

ارزیابی کارایی نشانگر مولکولی SCoT در بررسی روابط ژنتیکی میان گونه‌های دیپلوئید

جنس *Triticum* و *Aegilops*علی اشرف مهربانی^{۱*} و هومن شیروانی^۲^۱ ایران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، بخش تحقیقات منابع طبیعی^۲ ایران، ایلام، دانشگاه ایلام، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۷

چکیده

تنوع و روابط ژنتیکی ۲۵ جمعیت از پنج گونه دیپلوئید جنس‌های *Triticum* و *Aegilops* با استفاده از ۱۵ آغازگر SCoT مورد بررسی قرار گرفت که ۱۲ آغازگر دارای باندهای قابل امتیاز بودند. بر اساس پارامترهای نشانگری RP، PIC، EMR و MI آغازگرهای SC6، SC11، SC63 و SC20 که میزان بالایی را نشان دادند، برای آنالیز مجموعه ژرم پلاسم گونه‌های *Aegilops* و *Triticum* در تحقیقات بعدی معرفی گردیدند. فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب فاصله جاکارد نشان داد که میانگین فاصله بین جمعیت‌ها ۰/۳۰۷ و متوسط فاصله بین گونه‌ای نیز ۰/۶۳۶ بود. همچنین دو زیرگونه *Ae. tauschii* و *Ae. strangulate* که هر دو دارای ژنوم D هستند کمترین فاصله را با یکدیگر داشتند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA براساس ضریب فاصله جاکارد نشان داد که جمعیت‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند به طوری که گونه‌ها بصورت صد در صد از یکدیگر تفکیک شدند که نشان‌دهنده کارایی بالای نشانگر مورد استفاده می‌باشد، این نتایج با نتایج حاصل از ماتریس فاصله و تجزیه به مختصات اصلی صد در صد مطابقت داشت. آنالیز شاخص‌های ژنتیکی برای گونه‌های مورد بررسی نشان داد بیشترین تنوع درون جمعیتی و تنوع ژنی مربوط گونه *Ae. tauschii* بود. همچنین بیشترین میزان پلی مورفیسم نیز در بین جمعیت‌های این گونه مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، *Triticum Aegilops*

*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۴۹۴۶۴۸۸، پست الکترونیکی: alia.mehrabi@yahoo.com

مقدمه

گونه‌های جنس *Aegilops* در شمال غربی و مرکز آسیا، در ایران و سرتاسر دریای مدیترانه پراکنده شده‌اند (۱۵). اطلاعات در مورد تنوع ژنتیکی گیاه برای توسعه استراتژی‌های مناسب در زیست‌شناسی حفاظتی و همچنین در بسیاری دیگر از زمینه‌های کاربردی ضروری است. از نقطه نظر اساس تکاملی، تنوع ژنتیکی به عنوان پتانسیل تکاملی یک گونه، حیاتی و مهم می‌باشد. فیلوژنتیک مولکولی و تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی می‌تواند به روشن شدن وضعیت طبقه‌بندی و روابط تکاملی بین گونه‌های

طایفه تریتیه یکی از مهمترین قبیله‌های خانواده پواسه (Poaceae) می‌باشد، که از نظر اقتصادی مهمترین غلات در این قبیله قرار دارند (۵). آزیلوپس‌ها از خویشاوندان نزدیک گندم بوده و از اجداد وحشی گندم محسوب می‌شوند، که منابع ژنتیکی بی نظیری برای اصلاح گندم بوده و بهره‌برداری از آنها در اصلاح نباتات موجب بهبود کمیت و کیفیت ارقام زراعی خواهد شد (۱۰). این جنس بیش از ۲۰ گونه یکساله را شامل شده که به عنوان خزانه ژنی ثانویه برای گندم محسوب می‌گردد (۲۶ و ۳۱).

نشانگر به اطلاع از توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست (۶). لذا هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین گونه‌ای برای سه گونه دیپلوئید جنس *Aegilops* (ژنوم D و U) به همراه دو گونه دیپلوئید جنس *Triticum* (ژنوم A) با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT می‌باشد. همچنین از آنجایی که این نشانگر تنوع را براساس مناطق ژنی نشان می‌دهد (تکثیر نواحی با کدون آغاز)، استفاده از نتایج این تحقیق برای تلاقی نمونه‌ها در جهت اصلاح و رانش ژنی می‌تواند مفید باشد.

مواد و روشها

به منظور ارزیابی روابط بین گونه‌ای برخی گونه‌های دیپلوئید و نیای وحشی گندم، تعداد ۲۵ جمعیت از ۵ گونه با توجه به بذرها موجود در بانک ژن دانشگاه ایلام انتخاب شد. مشخصات مواد ژنتیکی مورد مطالعه، با ذکر کد بانک ژن، منشاء و کد جمعیت در جدول ۱ نشان داده شده است.

استخراج DNA به روش CTAB تغییر یافته (۷) برای هر جمعیت انجام گرفت. بعد از انتقال ۲۰ تا ۵۰ میلی‌گرم نمونه خرد شده با ازت مایع به تیوب، ۸۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج (۴ گرم CTAB، ۱۶/۳۶ گرم NaCl، ۳/۱۵ گرم Tris-HCl، ۱/۴۸ گرم EDTA، ۴۰۰ میکرولیتر β -mercaptoethanol در pH=۸ به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر) به تیوب‌ها اضافه شد و به مدت یک ساعت نمونه‌ها در حمام آبی با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس به هر نمونه مقدار ۸۰۰ میکرولیتر محلول کلروفرم-ایزوامیل الکل (۲۴:۱) اضافه گردید و به مدت ۲۰ دقیقه خوب بهم زده شد تا محلول داخل تیوب یکنواخت شود. پس از آن نمونه‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ و فاز روایی به یک تیوب تمیز منتقل گردید و به هر تیوب مقدار ۶۰۰ میکرولیتر محلول ایزوپروپانول سرد اضافه و به مدت یک ساعت در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

