ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحه ۳۳۵ - ۳۲۳

بررسی تنوع ژنتیکی در سه گونه مختلف آژیلوپس با استفاده از نشانگرهای CBDP, SCOT و ISSR

Assessment of genetic diversity among three different species of Aegilops sp. using CBDP, SCoT and ISSR markers

غزل قبادی[۱]، علیرضا اطمینان*[۲]، علی‌مهراس مهرابی[۳]، لیا شوشتری[۳]

۱- دانشجوی دکترا، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۳- استادیاران، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

Ghobadi Gh[1], Etminan A[*2], Mehrabi AM[3], Shooshtari L[3]

1- PhD Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
2- Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran
3- Assistant Professors, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alietminan55@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۰۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۹)

چکیده

جنس آژیلوپس یکی از مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم به‌شمار می‌رود و گونه‌های مختلف این جنس پراکنش وسیعی به‌ویژه در مناطق خاورمیانه و غرب آسیا دارند. آگاهی از تنوع ژنتیکی خویشاوندان وحشی گندم اطلاعات مفیدی را برای استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی گندم فراهم می‌کند. در این مطالعه تنوع ژنتیکی در ۶۰ اکسشن از سه گونه مختلف آژیلوپس با استفاده از سه نشانگر DNA متفاوت مورد بررسی قرار گرفت. آغازگرهای CBDP، SCoT و ISSR به‌ترتیب ۱۳۰، ۱۳۵ و ۱۵۲ قطعه چند شکل را تکثیر نمودند. متوسط مقدار شاخص اطلاعات چند شکل (PIC) برای آغازگرهای CBDP، SCoT و ISSR به‌ترتیب ۰/۳۷ ۰/۳۴ و ۰/۳۹ به‌دست آمد که نشان‌دهنده کارایی و قدرت تفکیک بالا و مناسب این نشانگرها بود. تجزیه کلاستر داده‌های نشانگرها ۶۰ اکسشن مورد مطالعه را در سه گروه اصلی طبقه‌بندی کرد که این گروه‌بندی کاملاً منطبق با ساختار ژنتیکی و بر اساس گونه‌های مربوطه بود. نتیجه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس داده‌های CBDP، ISSR و SCoT نشان داد که سهم واریانس بین گونه‌ای به‌ترتیب ۶۶ درصد، ۴۵ درصد و ۴۲ درصد از میزان تنوع کل می‌باشد. علاوه بر این، در بین سه گونه مورد مطالعه گونه *Ae. triuncialis* بیشترین تعداد آل‌های اختصاصی را بر اساس نشانگرهای مختلف نشان داد که این موضوع می‌تواند نمایانگر تنوع بالا و زمینه ژنتیکی منحصربه‌فرد این گونه باشد. نتایج این تحقیق سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را درون سه گونه مورد مطالعه نشان داد که حاکی از پتانسیل بالای این مواد ژنتیکی برای به‌کارگیری در برنامه‌های به‌نژادی گندم است. همچنین یافته‌های تحقیق مشخص نمود که هر سه سیستم نشانگری تکنیک‌هایی مناسب و کارآمد برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشند، اگرچه یقیناً استفاده از نشانگرهای CBDP و SCoT که تنوع را بر اساس چندشکلی موجود در توالی‌های نواحی فعال ژنوم مشخص می‌نمایند بر نشانگرهای تصادفی و نیمه تصادفی ارجحیت دارد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
خویشاوندان وحشی
گندم
نشانگرهای DNA

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

مقدمه

نشانگرهای DNA یکی از این ابزارهای کارآمد و پرکاربرد برای مطالعات تنوع ژنتیکی در انواع ژرم پلاسم‌های گیاهی، جانوری و ریزسازواره‌ای به‌شمار می‌آیند و در تحقیقات به‌نژادی، انگشت‌نگاری و تهیه شناسنامه ملکولی و همچنین برنامه‌های حفاظت از ذخایر ژنتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه انتخاب یک نشانگر بر اساس اهداف و اولویت‌های پژوهشگر متفاوت خواهد بود اما هزینه مناسب، سهولت کاربرد، تکرارپذیری، قابلیت اعتماد و میزان آگاهی‌بخشی مواردی هستند که همواره در انتخاب نشانگر مطلوب مدنظر قرار می‌گیرند.

