

بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار جمعیت در گونه‌های گندم وحشی *Aegilops cylindrica* و *Ae. crassa* با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره (SSR)

Assessment of genetic diversity and population structure in two wild wheat species *Aegilops cylindrica* and *Ae. crassa* using microsatellite (SSR) markers

زهرا دانشور^۱، منصور امید^{۲*}، علیرضا اطمینان^۳، آسا ابراهیمی^۴

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- دانشیار، گروه ژنتیک و به نژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۴- استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

Daneshvar Z¹, Omidi M², Etminan A³, Ebrahimi A⁴

- 1- PhD Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
- 2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources University of Tehran, Karaj, Iran
- 3- Associate Professor, Department of Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
- 4- Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: momidi@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

جنس آزیلوپس به واسطه پتانسیل اصلاحی خود هم‌چون تحمل به انواع تنش‌های غیر زیستی و زیستی یک منبع ژنتیکی غنی و متنوع برای اصلاح‌گران گندم بشمار می‌آید. هدف اصلی این پژوهش ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ۹۱ توده آزیلوپس متعلق به دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره (SSR) بود. تعداد ۲۵ آغازگر SSR استفاده شده در این ارزیابی در مجموع ۴۹ قطعه تکثیر نمودند. متوسط شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، تنوع ژنی (H)، قدرت تفکیک (Rp) و شاخص نشانگر (MI) به ترتیب برابر با ۰/۲۶، ۰/۳۴، ۱/۲۹ و ۰/۵۱ بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد بیشترین سهم تنوع ژنتیکی مربوط به تنوع بین گونه‌ای بود. بر اساس پارامترهای ژنتیکی مشخص شد که گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* از تنوع ژنتیکی بیشتری برخوردار است. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب جاکارد و الگوریتم Neighbor-joining کلیه توده‌های مورد بررسی را در دو گروه اصلی تفکیک نمود، به طوری که توده‌های مربوط به هر گونه به خوبی از یکدیگر متمایز شدند. نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نشان داد دو مؤلفه نخست ۶۴/۹۸ درصد تغییرات مولکولی را توجیه نمودند و بای پلات ترسیم شده توده‌های مربوط به هر گونه را در گروه جداگانه‌ای تفکیک نمود. تجزیه ساختار جمعیت نشان داد توده‌های مورد بررسی در پنج زیر جمعیت واقعی تفکیک شدند به طوری که متوسط شاخص تمایز جمعیت‌ها (F_{ST}) نیز بین ۰/۵۲ تا ۰/۹۰ با میانگین ۰/۷۶ متغیر بود. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های وحشی *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* بر اساس داده‌های SSR وجود دارد که این میزان تنوع ژنتیکی می‌تواند به‌عنوان ابزاری جهت بهره‌برداری از این منابع ژرم‌پلاسمی در برنامه‌های اصلاحی گندم و همچنین می‌توان از این نشانگر در سایر مطالعات ژنتیکی مانند نقشه‌یابی QTL و تجزیه ارتباط به کار گرفته شود.

واژه‌های کلیدی

آزیلوپس
تجزیه خوشه‌ای
تنوع مولکولی
ساختار جمعیت
نشانگرهای ریزماهوره

گندم گیاهی یکساله و از تیره غلات بوده که به عنوان مهم ترین گیاه زراعی در سطح گسترده ای از جهان تولید شده و مورد استفاده انسان می باشد. دامنه سازگاری و اهمیت این گیاه زراعی را به راحتی می توان از این واقعیت استنباط کرد که این گیاه در هر ماه از سال در یکی از نقاط جهان کشت خواهد شد (Hedge et al. 2002). تغییرات گسترده اقلیمی از یک سو و ضعیف شدن پایه ژنتیکی این گیاه زراعی سبب شده است تا تولید این گیاه استراتژیک با خطر جدی روبرو شود. از این رو یکی از راه های مقابله با شرایط نامطلوبی که به واسطه این تغییرات ایجاد می شود می تواند بهره گیری از پتانسیل آلل های جدید در خزانه ژنی آن باشد (Warschefsky et al. 2014). با توجه به تنوع ژنتیکی محدود در گونه های زراعی اصلاح شده برای سازگاری به تغییرات اقلیمی و بنابراین شانس ضعیف دستیابی به آلل های جدید در این مواد گیاهی، استفاده از خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی می تواند یک منبع ژنی غنی و متنوع از آلل های جدید و ایده آل را برای به نژادگران فراهم آورد (Pour-Aboughadareh et al. 2018). در زمینه مطالعات صورت گرفته بر روی خویشاوندان وحشی گونه های زراعی، بیشترین مطالعات مربوط به اجداد وحشی گندم می باشد (Maxted et al. 2006).

جنس آزیلوپس^۱ متعلق به تیره *Triticeae* به عنوان مهم ترین خزانه ژنتیکی گندم شناخته شده است. گونه های موجود در این جنس به طور کلی در ۵ گروه اصلی تقسیم می شوند. گروه اول در برگیرنده کلیه گونه های واجد ژنوم U می باشد که تحت عنوان *Aegilops* شناخته می شوند. گروه دوم شامل کلیه گونه های دارای ژنوم C و DC هستند که به عنوان *Cylindropyrum* نامیده می شوند. گروه سوم با در برداشتن گونه های دارای ژنوم D و ترکیبی از این ژنوم با سایر ژنوم ها به نام دسته *Vertebrata* شناخته شده اند. گروه چهارم شامل گونه های دارای ژنوم M و N بوده که با تحت عنوان دسته *Comopyrum* معرفی می شوند. در نهایت گروه پنجم دارای گونه های واجد ژنوم S بوده و به عنوان بخش *Sitopsis* نام گذاری شده اند (Morris and Sears 1967; Kimber and Feldmen 1987). بر اساس مطالعات صورت گرفته