زراعی و خویشاوندان وحشی آنها کمک کند. همچنین می‌توانید جهت برنامه‌ریزی دقیق استراتژی‌های مدیریت ژرم پلاسما و جلوگیری از ایجاد اشتباه به‌طور موثر کمک نماید (۲۳). خویشاوندان وحشی محصولات زراعی یک منبع بالقوه مفید و با ارزش تنوع ژنتیکی هستند که اخیراً توجه به‌نژادگران را به خود جلب نموده‌اند و حتی برخی معتقدند که موفقیت آینده اصلاح نباتات در استفاده از منابع ژنتیکی وحشی نهفته است (۱۲). به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی انواع مختلفی از سیستم‌های نشانگری توسط به‌نژادگران گیاهی استفاده می‌شود که از جمله آن‌ها می‌توان به نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی شامل بیوشیمیایی و DNA اشاره کرد (۲۹). نشانگرهای مولکولی DNA بر اساس شناسایی چندشکلی در توالی DNA بوده که تحت تأثیر شرایط محیطی و مراحل رشد گیاه نیستند (۹). در طی سال‌های اخیر انواع مختلفی از روش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) ابداع شده‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان مواردی چون Hot start PCR، Boster PCR، Nested PCR، Ampli-wax PCR Gems، Touch down PCR و غیره را نام برد (۱۷). نشانگر مولکولی (SCoT= Start codon targeted) یا در ترجمه فارسی، کدون‌های آغاز هدف واقع شده، روشی است که در آن پرایمرها بر اساس توالی‌های آغاز (ATG) طراحی شده و نواحی بین کدون‌های آغاز طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکثیر، و تفاوت‌ها آشکار می‌شود. پرایمرهای SCoT معمولاً ۱۸-۲۴ نوکلئوتیدی هستند و محتوای C و G آنها ۵۰٪ تا ۷۲٪ است (۱۳). نشانگرهای SCoT به طور کلی در مقایسه با ISSR و RAPD از تکرارپذیری بیشتری برخوردارند و عقیده بر این است که طول و دمای اتصال آغازگرها، تنها عواملی نیستند که در تکرارپذیری الگوی نواربندی آنها نقش دارند (۶). از مزایای این نشانگر می‌توان به آسان بودن و کم هزینه بودن بکارگیری آن، چندشکلی بالا، آشکارسازی اطلاعات ژنتیکی وسیع و فراگیر بودن آغازگرهای آن در ژنوم گیاهان اشاره کرد. افزون بر این، در طراحی آغازگرهای این

جدول ۱- لیست جمعیت‌های مورد بررسی

کد بانک ژن	منشاء	گونه	کد جمعیت	کد بانک ژن	منشاء	گونه	کد جمعیت
IUGB-00019	کرمانشاه	<i>T. boeiticum</i>	B ₀₁₉	IUGB-00051	آذربایجان	<i>Ae. strangulata</i>	St ₅₁
IUGB-00368	ایلام	<i>T. boeiticum</i>	B ₀₃₆₈	IUGB-00213	مازندران	<i>Ae. strangulata</i>	St ₂₁₃
IUGB-00155	خرم‌آباد	<i>T. boeiticum</i>	B ₀₁₅₅	IUGB-00276	نوشهر	<i>Ae. strangulata</i>	St ₂₇₆
IUGB-00018	خرم‌آباد	<i>T. boeiticum</i>	B ₀₁₈	IUGB-00306	تاجیکستان	<i>Ae. strangulata</i>	St ₃₀₆
IUGB-00010	کردستان	<i>T. boeiticum</i>	B ₀₁₀	IUGB-00233	گرگان	<i>Ae. strangulata</i>	St ₂₃₃
IUGB-00077	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur ₇₇	IUGB-01429	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um ₁₄₂₉
IUGB-00154	کهگیلویه	<i>T. urartu</i>	Ur ₁₅₄	IUGB-00360	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um ₃₆₀
IUGB-00165	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur ₁₆₅	IUGB-00234	شیراز	<i>Ae. umbellulata</i>	Um ₂₃₄
IUGB-00206	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur ₂₀₆	IUGB-00887	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um ₈₈₇
IUGB-00162	چهارمحال	<i>T. urartu</i>	Ur ₁₆₂	IUGB-00103	کرمانشاه	<i>Ae. umbellulata</i>	Um ₁₀₃
				IUGB-00375	اردبیل	<i>Ae. Taushcii</i>	Ta ₃₇₅
				IUGB-00374	گیلان	<i>Ae. taushcii</i>	Ta ₃₇₄
				IUGB-00108	ایران	<i>Ae. taushcii</i>	Ta ₁₀₈
				IUGB-00198	زنجان	<i>Ae. taushcii</i>	Ta ₁₉₈
				IUGB-00205	اردبیل	<i>Ae. taushcii</i>	Ta ₂₀₅

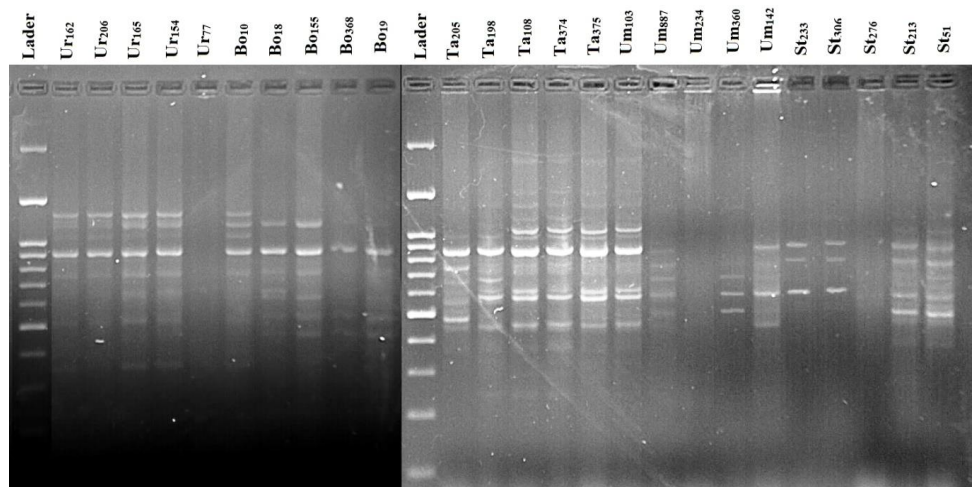
ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان اتصال آغازگر ۳۰ ثانیه و دمای آن برای هر آغازگر متفاوت بود (۵۲ تا ۶۰ درجه). همچنین زمان و دمای توسعه رشته نیز به ترتیب ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. توسعه نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در این آزمایش از ژل آگارز ۲ درصد با بافر واکنش TBE یک درصد استفاده شد. به منظور تزیق نمونه در ژل، ابتدا میزان ۵ میکرولیتر بافر نمونه‌گذاری به DNA های تکثیر شده اضافه و سپس میزان ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه به درون چاهک‌های ایجاد شده در ژل آگارز بارگذاری و با ولتاژ ۱۰۰ و میزان ۲/۵ ساعت حرکت صورت گرفت و سپس ژل را جهت رنگ‌آمیزی در محلول اتیدیوم برمایید (یک میکروگرم در میکرولیتر) به مدت ۳۰-۴۵ دقیقه قرار داده و از دستگاه Gel Document جهت نمایان شده نوارها استفاده شد. محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC = Polymorphic information content) از طریق فرمول $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$ محاسبه شد، در اینجا p برابر با مجموع نوارهای هر لوکوس برای کلیه