علاوه بر موارد یاد شده، نشانگرهای هدفمند ژنی، با توجه به ایجاد چندشکلی مبتنی بر نواحی فعال و عملکردی ژنوم که می‌تواند به‌طور مستقیم با عملکرد ژن‌ها مرتبط باشد از جمله نشانگرهایی هستند که برای مطالعات تنوع ژنتیکی از اولویت برخوردارند (Paliwal et al. 2013).

نشانگر ISSR یک نشانگر نیمه تصادفی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است که با استفاده از یک آغازگر مکمل با توالی‌های ریزماهواره قطعاتی از ژنوم که بین دوقطعه متوالی و معکوس از یک موتیف مشخص قرار دارند را به‌عنوان محصول نهایی تکثیر می‌کند. طراحی آغازگرهای ISSR نیازی به آگاهی از توالی ژنوم ندارد و محصول محصول حاصل از تکثیر آن‌ها را می‌توان بر روی هر دو نوع ژل آگارز و پلی‌اکریل‌آمید تفکیک نمود. تعداد باندهای تکثیر شده و میزان چندشکلی این آغازگرها در مقایسه با بسیاری از نشانگرهای مبتنی بر PCR بیشتر است و الگوهای باندی از تکرارپذیری بالایی برخوردار هستند. از این رو این نشانگر در مطالعات تنوع ژنتیکی به‌خصوص در گونه‌های گیاهی دارای کاربرد زیادی می‌باشد (Reddy et al. 2002; Lalhruaitluanga and Prasad 2009).

از سوی دیگر با پیشرفت روش‌های مولکولی چندین سیستم نشانگری جدید معرفی شده‌اند که تحت عنوان نشانگرهای هدفمند ژنی نامیده می‌شوند. نشانگر CBDP یکی از این نشانگرها می‌باشد که بر اساس تکثیر قطعات ژنومی حاصل از اتصال پرایمر به توالی‌های مجاور جعبه CAAT پروموتر ژن‌های گیاهی، چندشکلی مبتنی بر نقاط هدفمند ژنوم ایجاد نمایند. (Singh et al. 2014). در این سیستم نشانگری نیز مانند نشانگر ISSR قطعات ژنوم با استفاده از یک آغازگر تکثیر می‌شود لیکن تنوع را بر اساس نواحی فعال و عملکردی ژنوم بیان می‌کند و به‌دلیل بهره‌گیری از آغازگرهایی با طول مناسب و دمای آنیلینگ بیشتر تکثیر تخصصی‌تری داشته و تکرارپذیری بالاتری را نشان می‌دهند (Singh et al. 2014).

ساختار آغازگرهای CBDP از سه بخش اصلی تشکیل یافته که عبارتند از: توالی CCAAT به‌عنوان هسته اصلی و ثابت تمامی آغازگرها؛ یک توالی ۱۰ تا ۱۱ نوکلئوتیدی که در انتهای ′۵ (پیش از توالی حفاظت شده CCAAT) قرار می‌گیرد؛ و دو تا سه نوکلئوتید انتخابی در انتهای ′۳ آغازگر که عامل ایجاد تفاوت در الگوهای باندی حاصل از آغازگرهای مختلف می‌باشد. با استفاده از آغازگرهای CBDP قطعاتی از ژنوم با طول تقریبی ۲۵۰ تا ٤۳۰۰ نوکلئوتید قابل تکثیر خواهند بود و محصول PCR را می‌توان بر روی ژل‌های آگارز تفکیک نمود (Singh et al. 2014).

مطالعات Collard and Mackill (2009) نیز منجر به معرفی یک سیستم نشانگری هدفمند ژنی مبتنی بر نواحی کوتاه حفاظت شده اطراف کدون ATG شد که آن‌را SCoT نامیدند. آغازگرهای SCoT نیز بر اساس توالی‌های توافقی مجاور کدون آغاز (ATG) طراحی شده‌اند. این آغازگرها نیز با طولی برابر ۱۸ نوکلئوتید مبتنی بر یک توالی حفاظت شده طراحی شده‌اند و حداقل در یک نوکلئوتید در انتهای ′۳ با یکدیگر متفاوت می‌باشند. به لحاظ این‌که ناحیه اتصال آغازگر یک ناحیه حفاظت شده کوتاه در اطراف کدون آغاز در ژن‌های گیاهان است این نشانگر قابلیت کاربرد در طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی را دارا می‌باشد. الگوهای باندی حاصل از این آغازگرها نیز از تکرارپذیری بالا و میزان چندشکلی مناسبی در جمعیت‌های گیاهی برخوردار است (Collard and Mackill 2009).