¹ Aegilops

گونه های موجود در این جنس حاوی ژن های مفیدی برای مقاومت به آفات و بیماری ها، خشکی، شوری و حتی بهبود عملکرد و همچنین سازگاری به تنش های حاصل از تغییر شرایط آب و هوایی هستند و منبع ژنتیکی مهمی برای بهبود صفات مختلف زراعی و میزان پروتئین های موثر در کیفیت دانه محسوب می شوند (Hajjar and Hodgking 2007). از این رو، وجود چنین خویشاوندانی می توانند به عنوان ژرم پلاسما های مفید در برنامه های به نژادی گندم مورد استفاده به نژادگران قرار گیرند (Schneider et al. 2008; Nevo 1998; Pour-Aboughadareh et al. 2017; Hajjar and Hodgking 2007). گونه *Ae. tauschii* از مهم ترین گونه های موجود در جنس آزیلوپس بوده که به طور مستقیم و به عنوان گونه بخشنده ژنوم D به گندم نان نقش مهمی در تکامل آن دارد. این گونه علاوه بر این به عنوان والد دهنده ژنوم D به گونه های خویشاوند دیگری هم چون *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* شناخته شده است (Kilian et al. 2007). در رابطه با میزان تنوع ژنتیکی و اهمیت گونه *Ae. tauschii* مطالعات بیشماری صورت گرفته است، با این حال در رابطه با دو *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* اطلاعات جامعی موجود نمی باشد. با این وجود در سال های اخیر برخی از مطالعات به اهمیت پتانسیل اصلاحی این گونه ها اشاره نموده اند. به عنوان مثال در بررسی پورابوقداره و همکاران (Pour-Aboughadareh et al. 2017) پاسخ به تنش خشکی ۱۹۰ توده وحشی و بومی گندم ارزیابی نمودند و نتایج آن ها نشان داد برخی از توده های مربوط به دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* نسبت به دیگر توده های وحشی و حتی ارقام شاهد و متحمل به خشکی نمود بهتری از خود نشان دادند. در بررسی (Ahmadi et al. 2018b) نیز گونه های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* نسبت به ارقام متحمل به خشکی گندم نان و دوروم از نظر سیستم های دفاعی آنتی اکسیدانتی پاسخ بهتری از خود نسبت به سطوح بالای تنش خشکی (۲۵ درصد ظرفیت زراعی مزرعه) از خود نشان دادند. از نظر سیستم ریشه ای نیز این گونه های دارای پتانسیل قابل توجهی می باشند. به طوری که در مطالعه (Ahmadi et al. 2018c) سیستم ریشه ای ۱۸۰ توده وحشی متعلق به ۱۲ گونه تریبتیکوم و آزیلوپس را بررسی نمودند و نتایج آن ها نشان داد در شرایط تنش خشکی

urartu با میزان تشابه ژنتیکی ۹۰ درصد در یک گروه قرار گرفتند.

در بررسی (Tahernezhad et al. (2010) از نشانگرهای SSR در بررسی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف *Ae. tauschii* استفاده شد. در این مطالعه با استفاده از ۱۹ نشانگر SSR در مجموع ۲۰۸ آلل شناسایی شد و متوسط تعداد آلل برای هر لوکوس ۱۰/۹۴ بود. همچنین با توجه به ضرایب تشابه ژنتیکی و دندروگرام به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای نشان داده شد که سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های بررسی شده وجود دارد. در یک مطالعه دیگر (Naghavi et al. (2010) در بررسی ساختار جمعیت گونه‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای SSR گزارش کردند که میزان هتروزیگوتی مشاهده شده (Ho)، تنوع ژنتیکی (He) و شاخص شانون (I) در توده‌های نمونه‌برداری شده از نواحی شمالی ایران نسبت به سایر مناطق بیشتر بوده و میزان تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های *T. aestivum* به مراتب بسیار کمتر از تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های وحشی *Ae. tauschii* است. علاوه بر این، این محققان اظهار داشتند که وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های جمع‌آوری شده از استان‌های گلستان، مازندران نسبت به نمونه‌های مربوط به استان‌های اردبیل، قزوین و سمنان نشان می‌دهد که این مناطق می‌توانند منبع بالقوه‌ای از پتانسیل‌های اصلاحی مفید را برای اصلاح گندم فراهم آوردند.

با در نظر گرفتن موارد ذکر شده، این بررسی با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* با استفاده از نشانگرهای SSR مبتنی بر ژنوم D انجام شد. به نظر می‌رسد نتایج این پژوهش بتواند در حصول اطلاعاتی در رابطه با میزان تنوع موجود در این دو گونه خویشاوند وحشی و همچنین ایجاد یک دیدگاه جدید در خصوص بررسی‌های تکمیلی آن‌ها چه در سطح مولکولی و چه در سطح ساز و کارهای مورفو-فیزیولوژیکی ایجاد نماید.

توده‌های مربوط به گونه *Ae. cylindrica* به همراه برخی از توده‌های مربوط به گونه‌های *Ae. neglecta*، *Ae. tauschii* و *Ae. speltoides* دارای پتانسیل اصلاحی ایده‌آلی می‌باشند.