سپس تیوب‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و بعد از آن فاز مایع به آرامی خالی و به هر تیوب مقدار ۶۰۰ میکرولیتر اتانول ۸۰٪ سرد اضافه و یک سانتریفیوژ کوتاه صورت گرفت و به آرامی فاز مایع خالی شد (این مرحله دو بار تکرار شد) در پایان نیز تیوب‌ها در دمای اتاق قرار گرفت تا خشک شوند و بعد به هر تیوب میزان ۱۰۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل اضافه گردید. بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل ۰/۸ درصد آگارز و دستگاه اسپکتوفتومتر صورت گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۲۰ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۰۵ میلی مولار از هر dNTP، ۰/۲ میکرومول آغازگر، یک واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و بافر واکنش به مقدار ۱x) انجام شد. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه حرارتی بود که در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت‌سازی به ترتیب ۳۰

نتایج

چندشکلی: تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از ۱۵ آغازگر SCoT مورد بررسی قرار گرفت که تنها ۱۲ آغازگر دارای باندهای قابل امتیاز بودند. شکل ۱ الگوی باندهای جمعیت‌ها با استفاده از آغازگر SC11 برای ۲۵ جمعیت را نشان می‌دهد. آغازگرهای SCoT در مجموع توانستند ۹۲ مکان را تکثیر کنند که از این تعداد ۷ باند یک شکل مشاهده شد و سایر باندها چند شکل بودند، که آغازگرهای SC6، SC11، SC63 و SC20 بیشترین تعداد باند (۱۰) و آغازگر SC35 کمترین تعداد باند (۴) را نشان داد. میانگین درصد چند شکلی برابر ۹۳/۲۵٪ بود که کمترین میزان درصد چند شکلی را آغازگرهای SC60 و SC23 (۸۰٪) و SC21 (۸۳/۲۱٪) داشتند. نتایج به‌دست آمده برای آغازگرهای مورد بررسی در جدول ۲ ارائه شده است.

ژنوتیپ‌ها است (۱۱). همچنین شاخص نشانگری (MI= Marker Index) از رابطه $MI = PIC \times N \times \beta$ بدست آمد که N تعداد کل باندها و β نسبت چندشکلی برای هر آغازگر بود (۲۴). شاخص نسبت چندگانه موثر (EMR= Effective multiplex ratio) از رابطه $EMR = NPB \times \beta$ که از درصد چندشکلی (β) ضربدر تعداد نوارهای چند-شکل (NPB) بدست آمد (۱۶) و قدرت تفکیک ($RP = Resolving\ power$) از رابطه $RP = \sum IB$ در رابطه $IB = 1 - [2 \times (0.5 - Pi)]$ و Pi نسبت افراد دارای نوار است (۴). در پایان نیز داده‌های حاصل، با استفاده از نرم افزارهای Darwin 6 برای محاسبه ماتریس فاصله (۲۱)، MEGA 6 جهت تجزیه کلاستر (۲۷) و GenAIEx 6.2 برای تجزیه به مختصات اصلی (۲۰) مورد ارزیابی قرار گرفت.



شکل ۱- الگوی باندهای جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از آغازگر SC11

برابر ۶/۳۳ بود که آغازگرهای SC20، SC5 و SC11 بیشترین میزان و آغازگرهای SC35 و SC21 دارای کمترین میزان بودند. همچنین میانگین شاخص‌های MI و EMR به ترتیب برابر ۲/۸۱ و ۶/۶۸ بود. بیشترین میزان MI و EMR را آغازگرهای SC5 و SC11 و کمترین میزان را آغازگرهای SC21 و SC35 داشتند.

میانگین PIC در آغازگرهای مورد بررسی برابر ۰/۴۰ بود، بیشترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) مربوط به آغازگرهای SC36، SC5، SC28، SC13 و SC40 بود که این آغازگرها بهتر از سایر آغازگرها توانستند فاصله ژنتیکی ژنوتیپها را مشخص کنند. آغازگر SC63 و SC20 با کمترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) توانایی خوبی در جداسازی ژنوتیپها نداشتند. میانگین شاخص RP

جدول ۲- اطلاعات چند شکلی، شاخص نشانگری، نسبت چندگانه موثر و شاخص قدرت تفکیک در آغازگرهای مورد بررسی

نام آغازگر	توالی آغازگر	دما	درصد G و C	تعداد مکان‌های تکثیر شده	تعداد مکان‌های چند شکل	درصد چند شکلی	محتوی اطلاعات چند شکلی	شاخص نشانگری	نسبت چندگانه موثر	قدرت تفکیک
SC 63	5'-ACCATGGCTACCACGGG-3'	57	7.62/7.0	10	8	80	0.730	2/13	7/10	7/76
SC 20	5'-ACCATGGCTACCACCGC-3'	54	7.64/7.0	10	8	80	0.732	2/16	7/10	10/74
SC 59	5'-ACAATGGCTACCACCATC-3'	54	7.00	7	6	85.71	0.735	2/11	5/14	4/14
SC 36	5'-GCAACAATGGCTACCAC-3'	52	7.57/8.1	7	7	100	0.747	3/28	7	5/84
SC 5	5'-AAGCAATGGCTACCACCA-3'	54	7.00	10	10	100	0.741	4/11	10	8
SC 11	5'-AAGCAATGGCTACCACCA-3'	54	7.00	10	10	100	0.739	3/9	10	8/32
SC 15	5'-CCATGGCTACCACCGG-3'	54	7.64/7.0	10	9	90	0.738	2/16	8/10	7/42
SC 28	5'-CCATGGCTACCACCGCC-3'	54	7.64/7.0	5	5	100	0.749	2/4	5	4/14
SC 35	5'-CATGGCTACCACCGCC-3'	54	7.64/7.0	4	4	100	0.743	1/3	4	4
SC 13	5'-ACGACATGGCGACCATC-3'	58	7.72/8.8	6	6	100	0.744	2/6	6	5/24
SC 40	5'-CAATGGCTACCCTACAG-3'	54	5.7	8	8	100	0.740	3/10	8	5/20
SC 21	5'-AACCATGGCTACCACCG-3'	54	7.64/7.0	6	5	83.33	0.737	1/8	4/16	3/42
میانگین				77/5	77/7	93/15	0.740	2/8	7/8	7/33

محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC)، شاخص نشانگری (MI)، نسبت چندگانه موثر (EMR) و شاخص قدرت تفکیک (RP)

Collard & Machill (1)

تاجیکستان) با Ur154 (کهگیلویه) با ضرایب 0/806 بود و کمترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت Bo19 (کرمانشاه) با Bo368 (ایلام) با میزان 0/068 بود. نتایج تشابه ژنتیکی بین گونه‌های مورد بررسی با ضریب فاصله جاکارد در جدول ۴ ارائه شده است. همچنانکه ملاحظه می‌گردد، کمترین فاصله ژنتیکی بین دو گونه *Ae. strangulata* و *Ae. tauschii* وجود داشت (0/310) و بیشترین فاصله بین گونه‌های *Ae. strangulata* و *T. boeticum* با ضریب 0/776 وجود داشت.

