروتئین های گیاهک مناطق مختلف به وسیله آزمون منتل مشاهده نگردید و ضریب همبستگی بین ماتریکس های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی از نظر آماری معنی دار نگردید ((R^2= ۰/۴۰۰P=۰/۰۰۴۹). عدم وجود ارتباط بین تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی در گیاهان مختلفی گزارش شده است(Malik و همکارن،۲۰۰۹)،(Javaid و همکاران ،۲۰۰۴). با توجه به این واقعیت که در بسیاری از گیاهان گوناگونی پروتئین ها ارتباطی با توزیع جغرافیایی و عوامل اکولوژیکی نشان نمی دهند، پس این مارکر می تواند ابزار مفیدی برای شناسایی جمعیت های مناسب برای انجام دو رگ گیری باشد. زیرا تاکنون مطالعات بسیاری صورت گرفته تا مارکر های مناسبی برای گیاهان مختلف شناسایی گردد که تحت تأثیر عوامل محیطی نباشند.البته وجود گوناگونی بالا نیز از شروط مهم دیگر کارایی چنین مارکری است به طوری کهDe Masi وهمکاران (۲۰۰۶) با مطالعه بر روی گیاه ریحان با استفاده از نشانگر RAPD. گزارش دادند که ارتباط ضعیفی بین پراکنش جغرافیایی و گروه بندی حاصل از مطالعات ژنتیکی در بین جمعیت های مورد مطالعه وجود دارد.بر اساس این مشاهدات آنها الگوهای پروتئینی را صرفاً مارکر مناسبی برای مطالعه میان گونه ای پیشنهاد نمودند. در حالی که با توجه به تنوع ژنتیکی قابل ملاحضه ای

که در جمعیت های مورد مطالعه بروموس تومنتلوس مشاهده شد می توان بر اساس نتایج پژوهش حاضر ممتازترین جمعیت ها را انتخاب نمود تا به وسیله تلاقی بین آنها بیشترین میزان هتروزیس حاصل گردد.بدین ترتیب جمعیت های زنجان و کرج (۲) نه تنها بیشترین فاصله ژنتیکی را در میان ۸ جمعیت مورد مطالعه دارند بلکه وجود باند نادر میتواند برای ایجاد دو رگی که از پتانسیل تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار باشد، برای دو رگ گیری و ایجاد هتروزیسی معرفی گردند .

منابع:

1- ایمانی،ع.آ.،۱۳۸۷.بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت هایFestuca arundinacea بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی ومولکولی (RAPD).رساله دکتری تخصصی اصلاح نباتات .دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران.

2-دهقان کوهستانی،س.،۱۳۸۷.بررسی تنوع ژنتیکی وشیمیایی ژرم پلاسم زیره سیاه Bunium Persicun B با استفاده نشانگر مولکولی RAPD وروش کروماتوگرافی گازی .پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی ،دانشکده کشاورزی ،دانشگاه مازندران.

3- شیدایی، گ.،ن. نعمتی .۱۳۷۵. مرتعداری نوین و تولید علوفه در ایران ، انتشارات سازمان جنگل ها و مراتع کشور ، وزارت عمران و روستایی .

4- صالحی شانجانی ، پ. ،م. عصاره .۱۳۸۶. بررسی نقش عوامل ژنتیکی در فرم ظاهری درختان راش استان های گیلان ،مازندران و گلستان ،گزارش نهایی طرح تحقیقات موسسه تحقیقاتی جنگل ها و مراتع کشور شماره ۰۵-۰۳۱۰۱۲۹۱۰۰-۸۲ .

5- قره چاهی،م . ۱۳۸۹ . بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های گونه اسپرس توسط پروتئین های کل، پایان نامه کارشناسی ارشد ، دانشگاه پیام نور کرج.

6- کریمی ، ز. ۱۳۶۹ . بررسی بیوسیستماتیک گونه *B.Tomentellus* از برخی رویشگاه های ایران ،دانشگاه اصفهان .