جنس آژیلوپس (*Aegilops* sp.) دارای گونه‌هایی است که مهمترین خویشاوندان وحشی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند. این گونه‌ها همانند بسیاری از خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی حاوی ژن‌های مفیدی برای تحمل به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی هستند که به‌کارگیری این منابع ژرم پلاسمی می‌تواند

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

برنامه‌های به‌نژادی گندم بسیار ارزشمند باشد (Pour-Aboghaddareh et al. 2018a).

Ae. cylindrica یکی از مهم‌ترین گونه‌های آژیلوپس است که دارای پراکنش جغرافیایی وسیعی می‌باشد. این گونه از نظر ژنومی یک گونه تتراپلویید با ژنوم DC است که ژنوم C را از گونه *Ae. coudata* و ژنوم D را از گونه *Ae. tauschii* دریافت نموده است. *Ae. triuncialis* نیز یک گونه آلوتتراپلوئید با فرمول ژنومی UC و عدد کروموزومی (۲n=٤x=۲۸) می باشد و در بین انواع گونه‌های آژیلوپس بیشترین میزان پراکندگی و سازگاری را در طیف گسترده‌ای از محیط‌های رشد داراست. بر اساس نقشه پراکنش این گونه، نواحی شمال غرب، غرب و قسمت‌های از جنوب غرب، حاشیه ساحلی دریای خزر، و بخش‌های از جنوب و جنوب شرقی به‌عنوان عمده‌ترین نواحی پراکنش این گونه در ایران به شمار می‌روند (Kilian et al. 2011).

گونه *Ae. crassa* نیز مانند سایر گونه‌های آژیلوپس گونه‌ای یکساله است که با توجه به سازگاری بالا نسبت به شرایط محیطی دارای رویشگاه‌های نسبتاً وسیعی می‌باشد و به‌عنوان منبعی از ژن‌های تحمل به خشکی مورد توجه به‌نژادگران می‌باشد. این گونه از نظر سطح ژنومی می‌تواند دارای ساختار ژنومی تتراپلوئید DM و یا هگزاپلوئید DDM باشد.

در پژوهش حاضر تنوع ژنتیکی در ٦٠ اکسشن مختلف از آژیلوپس‌های ایران متعلق به سه گونه *Ae. triuncialis*، *Ae. cylindrical* و *Ae. crassa* با استفاده از سه نشانگر SCoT، CBDP و ISSR مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این بررسی، ارزیابی و مقایسه کارایی نسبی نشانگرهای مولکولی مورد اشاره در تعیین میزان تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم‌های گیاهی مختلف و قابلیت آن‌ها در تفکیک گونه‌های مختلف از یکدیگر و همچنین مقایسه نتایج حاصل از نشانگرهای هدفمند ژنی با نشانگرهای تصادفی مانند ISSR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق شامل ٦٠ اکسشن آژیلوپس جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران شامل ٢٠ اکسشن مختلف از هریک از سه گونه *Ae. triuncialis*، *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* بود (جدول۱). پس از کشت بذرها و رشد کافی گیاهچه‌ها، استخراج DNA ژنومی از بافت مزوفیل برگ تک گیاه با استفاده از روش CTAB (Doyle and Doyle 1987) انجام شد و کیفیت DNA ژنومی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸درصد مورد بررسی قرار گرفت.

جهت تکثیر قطعات ژنومی در مجموع از ٤٥ آغازگر مختلف استفاده شد که اطلاعات مربوط به آغازگرهای مورد استفاده در جدول ٢ ارائه شده است. در تمام واکنش‌های PCR حجم نهایی مخلوط واکنش ٢٠ میکرولیتر شامل ٢ میکرولیتر DNA ژنومی، ٢ میکرولیتر آغازگر، ٦ میکرولیتر آب دیونیزه و ١٠ میکرولیتر (2X) PCR master Mix بود. جهت بهینه‌سازی دمای اتصال آغازگرها از روش گرادیانت استفاده شد و واکنش‌های تکثیر در دستگاه ترموسایکلر Biorad مدل T-100 انجام شد.