شبهات ژنتیکی: فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب فاصله جاکارد (جدول ۳) نشان داد که میانگین فاصله بین جمعیت‌ها 0/307، متوسط فاصله بین گونه‌ای نیز 0/636 بود. در بین ۵ گونه مورد مطالعه جمعیت‌های گونه *T. boeticum* دارای کمترین متوسط ضریب فاصله درون گونه‌ای نسبت به جمعیت‌های سایر گونه‌ها با میزان 0/150 بود و جمعیت‌های گونه *Ae. tauschii* نیز ضریب فاصله بالایی (0/196) نسبت به دیگر گونه‌ها نشان داد. بیشترین فاصله بین جمعیت St306

جدول ۳- فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر SCOT

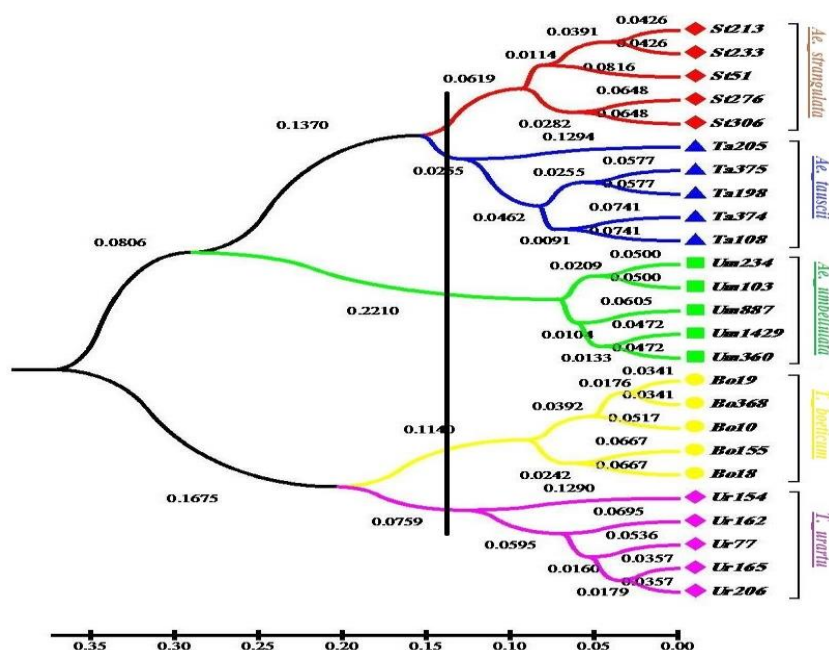
	St ₆₁	St ₆₃	St ₇₆	St ₈₆	St ₈₈	Um ₁₄₃	Um ₁₄₆	Um ₁₅₄	Um ₁₆₇	Um ₁₈₃	T ₈₇₅	T ₈₇₄	T ₈₈₈	T ₈₉₈	T ₈₉₅	Bo ₁₉	Bo ₃₆₈	Bo ₃₆₅	Bo ₁₈	Bo ₁₉	Ur ₁₇	Ur ₁₅₄	Ur ₁₆₅	Ur ₂₀₆	Ur ₁₆₂	
1	-																									
2	-0.167	-																								
3	-0.167	-0.167	-																							
4	-0.167	-0.167	-0.167	-																						
5	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																					
6	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																				
7	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																			
8	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																		
9	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																	
10	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-																
11	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-															
12	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-														
13	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-													
14	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-												
15	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-											
16	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-										
17	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-									
18	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-								
19	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-							
20	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-						
21	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-					
22	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-				
23	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-			
24	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-		
25	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-	
26	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-0.167	-

جدول ۴- فاصله ژنتیکی بر اساس نشانگر SCoT در بین گونه‌ها با استفاده از ضریب فاصله جاکارد

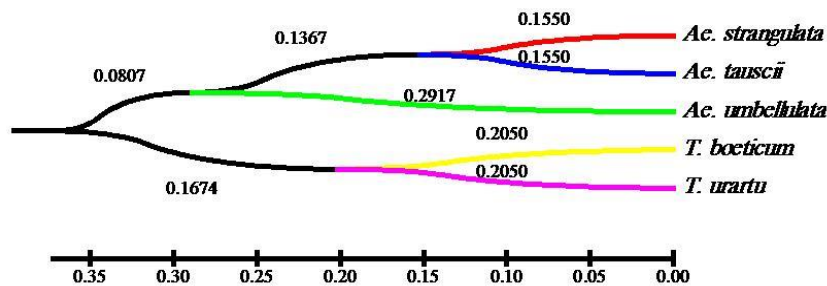
گونه	<i>Ae. strangulata</i>	<i>Ae. umbellulata</i>	<i>Ae. tauschii</i>	<i>T. boeiticum</i>	<i>T. Urartu</i>
<i>Ae. Strangulate</i>	۰				
<i>Ae. umbellulata</i>	۰/۵۸۰	۰			
<i>Ae. tauschii</i>	۰/۳۱۰	۰/۵۸۷	۰		
<i>T. boeiticum</i>	۰/۷۷۶	۰/۷۳۰	۰/۷۳۰	۰	
<i>T. urartu</i>	۰/۷۷۲	۰/۷۳۹	۰/۷۲۲	۰/۴۱۰	۰

گونه‌ها با روش UPGMA و بر اساس ضریب فاصله جاکارد در شکل ۳ ارائه شده است که بر این اساس گونه‌های ۲ جنس کاملاً از هم تفکیک شدند و در دو گروه جدا قرار گرفتند. گونه‌های *Ae. tauschii* و *Ae. stranguinata* با بیشترین شباهت قبل دو گونه دیگر در یک گروه قرار گرفتند و در مرحله بعد گونه *Ae. umbellulata* با فاصله نسبتاً متوسطی که با دو گونه قبلی داشت با آنها هم گروه شد. گونه *Ae. umbellulata* در بین سه گونه مورد مطالعه جنس *Aegilops* بیشترین فاصله را با دیگر گونه‌ها با توجه به نمودار تهیه شده بر اساس نشانگر SCoT نشان داد.