7- کوهی ، ل . ۱۳۸۹ بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های گونه علف باغ *D.Glomerata.* توسط پروتئین های کل ، پایان نامه کارشناسی ارشد ، دانشگاه پیام نور کرج .

8- محمدی ،ر. ، م . خیام نکویی ،و ا. ف. میر لوحی . ۱۳۸۵ . بررسی تنوع ژنیکی در جمعیت های مختلف گونه علوفه ای *B.Inermis* تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ، موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور ، جلد۱۴، شماره ۳ ، ص ۱۴۷ – ۱۳۸ .

9- مداح عارفی ، ح ، ،. ن. عبدی . ۱۳۸۰ . بررسی تنوع و روند زوال ژرم پلاسم گونه *B. Tometellou* موجود در بانک ژن منابع طبیعی ، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ، موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور ،جلد ۷ ، ص۲۵-۲

10- نساج ، ف ،. ح. حیدری شریف آبادی .۱۳۷۸ . تاثیر زمان روی قوه رویانی بذر های گیاهان مهم مرتعی ، تحقیقات مرتع و بیابان ،انتشارات موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور ،جلد ۱ ، شماره ۲۱۸ ، ص ۱۰۲-۱.

11- یوسفی هریکنلده ئی ،م.ج.،م.حسنی،ح.،مداح عارفی.،۱۳۸۸ بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده های بنگ دانه Hyosyamus niger L ایران با استفاده از نشانگر های مولکولی.تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی وجنگلی ایران .۱۷: ۱۴-۱.

12-De Maesi,L.,Esposito,C.,Castaldo,D.,Siano,F.,2006.Assessment of agronomic,chemical and genetic variability in common basil . Erupean food Reserch and Technology.223:273-281.

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

14-Emre, I., Turgut- Balik , D ., Saliin, Kursat, M .2007 .total electrophoretic band patterns of some *Onobrychis* Spcies growing In Turkey. Amrican-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Scinence, 2(2):123-126.

15-Gardiner , S.E .and Forde , M.B., 1988 . Identification of cultivars and species of pasture Legumes by sodium dodecyl sulpate polyacrylamide gel genetic diversity In Blank gram (*Vigna Mungo L* Hepper). Field Crops Research , 69:183-190.

16-Ghafoor , A and Arshad, M ., 2008.Seed protein profiling of *Pisum Sativum* (L) germplasm using sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS- PAGE) For investigation of biodiversity. Pakistan Journal of Botany , 40: 2315-2321.

17-Javaid,A.,Ghafoor, and Anwar, R., 2004 seed storage protein electrophoresis In grouhnut for evaluating geneting diversity . Pakistan Journal of Botany 30(1):25- 29.

18-Li.J.J.,Pei G.L.,pang H.X.,and T ao S.H.,2006. A new method For RAPD primers selection based on primers bias in nucleotide sequence data.Journal of Biotechnology,126.415-423.

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

20-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.

21-Nei , M.1978.Estimation of eaverage hetrozygosity and genetic distance from a small number of individuals.Genetics, 89:583-590

22-Naveed,M.,Motomitsu,K.and Ghulam,M.A.,2005.Geneteic Differentiation Of Cotton Cultivars by polyacrylamide gel electrophoresis.Centeral European Agriculture.6(1):69-76.

23-Nisar,M.,Ghafoor,A.,Rashid Khan,M.and Sharif Qureshif , A., 2006 . Screening of Pisum Sativum L . Germplasm Against Erysiphe Pisi Syd . Acta Biologica Cracoviensia Series Botanisa,48(2):33-37

24-Tomohiro Yanagi. Kim E .Hummer,Takashi Iwata,2010.Aneupload Strawberry was developed from homozygous unreduced gameate produced by second division restitution in Pollen.Scientia Horticulture,Volume 125,Issue 2 ,Pages 123-128.