یکی از مهم‌ترین ابزارهای ارزیابی تنوع ژنتیکی نشانگرهای مولکولی می‌باشند. تا کنون سیستم‌های نشانگری فراوانی جهت بررسی و ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در گیاهان زراعی مختلف و خویشاوندان وحشی آن‌ها به کار گرفته شده‌اند. در بین نشانگرهای مولکولی، ریزماهورها (¹SSR) از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. این نشانگرها شامل واحدهای تکی تا شش تایی تکرار شونده‌ای هستند که در ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها پراکنده شده‌اند، به طوری که در هر ده کیلو جفت‌باز از ردیف DNA دست کم یک ردیف ریزماهوره‌ای دیده می‌شود (Litt and Luty (1989). با توجه به این ویژگی این سیستم نشانگری در بسیاری از گونه‌های گیاهی و جانوری در ارزیابی تنوع ژنتیکی و یا حتی بررسی روابط فیلوژنتیکی بکار گرفته شده است. در رابطه با استفاده از نشانگرهای SRR در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گندم و خویشاوندان وحشی مطالعات گوناگونی در ایران و سایر نقاط جهان موجود است. به عنوان مثال، (Saeidi et al. (2006) در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌هایی از گونه *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران از نشانگرهای SSR استفاده کردند و براساس نتایج آن‌ها سطح بالایی از تنوع ژنتیکی مشاهده شد به طوری که متوسط میزان چندشکلی نیز بالا (۰/۶۵) بود. در مطالعه‌ای دیگر (Naghavi et al. (2009) به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در بین مجموعه‌های از توده‌های وحشی *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از نواحی غربی ایران از نشانگرهای RAPD، AFLP و SSR استفاده کردند. با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه این محققان مشخص شد که نشانگرهای SSR نسبت به دو سیستم نشانگری دیگر از میزان اطلاعات چندشکلی بالاتری برخوردار هستند. در بررسی که توسط Ehtemam et al. (2010) به منظور اثبات روابط بین گونه‌های تریتیوم برخوردار از ژنوم A جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران توسط نشانگرهای SSR صورت گرفت پس از تجزیه کلاستر و گروه بندی گونه‌های مورد مطالعه، گونه‌های *T. boeoticum* و *T.*

¹ Simple sequence repeats

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۹۱ توده *Aegilops* از گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* بود که بذور آن‌ها از بانک ژن غلات دانشگاه ایلام تهیه و مشخصات آن در جدول ۱ آورده شده است. پس از کشت بذرها در شرایط گلخانه و تولید گیاهچه، استخراج DNA ژنومی از بافت مزوفیل برگ‌های جوان بر اساس روش CTAB انجام شد (Doyle And Doyle 1987). کیفیت DNA استخراجی توسط الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های مورد بررسی از ۲۵ جفت آغازگر SSR استفاده و توالی آن‌ها در جدول ۲ ارایه شده است. پس از بهینه سازی شرایط تکثیر و تعیین دمای اتصال آغازگرهای منتخب، اجزای واکنش PCR شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر آغازگر، ۶ میکرولیتر آب دیونیزه و ۱۰ میکرولیتر Mastermix (2X) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بود و کلیه واکنش‌های تکثیر در دستگاه ترموسایکلر (مدل Biorad-T100) انجام شد. برنامه دمایی هر واکنش شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت ۴۵ ثانیه در دمای بهینه‌سازی شده برای آغازگر مربوطه، توسعه آغازگر (پلیمریزاسیون) به مدت ۱ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود.

پس از انجام واکنش تکثیر، محصول PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد تفکیک و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با Safeview انجام و عکس‌برداری از آن‌ها صورت گرفت. پس از امتیازدهی الگوهای بانندی بر اساس معیار یک (وجود باند) و صفر (عدم وجود باند)، مقادیر محتوای چندشکلی (^{1}PIC) و میزان هتروزیگوتی یا تنوع ژنی (H^2) برای هر جفت آغازگر با استفاده از نرم‌افزار PowerMarker محاسبه شد (Liu and Muse 2005). تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx انجام شد (Peakall)

¹ Polymorphic information content² Heterozygosity

(and Smouse 2006). مقادیر فواصل ژنتیکی بین جفت نمونه‌ها بر اساس ضریب فاصله جاکارد محاسبه و به منظور گروه‌بندی نمونه‌ها، آنالیزهای مربوطه شامل تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) و تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbor-joining با استفاده از نرم‌افزار MEGA ver.5.1 صورت گرفت (Tamura et al. 2011). تجزیه ساختار جمعیت در توده‌های ارزیابی شده نیز با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE صورت گرفت. در این تجزیه جهت یافتن زیر جمعیت‌های واقعی تجزیه بر پایه مدل بی‌زین (Bayesian) انجام و تعداد زیر جمعیت احتمالی بین ۲ تا ۶ به همراه ۱۰ بار تکرار در نظر گرفته شد. تعداد شاخص‌های burn-in و شاخص Markov Chain Monte Carlo (MCMC) در هر تکرار به تعداد مساوی و ۱۰۰۰۰ در نظر گرفته شد. سپس به منظور دستیابی به تعداد زیر جمعیت‌های واقعی از نرم‌افزار بر خط Structure Harvester (Earl and von Holdt 2012) استفاده شد.

نتایج و بحث

از مجموع ۲۵ جفت آغازگر SSR، ۲۴ آغازگر دارای تکثیر مناسب و قابل امتیازدهی بودند، به طوری که در مجموع ۴۹ قطعه چندشکل تکثیر نمودند. بر اساس نتایج مندرج در جدول ۲ مشخص شد به جز آغازگر Xgwm-639 سایر آغازگرهای استفاده شده دو قطعه چندشکل تکثیر نمودند. میانگین شاخص PIC برای آغازگرهای SSR برابر با ۰/۲۶ بود و دامنه تغییرات آن بین ۰/۰۱ تا ۰/۳۷ (بیش از نیمی از آغازگرها) متغیر بود. شاخص تنوع ژنی با متوسط ۰/۳۴ بین ۰/۰۱ و ۰/۵۰ متغیر بود. بیشترین مقدار این شاخص مربوط به آغازگرهای Xgwm-16، Xgwm-44، Xgwm-121، Xgwm-296، Xgwm-301، Xgwm-325، Xgwm-349، Xgwm-469، Xgwm-565، Xgwm-157، Xgwm-212 و Xgwm-484 بود. شاخص PIC احتمال تشخیص چندشکلی ایجاد شده توسط یک آغازگر بین دو فرد می‌باشد که به تعداد آل‌های قابل تشخیص و فراوانی آن‌ها وابسته است.