برنامه دمایی هر واکنش شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ دقیقه و ٤٥ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت ٤٥ ثانیه در دمای ٩٤ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت ٤٥ تا ٦٠ ثانیه (بسته به نوع نشانگرها) در دمای بهینه شده، توسعه آغازگر (پلیمریزاسیون) به‌مدت ٩٠ ثانیه در دمای ٧٢ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت ٧ دقیقه در دمای ٧٢ درجه سانتی‌گراد بود.

قطعات تکثیر شده در واکنش PCR با استفاده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ١/٥ درصد تفکیک و ژل های حاصل به‌وسیله Safeview رنگ‌آمیزی شد. سپس تصویر الگوهای باندی، در دستگاه Gel documentation ثبت و امتیازدهی باندها به‌صورت صفر و یک (به‌ترتیب برای عدم وجود باند و وجود باند) انجام شد. برآورد فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب فاصله جاکارد انجام شد و به‌منظور گروه‌بندی نمونه‌ها، تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbor joining (NJ) انجام و دندروگرام های مربوطه رسم شد. برای این منظور نرم‌افزارهای DARwin ver. 6 (Perrier et al. 2003) و MEGA ver. 5.1 (Tamura et al. 2011) مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور تجزیه و تحلیل تنوع درون و بین جمعیت‌ها، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و همچنین برآورد پارامترهای ژنتیکی شامل درصد

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

لوکوس‌های چندشکل (PPL)، شاخص شانون (I)، هتروزیگوسی (He)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) و تعداد آلل‌های مؤثر (Ne) با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx- ver 6.5 (Peakall and Smouse 2006) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تکثیر قطعات ژنومی در ٦٠ اکسشن مورد بررسی از سه گونه مختلف آژیلوپس در جدول ١ ارائه شده است. همان‌گونه که در این جدول ملاحظه می‌شود تعداد کل باندهای تکثیر شده و تعداد باندهای چند شکل در نشانگر ISSR نسبت به دو نشانگر هدفمند ژنی بیشتر است که این موضوع با توجه به ماهیت و طبیعت آغازگرهای ISSR قابل انتظار است و معمولاً در سایر تحقیقات دیگر نیز مشابه این نتایج گزارش شده است (Heidari et al. 2017; Khodaee et al. 2021; Nouri et al. 2021). مقادیر شاخص‌های PIC و MI برای نشانگرهای مختلف در دامنه محدودی (٠/٣٤ برای نشانگر SCoT، ٠/٣٧ برای نشانگر CBDP و ٠/٣٩ برای نشانگر ISSR) با هم متفاوت است و تقریباً همه نشانگرها از کارایی نسبتاً خوبی برای تفکیک ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برخوردار هستند. بیشتر بودن نسبی شاخص MI در نشانگر ISSR را نیز می‌توان به تعداد بیشتر باندهای چندشکل در این نشانگر با توجه به ماهیت ذاتی آن نسبت داد. بنابراین به‌طور کلی بر اساس میزان شاخص‌های آگاهی بخش و با در نظر گرفتن تعداد برابر آغازگرهای مورد استفاده برای هریک از سیستم‌های نشانگری، می‌توان میزان چندشکلی آشکار شده توسط هر سه نشانگر را در حد مطلوبی ارزیابی نمود.

لیکن با توجه به ویژگی آغازگرهای SCoT و CBDP در انتخاب نقاط فعال ژنوم برای تکثیر به‌عنوان نشانگرهای هدفمند ژنی، استفاده از این نشانگرها در مقایسه با شانگرهای نیمه تصادفی ISSR ترجیح داده می‌شود.