جدول ۱- منشاء و مشخصات و کد اختصاری جمعیت های گونه بروموس تومنتلوس(Bromus tomentellus)

نام گونه	ردیف	کد بانک ژن	محل جمع‌آوری	علامت اختصاری به فارسی	علامت اختصاری به انگلیسی
B.tomentellus	۱	۹۲	تهران	تهران	Tehran
B.tomentellus	۲	۱۱۴	کرج	کرج۱	Karaj1
B.tomentellus	۳	۴۹۰	زنجان	زنجان	Zanjan
B.tomentellus	۴	۶۳۰	سنندج	سنندج	Sanandaj
B.tomentellus	۵	۲۹۹۷	کرج	کرج۲	Karaj2
B.tomentellus	۶	۳۴۱۴	شهرکرد	شهرکرد	Shahrekord
B.tomentellus	۹	۴۵۳۶	خرم آباد	خرم آباد	Khoramabad
B.tomentellus	۱۰	۶۹۹۶	بروجن	بروجن	Brojen

جدول ۲- برخی ویژگیهای منطقه ای و آب هوایی جمعیت های مورد مطالعه بارندگی بر حسب میلیمتر ، دما بر حسب درجه سانتی گراد (از سال ۱۹۹۸-۲۰۰۷).

نام جمعیت	میانیگین سالیلنه بارندگی	میانگین ماهیانه بارندگی	میانگین کل میزان بارندگی در دوره ۱۰ ساله	میانگین بیشینه دما	میانگین کمینه دما	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
تهران	۳۲۸/57	۲۷/۳۸	۳۲۸۵/۷	۲۵	۸	۵۱/۴	۳۵/۶۸	۱۱۰۰
کرج	۲۷۰/۹۷	۲۲/۵۳	۲۷۰۹/۷	18/4	۵/۶۳	۵۱	۸۱/۳۵	۱۳۶۰
زنجان	۳۱۰/۱۲	۲۴/۱۲	۳۱۰۱	۱۹۲۰	۸/۸	۴۸/۴۶	۳۶/۶۶	۱۶۵۰
شهرکرد	۳۷۰/۸	۳۰/۹	۳۷۰۸	۲۰/۳۱	۲/۸۱	۵۰/۸۱	۳۲/۳۲	۲۰۷۰
بروجن	۳۰۸/۲	۲۵/۶۸	۳۰۸۲	۱۱۲۶	۷/۰۵	۵۱/۲۸	۳۲	۲۱۰۰
خرم آباد	۵۲۵/۶	۴۳/۸	۵۲۵۶	۲۵/۴	۹/۱۸	۴۸/۳۵	۳۳/۴۸	۱۱۴۷
سنندج	۳۳۰	۲۷/۵	۳۳۰۰	۲۲/۵	۶/۶۶	۴۷	۳۵/۳۲	۱۴۵۰

جدول ۳- مقادیر هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی ۸ جمعیت گونه بروموس بروموس تومنتلوس مورد مطالعه بر اساس پروتئین های کل گیاهک