جدول ۱- کد دسترسی توده‌های مورد ارزیابی متعلق به گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica*

No.	Species	Code	No.	Species	Code	No.	Species	Code
۱	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00373	۳۱	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00132	۶۱	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-2063
۲	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00189	۳۲	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00095	۶۲	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-911
۳	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00236	۳۳	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00062	۶۳	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1699
۴	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00267	۳۴	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-01359	۶۴	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-587
۵	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00188	۳۵	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-01238	۶۵	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-794
۶	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00359	۳۶	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00239	۶۶	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-944
۷	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00403	۳۷	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00078	۶۷	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-2117
۸	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00210	۳۸	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00065	۶۸	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1742
۹	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00185	۳۹	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00391	۶۹	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-598
۱۰	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00156	۴۰	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00241	۷۰	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-744
۱۱	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-01746	۴۱	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00153	۷۱	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1473
۱۲	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00221	۴۲	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00390	۷۲	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1522
۱۳	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00200	۴۳	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00399	۷۳	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-675
۱۴	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00150	۴۴	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00201S	۷۴	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-730
۱۵	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00168	۴۵	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-01592	۷۵	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-689
۱۶	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00034	۴۶	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00388S	۷۶	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-50067
۱۷	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00078	۴۷	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00062S	۷۷	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-50174
۱۸	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00090	۴۸	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-365	۷۸	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00379
۱۹	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00406	۴۹	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-310	۷۹	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-01564
۲۰	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00258	۵۰	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-300	۸۰	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00881
۲۱	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00248	۵۱	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-309	۸۱	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00817
۲۲	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00388	۵۲	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-2066	۸۲	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00170
۲۳	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-01592	۵۳	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1589	۸۳	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00408
۲۴	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00202	۵۴	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-792	۸۴	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00319
۲۵	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00201	۵۵	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-947	۸۵	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00280
۲۶	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00406	۵۶	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1485	۸۶	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00149
۲۷	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00229	۵۷	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-1508	۸۷	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-01564
۲۸	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00090	۵۸	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-384	۸۸	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00830
۲۹	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00270	۵۹	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-2112	۸۹	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-01267
۳۰	<i>Ae. cylindrica</i>	IUGB-00059	۶۰	<i>Ae. crassa</i>	NPGBI-720	۹۰	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00334
						۹۱	<i>Ae. crassa</i>	IUGB-00284

باشند حاوی اطلاعات سودمند اندکی هستند. در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های آزیلوپس میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی را ۰/۲۲ و میانگین شاخص نشانگر را ۳/۷۱ گزارش کردند. (Thomas and Bebeli, 2010) از نظر شاخص H نیز نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج (Dresigacker et al. 2004) مطابقت داشت به طوری که در بررسی این محققان متوسط شاخص تنوع ژنی ۰/۴ گزارش شد. شاخص قدرت تفکیک یکی از پارمترهای مناسب برای انتخاب آغازگر به شمار می‌آید زیرا هم از تعداد افراد دارای باند و هم از تعداد آلل تأثیرپذیر می‌باشد. در واقع این شاخص توانایی تفکیک آغازگرهای انتخابی را نشان می‌دهد (Kayis et al. 2010). در مطالعه حاضر متوسط شاخص

شاخص تنوع ژنی نیز یکی از مهم‌ترین معیارهای ارزیابی تنوع آلی نشانگرها و میزان اطلاعات نشانگری در بررسی‌های ارزیابی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌هاست. بین شاخص PIC و H رابطه مستقیمی وجود دارد و همان‌گونه که مشاهده شد آغازگرهای برخوردار از مقادیر بالای PIC از نظر شاخص تنوع ژنی نیز دارای بیشترین مقادیر بودند. در بررسی Asghari et al. (2012) نیز آغازگرهای مربوط به ژنوم D نسبت به سایر آغازگرها دارای بیشترین میزان PIC بود. طبق گزارش Botstain et al. (1980) آغازگرهایی که PIC بزرگ‌تر از ۰/۵ داشته باشند دارای اطلاعات سودمند زیادی هستند، آغازگرهایی که مقادیر PIC آن‌ها بین ۰/۲۵ و ۰/۵ باشد سودمند هستند و آن‌هایی که کمتر از ۰/۲۵

بیشتری باند چندشکل و فراهم کردن اطلاعات بیشتری از ژنوم است. از این رو دستیابی به چنین نتایجی در این مطالعه دور از انتظار نبود.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس این نتایج میزان واریانس بین گونه‌ای برآورد شده (۵۲ درصد) بیشتر از واریانس درون گونه‌ای (۴۸ درصد) بود. بیشتر بودن واریانس بین گونه‌ای می‌تواند مؤید این باشد که گونه‌های فوق دارای بیشترین میزان تفرق از یکدیگر بوده به طوری که جریان ژنی درون هر یک از آن‌ها در کمترین میزان خود قرار دارد.