تجزیه خوشه‌ای: نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA براساس ضریب فاصله جاکارد برای جمعیت‌های مورد بررسی در شکل ۲ ارائه شده است. همچنان که ملاحظه می‌گردد، جمعیت‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند و نتایج حاصل از گروه بندی با نتایج بدست آمده از ماتریس فاصله کاملاً مطابقت داشت. بنابراین به خوبی می‌توان دریافت که نشانگر مورد استفاده توانایی بالایی در تفکیک گونه‌ها داشت و جمعیت‌های مورد بررسی را به خوبی در زیرگروه خود قرار داد و حتی جمعیت‌های با منشاء جغرافیایی یکسان نیز تا حدود بالایی در کنار یکدیگر قرار گرفتند. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای



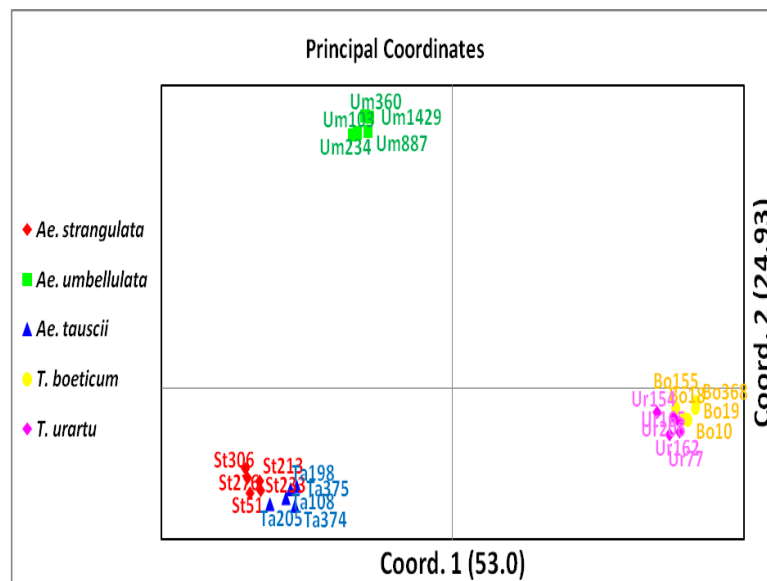
شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر SCoT در ۲۵ جمعیت به روش UPGMA: اعداد روی شکل نشان دهنده فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها بوده، که نزدیکترین جمعیت‌ها بر اساس ضریب فاصله جاکارد در کنار یکدیگر قرار گرفته و بر اساس میزان فاصله با یکدیگر ادغام و خوشه جدید را تشکیل داده‌اند.



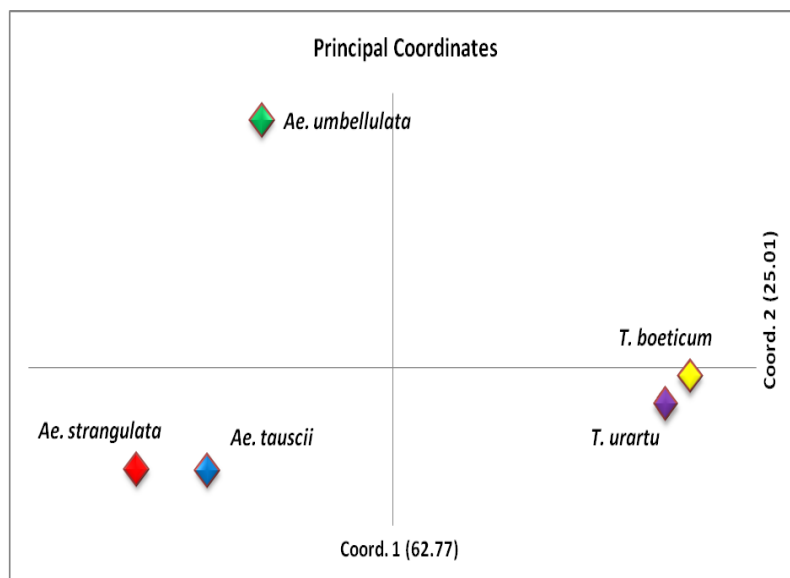
شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها بر اساس نشانگر SCoT به روش UPGMA: اعداد روی شکل نشان دهنده فاصله ژنتیکی گونه‌ها از یکدیگر می‌باشد که نزدیکترین گونه‌ها بر اساس ضریب فاصله جاکارد در کنار یکدیگر قرار گرفته و بر اساس میزان فاصله با یکدیگر ادغام و گروه‌بندی شده‌اند.

دارای بیشترین تشابه در ماتریس فاصله بودند و در تجزیه خوشه‌ای نیز در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند، در تجزیه به مختصات اصلی نیز در کنار یکدیگر قرار گرفتند. همچنین تجزیه به مختصات اصلی برای ۵ گونه مورد بررسی به منظور ارزیابی روابط بین گونه‌ای انجام شد که دو محور مختصات اول در مجموع ۸۸/۲۶٪ واریانس موجود در ساختار داده‌ها را توضیح دادند. نمودار دو بعدی مختصات اول و دوم نیز در شکل ۵ ارائه گردید. با توجه به نمودار مشاهده شد که گونه‌های دو جنس از همدیگر تفکیک شدند و دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. strangulata* با داشتن شباهت بالا در یک منطقه نمودار قرار گرفتند.

تجزیه به مختصات اصلی: بر اساس داده‌های حاصل از آغازگرهای مورد بررسی تجزیه به مختصات اصلی برای جمعیت‌های مورد بررسی انجام گردید. دو مولفه استخراج شد که در مجموع ۷۷/۹۳٪ واریانس موجود در ساختار داده‌ها بیان گردید بطوریکه محور مختصات اول و دوم به ترتیب ۵۳/۰۰ و ۲۴/۹۳ درصد از واریانس موجود را توضیح دادند. همچنین نمودار دو بعدی مختصات اول و دوم نیز در شکل ۴ ارائه گردید. همچنانکه ملاحظه می‌گردد پراکنش جمعیت‌ها با نتایج تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه کاملاً مطابقت داشت و جمعیت‌ها به جمعیت‌ها گروه تقسیم شدند بنحوی که جمعیت‌هایی که



شکل ۴- پراکنش مختصات اول و دوم تجزیه به مختصات اصلی ۲۵ جمعیت مورد بررسی بر اساس نشانگر SCoT: مختصات اول و دوم به ترتیب ۵۳/۰۰ و ۲۴/۹۳ درصد از واریانس موجود را توضیح دادند. تجمع جمعیت‌ها در یک ناحیه از پلات نشان دهنده تشابه ژنتیکی جمعیت‌ها است



شکل ۵- پراکنش حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ۵ گونه مورد بررسی بر اساس نشانگر SCoT. مختصات اول و دوم به ترتیب ۶۲/۷۷ و ۲۵/۰۱ درصد از واریانس موجود را توضیح دادند. تجمع گونه‌ها در یک ناحیه از پلات نشان دهنده تشابه ژنتیکی گونه‌ها است

هتروژنتیکی مورد انتظار (He) و شاخص شانون (I) محاسبه گردید (جدول ۵) که با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین تنوع درون جمعیتی و تنوع ژنی مربوط گونه Ae. tauschii بود. همچنین بیشترین میزان پلی مورفیسم نیز در بین ژنوتیپ‌های این گونه بود.