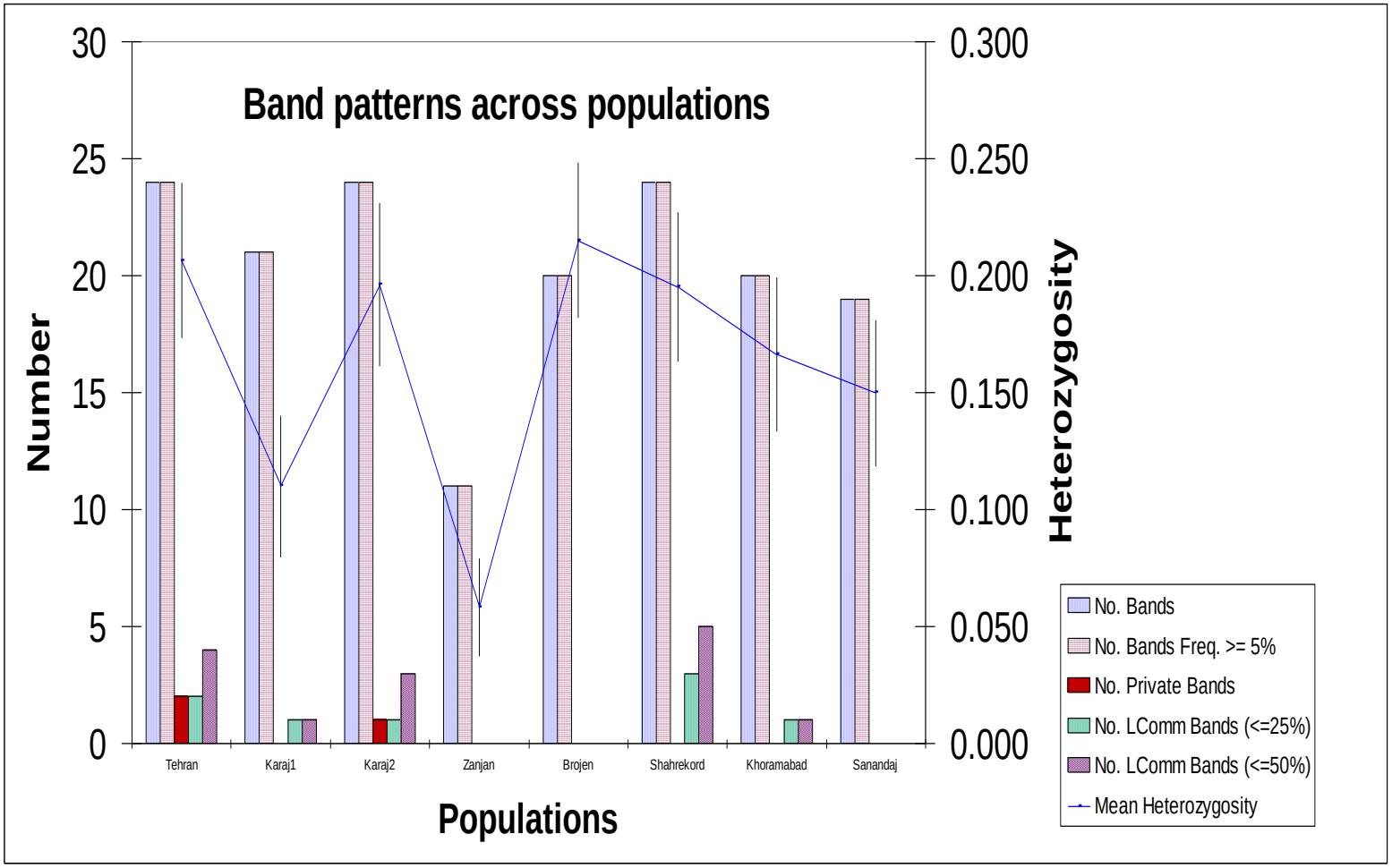
جمعیت ها	تهران	کرج۱	کرج ۲	زنجان	بروجن	شهرکرد	خرم آباد	سنندج
میانگین تعداد باند	۲۴	۲۱	۲۴	۱۱	۲۰	۲۴	۲۰	۱۹
میانگین تعداد باند با فراوانی بیشتر٪ ۵ در لوکوس	۲۴	۲۱	۲۴	۱۱	۲۰	۲۴	۲۰	۱۹
تعداد باند نادر	۲	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰
میانگین تعداد باند با فراوانی کمتر از ٪ ۲۵در لوکوس	۲	۱	۱	۰	۰	۰	۱	۰
میانگین تعداد باند با فراوانی کمتر از ٪۵۰	۴	۱	۳	۰	۰	۵	۱	۰
هتروزیگوسیتی	/۲۰۶	۰/۱۲۳	/۲۰۰	/۰۵۸	۰/۱۴۳	۰/۱۹۵	۰/۱۶۶	۰/۱۵۰
خطای معیار	۰/۰۳۳	/۰۳۱	/۰۳۵	/۰۲۱	۰/۰۳۳	۰/۰۳۲	۰/۰۳۳	۰/۰۳۱