Rp برابر با ۱/۲۹ بود و بیشترین میزان آن برای آغازگرهای Xgwm-157 و Xgwm-515 (۱/۹۶) و کمترین مقدار آن برای آغازگر Xgwm-567 (۰/۹۷) برآورد شد. متوسط شاخص MI نیز ۰/۵۱ به دست آمد. دامنه تغییرات این شاخص بین ۰/۰۰۲ و ۰/۷۴ متغیر بود و بیشتر آغازگرها از مقادیر مشابهی برخوردار بودند. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد مقادیر Rp و MI تا حدودی کمتر از حد انتظار بوده که دلیل آن می‌تواند ناشی از تکثیر حداکثر دو قطعه چندشکل توسط هر یک از آغازگرها می‌باشد. پیش از این (Milbourne et al. 1997) اظهار داشتند زیاد بودن مقادیر شاخص‌های Rp و MI نشان‌دهنده تولید تعداد

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای SSR استفاده شده و نتایج حاصل از تکثیر آن‌ها در جمعیت‌های گندم وحشی *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica*

MI	Rp	PIC	تنوع ژنی	تعداد آلل	آغازگر
۰/۷۴	۰/۹۹	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-16
۰/۷۴	۱/۰۲	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-44
۰/۰۰۲	۱/۵۹	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۲	Xgwm-111
۰/۷۴	۱/۱۶	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-121
۰/۶۸	۱/۴۴	۰/۳۴	۰/۴۴	۲	Xgwm-271
۰/۰۰۲	۱/۹۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۲	Xgwm-272
۰/۱۲	۱/۷۰	۰/۰۶	۰/۰۶	۲	Xgwm-292
۰/۷۴	۰/۹۹	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-296
۰/۷۴	۱/۰۲	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-301
۰/۷۴	۰/۹۸	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-325
۰/۷۴	۱/۰۹	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-349
۰/۶۸	۱/۱۶	۰/۳۴	۰/۴۳	۲	Xgwm-382
۰/۷۴	۱/۴۴	۰/۳۷	۰/۴۹	۲	Xgwm-455
۰/۷۴	۰/۹۸	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-469
۰/۰۰۲	۱/۹۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۲	Xgwm-515
۰/۷۴	۰/۹۷	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-565
۰/۰۰۲	۱/۵۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۲	Xgwm-583
۰/۱۶	۱/۴۴	۰/۰۸	۰/۰۸	۲	Xgwm-608
۰/۰۶	۱/۶۷	۰/۰۳	۰/۰۲	۲	Xgwm-624
۰/۷۴	۱/۹۶	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-157
۰/۷۴	۱/۳۵	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-212
۰/۶۶	۱/۶۶	۰/۳۳	۰/۴۱	۲	Xgwm-232
۰/۷۴	۱/۱۷	۰/۳۷	۰/۴۹	۲	Xgwm-311
۰/۷۴	۱/۰۲	۰/۳۷	۰/۵۰	۲	Xgwm-484
۰/۵۱	۱/۲۹	۰/۲۶	۰/۳۴	۱/۹۶	میانگین

جدول ۳- تجزیه واریانس مولکولی بر اساس آغازگرهای SSR در دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica*

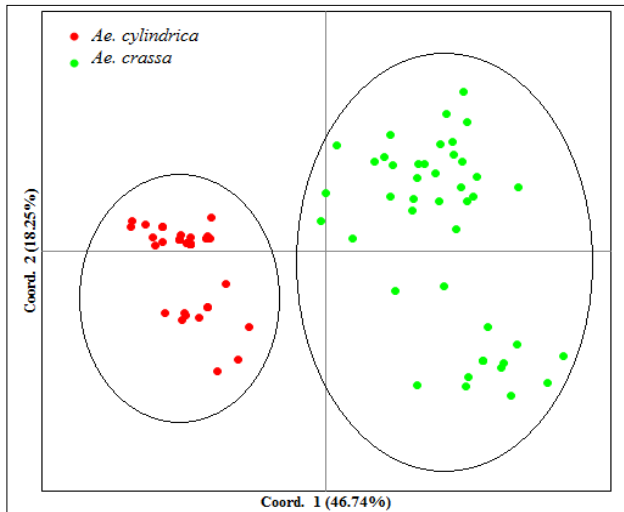
منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	درصد واریانس
بین گونه‌ای	۱	۱۷۹/۱۰	۳/۸۶	۵۲
درون گونه‌ای	۸۹	۳/۵۸	۳/۵۸	۴۸

حاصل از این بررسی متناقض بود. در مقابل نتایج Etmnan et al. (2019) با نتایج این بررسی مطابقت نشان داد. این محققان با ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ۲۲۸ توده مربوط به گونه‌های آزیلوپس و تریتیکوم با استفاده از نشانگرهای CDBP نشان دادند که گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* از نظر کلیه پارامترهای ژنتیکی دارای مقادیر بالاتری هستند. (Arabbeigi et al. 2014) نیز در ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های *Ae. cylindrica* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران از نشانگرهای ریزماهواره استفاده نمودن و نتایج حاصل از بررسی آن‌ها بیانگر سطح بالایی از تنوع مولکولی در توده‌های مورد بررسی بود. علاوه بر این، این محققان واکنش توده‌های مذکور در برابر تنش شدید شوری را بررسی و اظهار داشتند که گونه *Ae. cylindrica* می‌تواند به‌عنوان منبع ژنی مهمی برای جستجوی ژن‌های الفاکنده مقاومت به شوری در نظر گرفته شوند. علاوه بر این Ahmadi et al. (2018a) با بررسی تنوع آلی زیر واحدهای گلوتمین و گلیادین بر اساس نشانگرهای اختصاصی مبتنی بر DNA گزارش کردند میزان اطلاعات شانون، تنوع ژنی و درصد چندشکلی در توده‌های *Ae. crassa* بیشتر از *Ae. cylindrica* می‌باشد. به‌منظور بررسی میزان شباهت بین توده‌های مختلف و گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریس تشابه جاکارد و الگوریتم نزدیک‌ترین همسایه (Neighbor-joining)، تجزیه خوشه‌ای انجام و دندروگرام آن در قالب شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به دندروگرام به‌دست آمده مشخص شد کلیه توده‌های مورد بررسی بر اساس ساختار ژنومی آن‌ها یا به اصلاح بر اساس نوع گونه در دو گروه کاملاً متمایز و جداگانه تفکیک شدند.