شاخص‌های ژنتیکی: شاخص‌های ژنتیکی برای گونه‌های مورد بررسی در جدول ۵ ارائه گردید. با توجه به نتایج حاصل از بررسی مولکولی گونه‌های مورد بررسی با مارکر SCoT برای هر گونه شاخص‌های درصد چندشکلی (P%)، هتروژنتیکی مورد انتظار نا اریب (Uhe)،

جدول ۵- میزان تنوع درون گونه‌ای برای گونه‌های مورد بررسی

گونه	تعداد جمعیت	PPB%	UHe(st)	He	I
<i>Ae. Stragulata</i>	۵	۱۹/۵۷	۰/۰۸۱	۰/۰۷۳	۰/۱۰۸
<i>Ae. umbellulata</i>	۵	۱۴/۱۳	۰/۰۶۰	۰/۰۵۴	۰/۰۸۰
<i>Ae. tauschii</i>	۵	۲۶/۰۹	۰/۱۲۴	۰/۱۱۲	۰/۱۶۰
<i>T. boeticum</i>	۵	۱۶/۳۰	۰/۰۷۹	۰/۰۷۱	۰/۱۰۲
<i>T. urartu</i>	۵	۱۶/۳۰	۰/۰۸۱	۰/۰۷۳	۰/۱۰۴
		۱۸/۴۸	۰/۰۸۵	۰/۰۷۷	۰/۱۱۱

ای در بین جمعیت‌های هر پنج گونه وجود داشت و چندشکلی مطلوبی بر اساس این نشانگر مشاهده گردید بطوریکه نشانگر مورد استفاده به خوبی تنوع ژنتیکی موجود در ساختار جمعیت‌ها و روابط بین گونه‌ای را نشان داد. Mohammadi و همکاران (۱۹) تنوع ژنتیکی ۳۵ جمعیت از گونه *Ae. cylindrical* را با استفاده از ۱۷ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار دادند و در مجموع ۱۹۰

بحث

تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی می‌تواند به وسیله مکانیسم‌های مختلف از قبیل جهش، نوترکیبی ژنتیکی، مهاجرت، جریان ژنی، رانده‌شدگی ژنتیکی و گزینش به وجود آید. از آنجا که تنوع مبنای گزینش است، می‌توان این تنوع را در گیاهان وحشی جستجو کرد. با استفاده از نشانگر SCoT همانطور که مشاهده شد تنوع قابل ملاحظه-

مناسب جهت بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های مورد مطالعه معرفی نمود.

میانگین فاصله بین جمعیت‌ها در این مطالعه برابر ۰/۳۰۷ بود که پایین بودن فاصله ژنتیکی یاد شده می‌تواند به سبب طول بلند آغازگرهای SCoT و تکثیر انتخابی تر باشد. هیبریداسیون بین جمعیت‌ها با فاصله ژنتیکی زیاد می‌تواند یک روش مناسب برای برنامه‌های اصلاحی در این گیاه باشد. از آنجایی که نشانگر مولکولی SCoT تنوع را براساس مناطق ژنی نشان می‌دهد (تکثیر نواحی با کدون آغاز)، استفاده از نتایج این تحقیق برای تلاقی نمونه‌های هر گونه با فواصل زیاد ژنتیکی در جهت هتروزیس، همچنین جمعیت‌هایی که در بین گونه‌ها بیشترین تشابه را داشتند جهت تلاقی و جریان ژنی به منظور پروژه‌های اصلاحی استفاده نمود. متوسط فاصله بین گونه‌ای نیز ۰/۶۳۶ بود که بالا بودن متوسط ضریب تشابه بین گونه‌ای و پایین بودن ضریب تشابه درون گونه‌ای بیانگر این مطلب است که نشانگر مورد بررسی تنوع بیشتری در بین گونه‌ها نشان داد و درون جمعیت‌های هر گونه تنوع کمتری وجود داشت و همین مسئله باعث تفکیک گونه‌های مورد بررسی شد. Aliyev و همکاران (۳) با استفاده از ماتریس تشابه Nei و Li روابط بین گونه‌ای در ژنوتیپ‌های دیپلوئید و تتراپلوئید جنس *Triticum* بر اساس الگوی بانندی حاصل از نشانگرهای RAPD را مورد بررسی قرار داد و بیان داشت که *T. boeiticum* با *T. monococcum* بر اساس ماتریس تشابه فاصله ژنتیکی بالایی داشتند.

کمترین فاصله ژنتیکی بین دو گونه *Ae. strangulata* و *Ae. tauschii* وجود داشت (۰/۳۱۰) و بیشترین فاصله بین گونه‌های *Ae. strangulata* و *T. boeiticum* با ضریب ۰/۷۷۶ وجود داشت. دو گونه *Ae. strangulata* و *Ae. tauschii* هر دو دارای ژنوم D هستند و وجود فاصله کم در بین آنها طبیعی است و همچنین برای دو گونه *T. urartu* و *T. boeiticum* با توجه به اینکه دارای ژنوم A هستند نتیجه

آلل تکثیر شد که تعداد ۱۸۸ آلل چندشکل بودند (۹۸٪/۹۵) و تنوع ژنتیکی بالایی در بین جمعیت‌ها گزارش کردند.