جدول ۴- ماتریکس برآورد نااریب فاصله ژنتیکی ۸ جمعیت بروموس تومنتلوس براساس پروتئین های کل گیاهک

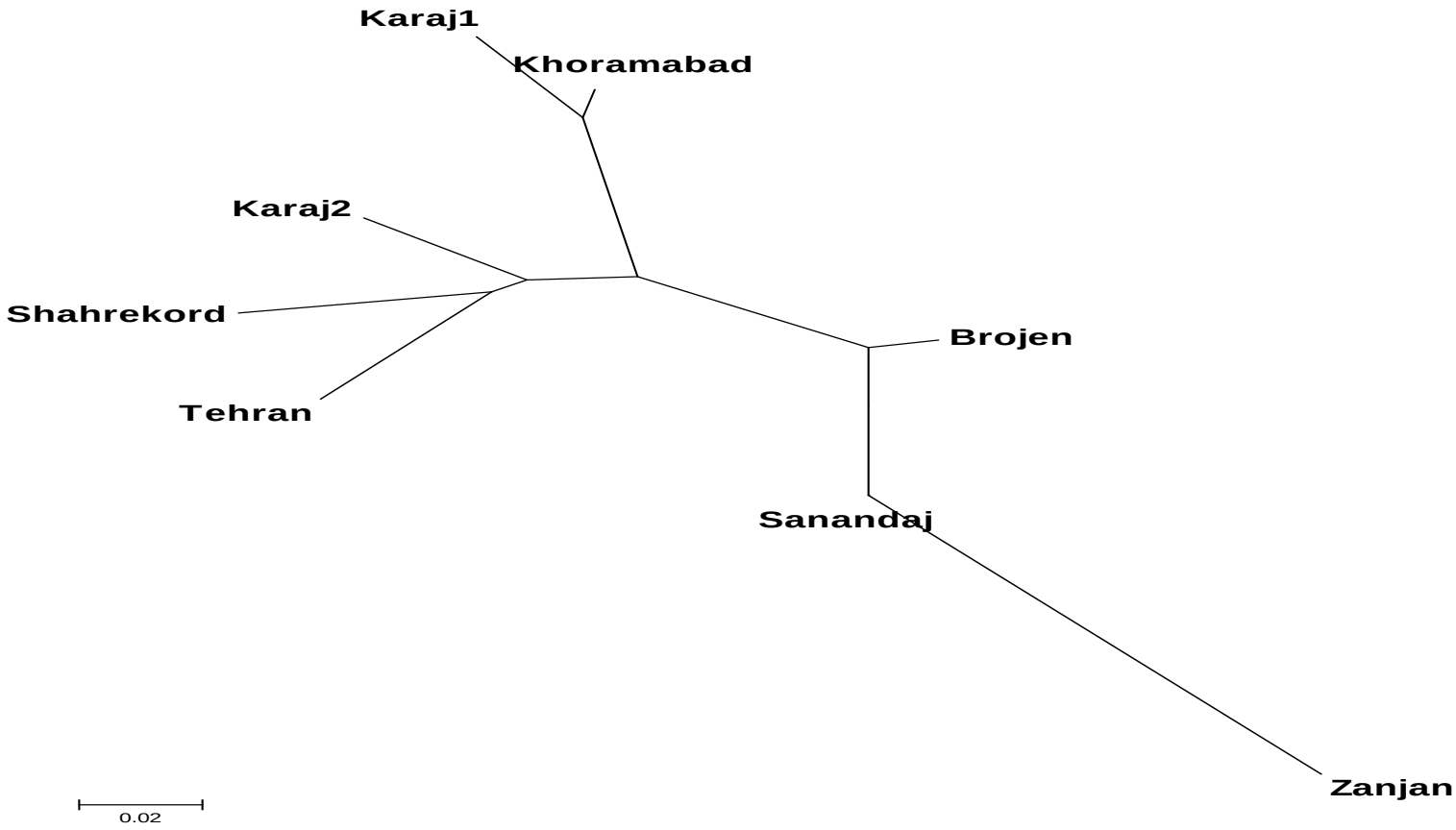
جمعیت ها	تهران	کرج۱	کرج ۲	زنجان	بروجن	شهرکرد	خرم آباد	سنندج
تهران	۰							
کرج۱	۰/۱۵۳	۰						
کرج۲	۰/۰۸۴	۰/۰۹۹	۰					
زنجان	۰/۲۲۰	۰/۲۶۳	۰/۳۱۲	۰				
بروجن	۰/۱۱۷	۰/۱۰۵	۰/۰۹۴	۰/۱۵۴	۰			
شهرکرد	۰/۰۸۲	۰/۱۶۳	۰/۰۷۴	۰/۲۲۴	۰/۱۳۷	۰		
خرم آباد	۰/۱۱۴	۰/۰۳۶	۰/۰۸۴	۰/۲۴۱	۰/۱۱۵	۰/۱۲۳	۰	
سنندج	۰/۱۰۱	۰/۱۴۷	۰/۱۴۲	۰/۰۹۰	۰/۰۴۰	۰/۱۱۶	۰/۱۳۵	۰