پیش از این Ahmadi et al. (2020) نیز در ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های آزیلوپس واجد ژنوم D با استفاده از نشانگرهای TRAP نشان دادند که میزان تنوع بین گونه‌ای بیش از درون گونه‌ای می‌باشد که در این رابطه با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت نشان داد. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی در گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* برخی از پارامترهای تنوع ژنتیکی مانند تعداد آل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آل‌های مؤثر (Ne)، شاخص اطلاعات شانون (I)، شاخص تنوع ژنی نی (H) و درصد چندشکلی مکان‌های ژنی (PPL) برای هر یک از گونه‌ها محاسبه و نتایج آن‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میانگین هر یک از شاخص‌های Na ، Ne ، H و PPL به‌ترتیب با مقادیر ۱/۴۱، ۱/۳۱، ۰/۲۸، ۰/۱۸ و ۵۳/۰۶ در گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* بیشتر بود. از این رو بر اساس این نتایج می‌توان اظهار داشت ژرم پلاسم *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* از میزان تنوع درون گونه‌ای بالایی برخوردار است که این تنوع می‌تواند امکان یافتن ژن‌ها و آل‌های مفیدی را برای به‌نژادگران گندم فراهم آورد. در واقع این نتیجه با بررسی تعداد باندهای اختصاصی (NPB) مشاهده شده در مجموعه توده‌های مربوط به هر گونه تایید شد زیرا گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* از تعداد NPB بیشتری برخوردار بود. اگرچه در بیشتر مطالعات انجام شده سطح بالایی از تنوع آلی در گونه مورد مطالعه گزارش شده است با این حال در بررسی Pour-Aboughadareh et al. (2018) میزان پارامترهای ژنتیکی برآورد شده با استفاده از نشانگرهای SCoT در گونه *Ae. cylindrica* بیشتر از *Ae. crassa* بود که این مطالعه با نتایج

جدول ۴- مقادیر برآورده شده پارامترهای ژنتیکی در دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* بر اساس آغازگرهای SSR

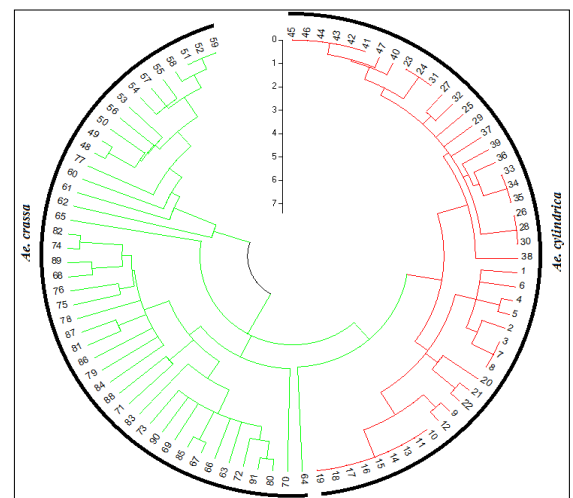
<i>Ae. crassa</i> (n = 44)	<i>Ae. cylindrica</i> (n = 47)	پارامتر ژنتیکی
۱/۴۱ ± ۰/۱۰	۱/۲۴ ± ۰/۰۹	تعداد آل‌های مشاهده شده (Na)
۱/۳۱ ± ۰/۰۵	۱/۱۶ ± ۰/۰۴	تعداد آل‌های مؤثر (Ne)
۰/۲۸ ± ۰/۰۴	۰/۱۶ ± ۰/۰۳	شاخص اطلاعات شانون (I)
۰/۱۸ ± ۰/۰۳	۰/۱۰ ± ۰/۰۲	شاخص تنوع ژنی نی (H)
۵۳/۰۶	۳۸/۷۸	درصد چندشکلی مکان‌های ژنی (PPL)
۴	۳	تعداد باندهای اختصاصی (NPB)



شکل ۲- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) بر اساس داده‌های SSR

نتایج حاصل از تجزیه ساختار جمعیت نشان داد کلیه توده‌های بررسی شده در ۵ گروه از یکدیگر متمایز شدند. به عبارت دیگر مقدار K در حالت بهینه برابر ۵ برآورد شد ($K = 5$). شاخص F_{ST} دارای دامنه تغییراتی بین ۰/۵۲ تا ۰/۹۰ با میانگین ۰/۷۶ بود. در واقع این نتیجه بیانگر جدایی ژنتیکی زیر جمعیت‌های مشاهده شده در بین توده‌های مورد ارزیابی می‌باشد. یکی از دلایل اصلی بالا بودن مقدار F_{ST} می‌تواند ناشی از ایزوله بودن جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف باشد که پس از سالیان طولانی به واسطه سازگار شدن به شرایط رشدی خود از دیگر جمعیت‌ها متمایز شده‌اند. در واقع می‌توان عنوان نمود میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها در حد پایینی قرار دارد. با بررسی الگوی گروه‌بندی توده‌ها مشاهده شد زیر جمعیت اول (Pop-1) در برگرنده ۲۶ توده از گونه *Ae. crassa*، زیر جمعیت دوم (Pop-2) شامل هشت توده از گونه *Ae. cylindrica*، زیر جمعیت سوم (Pop-3) شامل ۲۰ توده از گونه *Ae. cylindrica*، زیر جمعیت چهارم شامل ۱۵ توده از گونه *Ae. crassa*، زیر جمعیت پنجم نیز شامل ۱۹ توده از گونه *Ae. cylindrica* بود. توده شماره ۶۲ نیز با دارا بودن سهم عضویت کمتر از ۰/۵ در هیچ زیر جمعیتی قرار نگرفت. این الگوی گروه‌بندی به‌خوبی نشان داد هر یک از زیر جمعیت‌ها به‌صورت کاملاً واضحی از یکدیگر تفکیک شده و دلیلی بر تمایز ژنتیکی آن‌ها دارد به‌طوری‌که این الگو با ضرایب F_{ST} برآورد شده برای هر زیر جمعیت تایید شد. شاخص F_{ST} برای زیر