در این پژوهش، با استفاده از ۱۲ آغازگر SCoT، ۹۲ نوار امتیازدهی شد که ۸۷ باند آن چند شکل بودند. تعدادی از این باندها در برخی از آغازگرها منحصر به فرد (اختصاصی) بودند (در مجموع ۱۳ باند و به‌طور میانگین ۱۳/۱۴٪). باندهای اختصاصی را می‌توان در شناسایی گونه‌ها و نیز تهیه شناسنامه آن‌ها بکار برد. Shirmohammadli و همکاران (۲۸) با توجه به سطح بالایی از اطلاعات چندشکلی، بهترین نشانگرها برای ارزیابی تنوع ژنتیکی برنج معرفی نمودند. بهترین شاخص برای انتخاب آغازگر مناسب، شاخص قدرت تفکیک (Rp) است زیرا هم از تعداد افراد دارای نوار و هم از تعداد آلل تأثیر می‌پذیرد. قدرت تفکیک (Rp) پارامتری است که توانایی تفکیک آغازگرهای انتخابی را نشان می‌دهد (۱۴). شاخص نشانگر (MI) یک برآورد مناسب برای کارایی آغازگرها است که به تعداد نوارهای چندشکلی به دست آمده و به پوشش بالای ژنوم توسط نشانگر نسبت داده می‌شود (۱۸). بالا بودن شاخص نشانگر، نشان از فراهم کردن اطلاعات بیشتر از ژنوم با توجه به تولید تعداد نوار چندشکلی بیشتر است. میزان اطلاعات چندشکلی یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز آن‌ها است. مقادیر بالای این شاخص، دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه دارد که در تفکیک و تمایز افراد نقش به‌سزایی دارد (۳۰). در مجموع پیشنهاد می‌گردد با توجه به این شاخص‌ها از آغازگرهای SC6، SC11، SC63 و SC20 که میزان بالایی را نشان دادند، برای آنالیز مجموعه ژرم پلاسما گونه‌های *Aegilops* و *Triticum* در تحقیقات بعدی استفاده گردد. نوریان (۲) و فرشادفر و همکاران (۱) در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف جنس پنیرک و مریم نخودی با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT بر اساس پارامترهای نشانگری PIC، RP، EMR و MI آغازگرهای

منطقه‌ای به منطقه دیگر توسط انسان‌ها و حیوانات صورت گیرد. در مطالعه Aliyev و همکاران (۳) تنوع ژنتیکی در بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید جنس *Triticum* را با استفاده از نشانگر RAPD مورد بررسی قرار گرفت و بر اساس ضریب تشابه جاکارد برای گونه‌ها تجزیه خوشه‌ای باتوجه به الگوی بانندی نشانگر مورد استفاده انجام دادند و در نهایت گونه‌ها را به دو گروه اصلی تقسیم کردند. در بررسی Ranjbar و همکاران (۲۵) تنوع ژنتیکی ۷۳ نمونه تتراپلوئید و ۷ نمونه هگزاپلوئید از گونه *Ae. crassa* را با استفاده از ۲۱ جفت آغازگر SSR مورد ارزیابی قرار داده و گزارش کردند که گونه‌ها با توجه به این نشانگر مولکولی بر اساس سطح پلوئیدی یا پراکنش جغرافیایی از همدیگر تفکیک نشدند.

نتایج شاخص‌های درصد چندشکلی (P%)، هتروژنتیکی مورد انتظار نا اریب (Uhe)، هتروژنتیکی مورد انتظار (He) و شاخص شانون (I) نشان داد که بیشترین تنوع درون جمعیتی و تنوع ژنی مربوط گونه *Ae. tauschii* بود و این نشان دهنده این موضوع است که جمعیت‌های دارای ژنوم D بیشترین مقدار و در نتیجه بیشترین تنوع درون گونه‌ای را داشتند. همچنین Fereydouni و همکاران (۸) در بررسی روابط بین ژنوم‌های D، S و U جنس گندم نیای وحشی (*Aegilops*) با ژنوم A گندم با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR بیان داشتند که ژنوم D برای آغازگرهای مورد استفاده تنوع بالاتری درون جمعیت‌های خود نشان داد و به عبارتی در مناطق تکثیر شده توسط آغازگرهای مورد استفاده در بین جمعیت‌های دارای ژنوم D تغییرات بیشتری مشاهده شد.

بدست آمده با ساختار ژنتیکی آنها مطابقت داشت. این نتایج با گزارش Sallares و Brown (۲۶) که با استفاده از نشانگر EST روابط بین گونه‌های دیپلوئید آزیلوپس و خویشاوندان آنها را بررسی کردند، مطابقت نشان داد. همچنین Petersen و همکاران (۲۲) روابط فیلوژنتیکی بین گندم نان و گندم نیای وحشی را به منظور یافتن منشأ ژنوم A، B و D در گندم با استفاده از مارکر مولکولی مورد ارزیابی قرار دادند و بیان داشتند که منشأ ژنوم D از *Ae. tauschii* و ژنوم B از *A. Speltooides* منشأ گرفته است.

در این تحقیق برای مشخص کردن بهترین شاخص تشابه و تشخیص بهترین الگوریتم برای ترسیم مناسب‌ترین دندروگرام برای گزارش نتایج، شاخص‌های تشابه شامل دایس و جاکارد با روش‌های اتصال میانگین (UPGMA) و اتصال مجاور (NJ) محاسبه و بر اساس ضرایب کوفتیک حاصل از آزمون مانتل مقایسه شدند. با توجه به نتایج به دست آمده الگوریتم UPGMA و شاخص جاکارد در آزمون مانتل ضریب کوفتیک بالاتری نشان داد (۸۹٪). بر اساس نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند به طوری که گونه‌ها بصورت صد در صد از یکدیگر تفکیک شدند که نشان‌دهنده کارایی بالای نشانگر مورد استفاده می‌باشد همچنین بخش‌هایی از خوشه‌بندی حاصل از دندروگرام، بیانگر آن است که تنوع ژنتیکی در گونه‌های مورد بررسی با منشأ جغرافیایی آنها در برخی موارد مطابقت و در برخی موارد مطابقت نداشت. این حالت ممکن است به دلیل جابجایی فیزیکی ژرم‌پلاسم باشد. این جابجایی می‌تواند به صورت انتقال بذور از

منابع

۲ - نوریان، ع. ۱۳۹۷. بررسی تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های ایرانی گیاه پنیرک (*Malva neglecta*) با استفاده از کدون‌های آغاز هدف واقع شده (SCoT). مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران). انتشار آنلاین از تاریخ ۱۰ تیر ۱۳۹۷.

۱ - فرشادفر، ف.، شیروانی، ه.، امجدیان، ا.، نوریان، م. ۱۳۹۷. بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گونه مریم نخودی (*Teucrium polium*) در غرب ایران با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT. مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران). انتشار آنلاین از تاریخ ۱۰ تیر ۱۳۹۷.