جدول ۵ – AMOVA داده های پروتئین گیاهک 8 جمعیت بروموس تومنتلوس براساس پروتئین های کل گیاهک

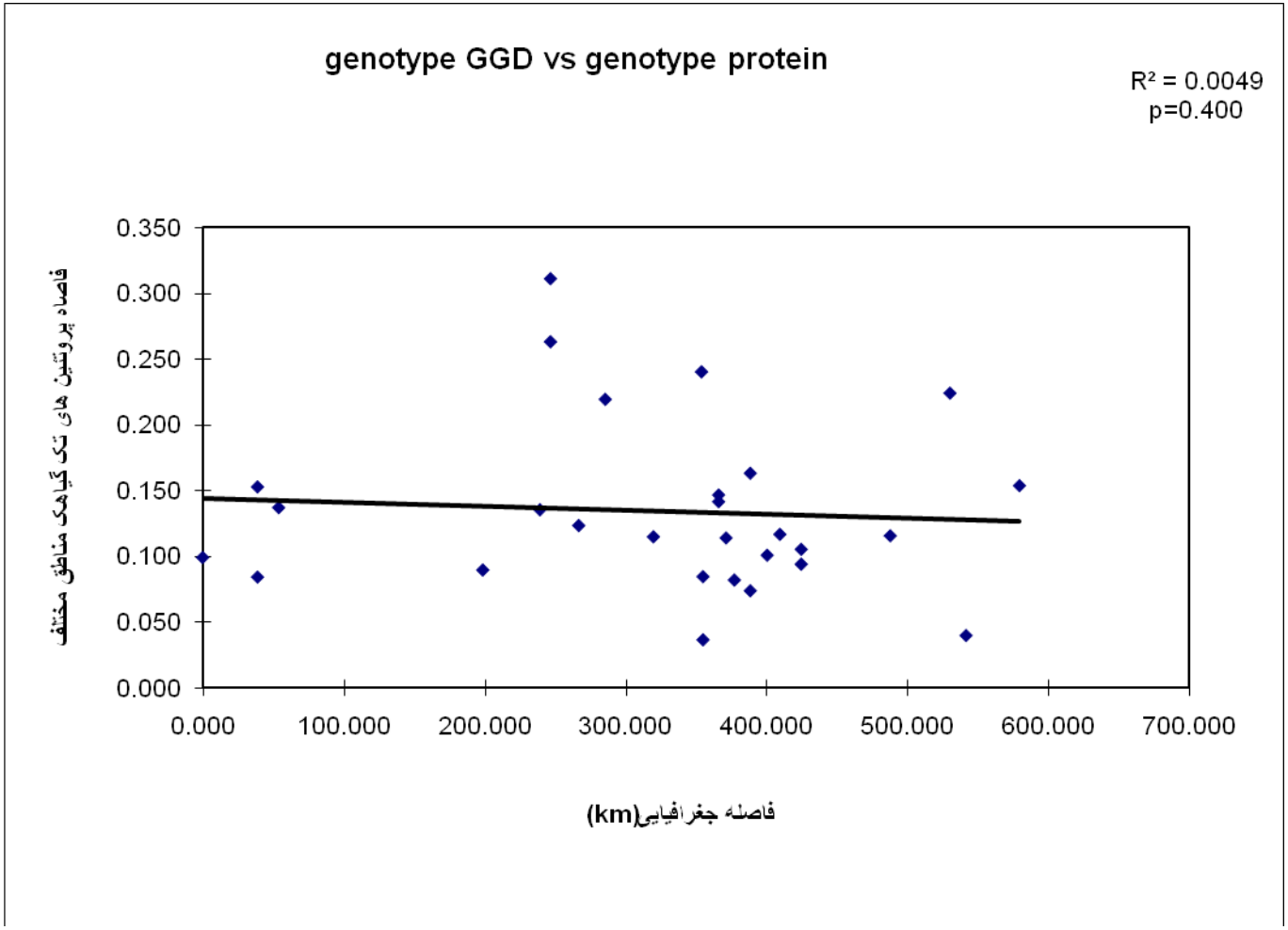
منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات	درصد واریانس	احتمال
میان جمعیت	۷	۱۳۲/۳۸۳	۱۸/۹۱۲	۱/۶۹۸	۳۲	۰/۰۱
درون جمعیت	۶۴	۲۳۵/۴۶۴	۳/۶۷۹	۳/۶۷۹	۶۸	۰/۰۱
کل	۷۱	۳۶۷/۸۴۷	۲۲/۵۹۱	۵/۳۷۷		۰/۰۱