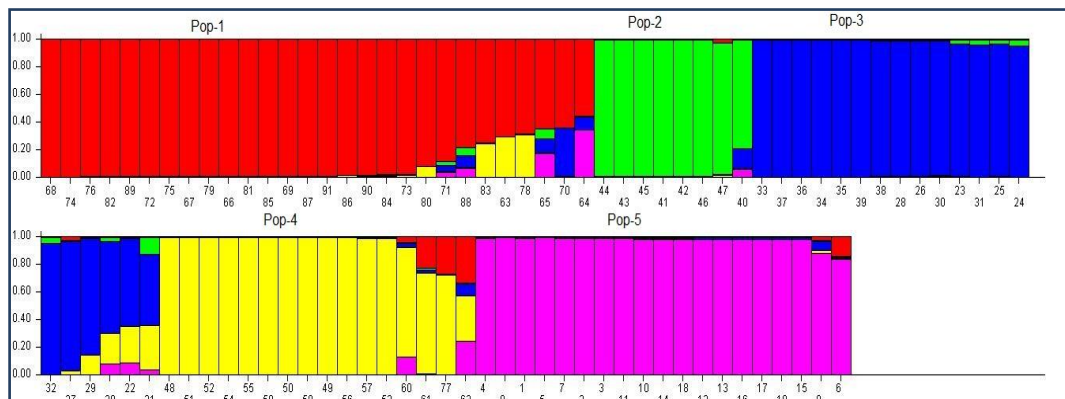
از این‌رو گروه اول شامل کلیه توده‌های مربوط به گونه *Ae. cylindrica* و گروه دوم شامل کلیه توده‌های مربوط به گونه *Ae. crassa* بود. این نتایج قابلیت آغازگرهای SSR استفاده شده در این بررسی را نشان می‌دهد که اگرچه تمامی آن‌ها مبتنی بر ژنوم D بوده‌اند به خوبی قادر هستند زیرگونه‌های مختلف را از یکدیگر متمایز نمایند. از این‌رو چنین آغازگرهای جهت بکارگیری در ارزیابی‌های فیلوژنتیکی کارآمد خواهند بود. این نتایج با دیگر مطالعات صورت گرفته با استفاده از نشانگرهای مولکولی همچون TRAP، SCoT و CDBP هم‌خوانی نشان داد (Pour-Aboughadareh et al. 2018; Etmnan et al. 2019; Ahmadi et al. 2020; Pour-Aboughadareh et al. 2019). اطلاعات حاصل از آل‌های نمره‌دهی شده با روش تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) مورد بررسی تکمیلی قرار گرفت (شکل ۲). نتایج حاصل از این تجزیه نشان داد دو مؤلفه نخست در مجموع ۶۴/۹۸ درصد از اطلاعات مولکولی را در برداشتند که این به‌نوبه خود می‌تواند نشان دهنده پراکنش گسترده آغازگرهای مختلف بر روی ژنوم گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* باشد زیرا سهم هر یک از مؤلفه‌ها به‌خوبی بیانگر توزیع مناسب آغازگرها در ژنوم بود. با بررسی پراکنش توده‌های مربوط به هر گونه در نمودار بای‌پلات ترسیم شده بر اساس دو مؤلفه نخست مشاهده شد که گروه‌بندی به‌دست آمده از این روش تا حد زیادی با دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابقت دارد.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های SSR به‌دست آمده در ۹۱ توده وحشی *Ae. Crassa* و *Ae. cylindrica*

وجود دارد که این میزان تنوع ژنتیکی می‌تواند به‌عنوان ابزاری جهت بهره‌برداری از این منابع ژرم‌پلاسمی در برنامه‌های اصلاحی گندم به‌کار گرفته شود. لذا توصیه می‌شود مطالعات تکمیلی چه در سطح مولکولی و چه در سطح گلخانه‌ای و مزرعه‌ای جهت غربال تعداد بیشتری توده از هر یک از گونه‌های فوق با هدف شناسایی ژن‌ها و آلل‌های مرتبط با القای تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده و حتی کیفیت دانه صورت گیرد.

جمعیت‌های اول تا پنجم به‌ترتیب عبارت بود از ۰/۸۴، ۰/۹۰، ۰/۸۱، ۰/۵۲، ۰/۸۹ و ۰/۶۳. از این‌رو می‌توان اظهار داشت هر یک از زیر جمعیت‌های مورد بررسی دارای حداکثر تمایز ژنتیکی از یکدیگر هستند. با در نظر گرفتن نتایج به‌دست آمده از تجزیه‌های آماری مختلف مشخص شد سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های وحشی *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* بر اساس داده‌های SSR



شکل ۳- گروه‌بندی ۹۱ توده متعلق به گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* بر اساس داده‌های SSR و مبتنی بر مدل Bayesian

منابع

Ahamdi J, Pour-Aboughadareh A, Fabriki-Ourang S, Mehrabi AA (2018a) Molecular detection of glutenin and gliadin genes in the domesticated and wild relatives of wheat using allele-specific markers. *Cereal Research Communication* 46:510–520.

Ahmadi J, Fabriki-Ourang S, Pour-Aboughadareh A (2020) Evaluation of genetic diversity in *Aegilops* populations possessing D genome using SCoT and TRAP markers. *Modern Genetics* 14:221–230.

Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Ourang SF, Mehrabi AA, Siddique KHM (2018b) Wild relatives of wheat: *Aegilops-Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 40:90.

Ahmadi J, Pour-Aboughadarh A, Fabriki-Ourang S, Mehrabi AA, Siddique KHM (2018c) Screening wheat germplasm for seedling root architectural traits under contrasting water regimes: potential sources of variability for drought adaptation. *Archives of Agronomy and Soil Science* 64:1351-1365.

Arabbeigi M, Arzani A, Majidi MM, Kiani R, Tabatabaei BES, Habibi F (2014) Salinity tolerance of *Aegilops cylindrica* genotypes collected from hyper-saline shores of Uremia Salt Lake using physiological traits and SSR markers. *Acta Physiologiae Plantarum* 36:2243–2251.

Asghari S, Mirfakhraei R, Abbasi A (2012) Genetic diversity of some of Bread wheat cultivars using SSR molecular markers and some of physiological traits under chilling stress. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares, Iran. (In Farsi).

Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *The American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331

Doyle JJ, Doyle KJ (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19:11–15.

Dresigacker S, Zhang P, Warburton ML, Ginkelt ML, Hoisington DA, Bohn M, Melchinger AE (2004) SSR and pedigree analyses of genetic diversity among CIMMYT wheat lines targeted of different megaenvironments. *Crop Science* 44:381–388.

Earl DA, vonHoldt BM (2012) Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetic Resources* 4: 359–361.

Ehtemam M, Rahiminejad MR, Saeidi H, Sayed Tabatabaei BE, Krattinger S, Keller B (2010) Relationships among the A genomes of *Triticum* L. species

- as evidenced by SSR markers in Iran. *International Journal of Molecular Sciences* 11:4309–4325.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mehrabi AA, Shoostari L, Ahmadi-Rad A, Moradkhani H (2019) Molecular characterization of the wild relatives of wheat using CAAT-box derived polymorphism. *Plant Biosystem*. 153:398–405.
- Hajjar R, Hodgking T (2007) The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156:1–13.
- Hedge SG, Valkoun J, Waines JG (2002) Genetic diversity in wild and weedy *Aegilops*, *Amblyopyrum*, and secale species a preliminary survey. *Crop Science* 42:608–614.
- Kayis SA, Hakki EE, Pinarara 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* 5:2925–2933.
- Kilian B, Ozkan H, Deusch O, Effgen Sm Brandolini A, Kohl J, Martin W, Salamini F (2007) Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes. *Molecular Biology Evolution* 24:217–227.
- Kimber G, Feldman M (1987) Wild wheat: An introduction. University of Missouri, Columbia.
- Litt and Luty (1989) A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *The American Journal of Human Genetics* 44:397–401.
- Liu K, Muse SV (2005) PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics* 21:2128–2129.
- Maxted N, Ford-Lloyd BV, Jury SL, Kell SP, Scholten MA (2006) Towards a definition of a crop wild relative. *Biodiversity and Conservation* 15:2673–2685.
- Milbourne D, Meyer R, Bradshaw JE, Baird E, Bonar N, Provan J, Powell W, Waugh R (1997) Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Molecular Breeding* 3:127–136.
- Morris R, Sears ER (1967) The cytogenetics of wheat and its relatives. In: Quisenberry KS, Reitz LP (Eds.) *Wheat and wheat improvement*. American Society of Agronomy. Monographs, Madison, Wisconsin, 9–87.
- Naghavi MR, Hajikram M, Taleei AR, Aghaei MJ (2010) Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of *Aegilops tauschii* Coss. in northern Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57:423–430.
- Naghavi MR, Maleki M, Alizadeh H, Pirseiedi M, Mardi M (2009b) An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat *Triticum boeoticum* from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. *Journal of Agricultural Science and Technology* 11:585–598.
- Nevo E (1998) Genetic diversity in wild cereals: regional and local studies and their bearing on conservation ex situ and in situ. *Genetic Resource and Crop Evolution* 45:355–370.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology* 6:288–295.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M (2018b) Insight into the genetic variability analysis and relationships among some *Aegilops* and *Triticum* species, as genome progenitors of bread wheat, using SCoT markers. *Plant Biosystem* 152:694–703.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Moghaddam M, Etminan E, Siddique KHM (2017) Physiological responses to drought stress in wild relatives of wheat: implications for wheat improvement. *Acta Physiologiae Plantarum* 39:49.
- Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shoostari L, Maleki-Tabrizi N (2019) Comparative assessment of SCoT and CBDP markers for investigation of genetic diversity existing in different *Aegilops* species. *Agricultural Biotechnology Journal* 11:153–174.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Pour-Aboughadareh A, Omidi M, Etminan A, Mehrabi AA (2018) The importance of wild wheat germplasm in breeding for resistance to abiotic stresses. *Modern Genetics* 12:489–493.
- Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Heslop-Harison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. in Iran measured using microsatellites. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:1477–1484.
- Schneider A, Molnar I, Molnar-Lang M (2008) Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica* 163:1–19.
- Tahernezhad Z, Zamani MJ, Solouki M, Zahravi M, Imamjomeh AA, Jafaraghaei M, Bihamta MR (2010) 'Genetic diversity of Iranian *Aegilops tauschii* Coss. using microsatellite molecular markers and morphological traits. *Molecular Biology Reports* 37:3413–3420.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher Gm Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28:2731–2739.
- Thomas, K.G. and Bebeli, P.J. (2010). Genetic diversity of Greek *Aegilops* species using different types of nuclear genome markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56: 951–961.
- Warschefskey E, Penmetza RV, Cook DR, von Wettberg EJB (2014) Back to the wilds: tapping evolutionary adaptations for resilient crops through systematic hybridization with crop wild relatives. *American Journal of Botany* 101:1791–1800.