- 3- Aliyev, R. T., Abbasov, M. A. and Mammadov, A. C. (2007). Genetic identification of diploid and tetraploid Wheat species with RAPD markers. *Turk. J. Biol.*, 31: 173-180.
- 4- Altıntaş, S., Toklu, F., Kafkas, S., Kilian, B., Brandolini, A., and Zkan, H.O. (2008). Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. *Plant Breeding*, 127: 9-14.
- 5- Cabi, E. (2010). Taxonomic revision of the tribe *Triticeae* Dumortier (Poaceae) in Turkey. Doctor of Philosophy in Biological Sciences Thesis, Middle East Technical University, Turkey. 387 p.
- 6- Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J. (2009). Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27:86-93.
- 7- Doyle, J.J., and Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues. *Phytochem Bull*, 19:11-15.
- 8- Fereydouni, L., Mehrabi, AS. and Safari, H. (2017). Relationship between Aegilops, D, S and U genomes of genus A with wheat genome using ISSR molecular marker. *Journal of Crop Biotechnology Scientific Research*, 20 (7): 41-53. (In Farsi with English abstract)
- 9- Feuillet, C. and Keller, B. (2006). *Molecular Markers for Disease Resistance: the example wheat*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 476 p.
- 10- Hosseini, F., Aghaei M. C., Preacher, sh. And Khosrow Shahli, M. (2013). Evaluation of karyotypic diversity in *Aegilops umbellulata* Iran. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 21 (1): 140-149. (In Farsi with English abstract).
- 11- Hou, Y., Yan, Z., and Wei, Y. (2005). Genetic diversity in barely from west China based on RAPD and ISSR analysis Barely. *Genetics Newsletter*, 35:9-22.
- 12- Jiang, J., Friebe, B. and Gill, B. S. (1994). Recent advances in alien gene transfer in wheat. *Euphytica*, 73: 199-212.
- 13- Kalendar, R. (2007). FastPCR: a PCR primer design and repeat sequence searching software with additional tools for the manipulation and analysis of DNA and protein. Available at www.biocenter.helsinki.fi/programs/fastpcr.htm; 2007
- 14- Kayis, S. A., Hakki, E. E., and Pinarkara, E. (2010). Comparison of effectiveness of ISSR and RAPD markers in genetic characterization of seized marijuana (*Cannabis sativa* L.) in Turkey. *African Journal of Agricultural Research*, 5 (21): 2925-2933.
- 15- Kazutoshi, O., Kaoru, E., Bayarsukh, N. and Hisashi, Y. (1998). Genetic diversity of central Asian and north Caucasian Aegilops species as revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 4: 389-394.
- 16- Kumar, M., Mishra, G P., Singh, R., Kumar, J., Naik, P K., and Singh Sh.B. (2009). Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different apricot genotypes from cold arid deserts of Trans-Himalayas. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15(3): 225-236.
- 17- Mcpherson, M. J. and Moller. S. G. (2000). *PCR*. BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, UK, 276 P.
- 18- Milbourne, D., Meyer, R., Bradshaw, J. E., Baird, E., Bonar, N., Provan, J., Powell, W. and Waugh, R. (1997). Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Molecular Breeding*, 3: 127-136.
- 19- Mohammadi, S., Mehrabi, AS. A., Armian, A. And Fazeli A. (2014). Investigating the Structure of Genetic Diversity of the Wild Guinea Populations *Ae. cylindrica* using genomic intercellular loci. *Plant Genetic Research*, 1 (1): 13-26 (In Farsi with English abstract)
- 20- Peakall, R., and Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6:288-295.
- 21- Perrier, X., and Jacquemoud-Collet, JP. (2006). DARwin soft ware, <http://darwin.cirad.fr/darwin>
- 22- Petersen, G., Seberg, O., Yde, M., Berthelsen, K. (2006). Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39: 70-82.
- 23- Poczai, P., Varga, I., Bell, N. E. and Hyvonen, J. (2012). Genomics Meets Biodiversity: Advances in Molecular Marker Development and Their Applications in Plant Genetic Diversity Assessment, *The Molecular Basis of Plant Genetic Diversity*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0157-4, InTech, 374 P.

- 24- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
- 25- Ranjbar, M., Naghavi, M. R., Zali, A., Aghai, M. J., Pearsidi, S. M and Man, M. (2008). Study of genetic variation of *Aegilops crassa* Iran specimens using SSR markers. *New Genetics*, 3 (1): 29-38. (In Farsi with English abstract).
- 26- Sallares, R. and Brown, T. A. (2004). Phylogenetic analysis of complete 59 external transcribed spacers of the 18S ribosomal RNA genes of diploid *Aegilops* and related species (Triticeae, Poaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51: 701-712.
- 27- Sharp PM, Tuohy TMF & Mosurski KR (1986). Codon usage in yeast: Cluster analysis clearly differentiates highly and lowly expressed genes. *Nucleic Acids Research* 14:5125-5143
- 28- Shirmohammadli, S., Sabouri, H., Ahangar, L., Ebadi, A., Sajjadi, S. (2018). Genetic Diversity and Association Analysis of Rice Genotypes for Grain Physical Quality Using iPBS, IRAP, and ISSR Markers. *Journal of Genetic Resources*, 4(2), 122-129. doi: 10.22080/jgr.2019.15415.1115
- 29- Solimani, V. D., Baum, B. R. and Jahason, D. A. (2002). AFLP and pedigree based genetic diversity estimates cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 350-357.
- 30- Thimmappaiah, W., Santhosh, G., Shobha, D., and Melwyn, G. S. (2008). Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae*, 118: 1-7.
- 31- Van Slageren, M. W. (1994). Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (jaub. and Spach) Eig (poaceae). Wageningen Agricultural University. Wageningen, the Netherland, pp: 94-107.

Evaluation of the efficiency of SCoT molecular marker in the study of genetic relationships between *Aegilops* and *Triticum* diploid species

Mehrabi A.A.^{1*} and Shirvani H.²

¹ Dep. of Biotechnology, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization. Tehran, Iran.

² Plant Breeding, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, I.R. of Iran

Abstract

Genetic diversity and genetic relationships of 25 populations from five diploid *Aegilops* and *Triticum* were investigated using 15 SCoT primers, 12 primers with scalable bands. Based on the PIC, RP, EMR and MI markers, SC6, SC11, SC63 and SC20 primers showed high levels for the analysis of the germplasm collection of *Aegilops* and *Triticum* species in subsequent studies. The genetic distance of the populations studied using the Jaccard distance coefficient showed that the average distance between populations was 0.307 and the mean inter-species distance was 0.636. Also two species *Ae. strangulata* and *Ae. tauschii*, both of which have the genome D, have the smallest distance. The results of UPGMA cluster analysis based on Jaccard distance coefficient showed that the populations were divided into 5 groups, so that the species were 100% separated, indicating the high efficiency of the marker, these results corresponded to the results of the gap matrix and the decomposition to the original coordinates of 100 percent. The analysis of genetic indices for the species studied showed that the highest intra-population variation and genetic diversity were related to *Ae. tauschii* was the highest polymorphism was observed among the populations of this species.

Key words: Genetic Diversity, Molecular Marker, *Aegilops*, *Triticum*