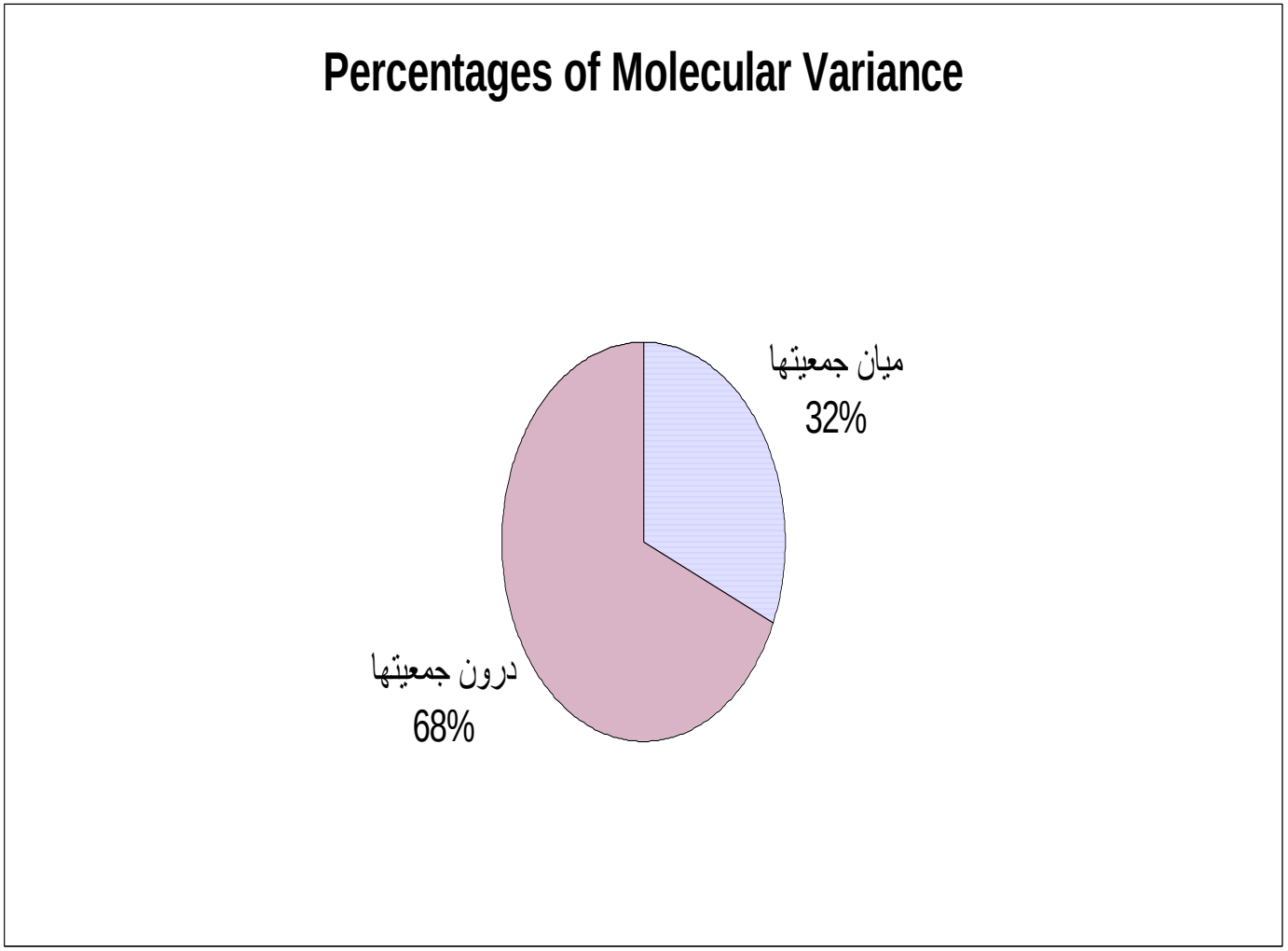
شکل ۱- مقایسه میانگین مقادیر تنوع ژنتیکی ۸ جمعیت داخلی بروموس تومنتلوس براساس پروتئین های کل



شکل ۲- دندروگرام ۸ جمعیت گونه بروموس تومنتلوس حاصل از مقادیر داده های فاصله ژنتیکی به روش *joining – Neigjbor*



شکل۳- لگراتیم ضریب همبستگی بین ماتریکس های فاصله ژنتیکی پروتئین هدای تک گیاهدک مناطق مختاف بروموس تومنلوس با فاصله جغرافیایی



شکل ۴- نمودار تجزیه واریانس مولکولی *AM* داده های گونه بروموس تومنتلوس

Evaluation of genetic diversity among populations of species based on studies of protein electrophoresis BromusTomentellus whole of its relationship with ecological factors

K .Jangali[1], P. Salehi[2] and A.A. Jafari[3]

[1.] Postgraduate student of Islamic Azad University, Brojerd branch, Brojerd
[2 & 3] Assis Prof and Assost Prof of Research Institute of forests and rangelands, Iran

Abstract:

The study of genetic diversity among populations of the species *BromusTomentellus* total protein electrophoresis studies were performed and evaluated its relationship with ecological factors .

For this purpose, the protein patterns of 80 genotypes from eight species *BromusTomentellus* determine the genetic diversity was studied. The results of SDS-PAGE, 24 bands could be amplified, protein peptide to study genetic diversity were recorded. The percentage of polymorphic bands in total varied from 52 %to 19%. Correlation between genetic and geographic distance matrix by the Mantel test did not prove statistically significant correlation was found between them (P = ۰/ 400, R ^ 2 =۰/ 0049) and this shows The slope of the total environment in various proteins .

As Iran is the centre of diversity of Bromus *Tomentellus*, high variation of various parameters is expected. it is suggested that the genetic base of cultivated *Bromus Tomentellus* shoud be broadened by involving diverse parents in the breeding programme.

Modification of the genetic basis for the application and systematic *BromusTomentellus* can have different protein patterns and characteristics of germplasm, which is slightly better results .

Keyword: *BromusTomentellus*, genetic variation, electrophoresis, total protein, ecological factors, SDS - PAGE,