در مقایسه کارایی سه سیستم نشانگری ISSR، CDDP و SCoT گزارش شده است که نشانگرهای SCoT قابلیت بالایی در تمایز ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام مختلف دارا هستند و با توجه به کم بودن تعداد قطعات تکثیری میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) در نشانگرهای SCoT به مراتب بیشتر از نشانگرهای ISSR و CDDP به‌دست آمد. به‌طور کلی نتایج حاصل از مطالعه این محققان نشان داد که نشانگرهای SCoT می‌توانند در ترکیب با سایر نشانگرها مانند ISSR به‌خوبی در تجزیه‌های ژنتیکی و بررسی روابط صفات به‌کار گرفته شوند (Hamidi et al. 2014). در مقایسه کارایی نشانگرهای SCoT و IRAP در بررسی تنوع ژنتیکی ٥٠ اکسشن پسته وحشی مشخص شد که نشانگرهای SCoT میزان اطلاعات چندشکلی بیشتری (٠/٤٨) نسبت به نشانگرهای IRAP (٠/٣٢) فراهم می‌کنند که این نتیجه نشان دهنده این است که نشانگرهای SCoT نسبت به IRAP توانایی بالایی در ارائه پلی‌مورفیسم موجود در جمعیت‌های مورد مطالعه دارند (Sorkheh 2016). همچنین در تحقیقی دیگر کارایی نشانگرهای CBDP در برابر سه سیستم نشانگری SCoT، ISSR و RAPD مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن نشان داد که در تعیین تنوع ژنتیکی، نشانگرهای CBDP به‌دلیل دارا بودن بیشترین مقادیر اطلاعات چندشکلی و قدرت تمایز آغازگرها نسبت به سه سیستم نشانگری دیگر به‌خوبی قادر تعیین ساختار جمعیت و گروه‌بندی توده‌های ارزیابی شده می‌باشد (Tiwari et al. 2016).

جدول ١- توالی آغازگرهای مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ٦٠ اکسشن آژیلوپس از سه گونه مختلف به‌همراه شاخص‌های آگاهی‌بخش برآورد شده برای آن‌ها

Primer	Sequence	TB	PB	PP%	PIC	MI
SCoT-1	CAACAATGGCTACCACCC	١٠	٩	٩٠	٠/٣٦	٣/٢
SCoT-2	CAACAATGGCTACCACCG	٩	٧	٧٨	٠/٣٦	٢/٥
SCoT-3	CAACAATGGCTACCACGA	٩	٨	٨٩	٠/٣٤	٢/٧
SCoT-4	CAACAATGGCTACCACGC	١١	٩	٨٢	٠/٢٦	٢/٣
SCoT-5	CAACAATGGCTACCACGG	١١	٨	٧٣	٠/٤٠	٣/٢
SCoT-6	ACGACATGGCGACCAACG	١٢	٩	٧٥	٠/٣٦	٣/٢

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

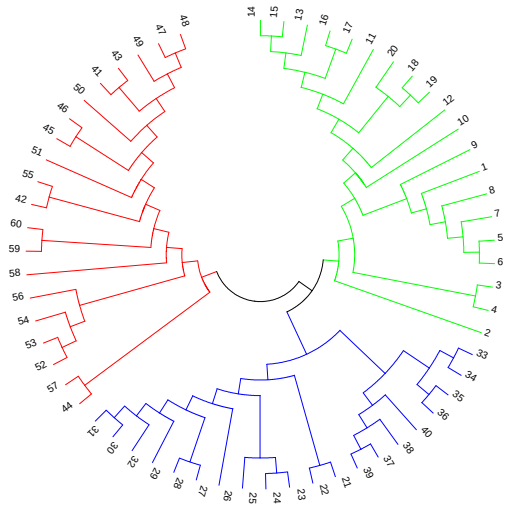
SCoT-7	ACGACATGGCGACCATCG	۱۲	۱۰	۸۳	۰/٤٤	٤/٤
SCoT-8	ACGACATGGCGACCACGC	۱۲	۱۲	۱۰۰	۰/۳۳	٤
SCoT-9	ACGACATGGCGACCGCGA	۹	۹	۱۰۰	۰/۳۷	۳/۳
SCoT-10	CCATGGCTACCACCGGCC	۱٤	۱۲	۸٦	۰/۳٦	٤/۳
SCoT-11	CATGGCTACCACCGGCCC	۱۲	۱۱	۹۲	۰/۳۰	۳/۳
SCoT-12	ACCATGGCTACCACCGCG	۱٤	۱۰	۷۱	۰/۲۷	۲/۷
SCoT-13	GCAACAATGGCTACCACC	۱۰	۷	۷۰	۰/۲۹	۲
SCoT-14	AACCATGGCTACCACCGC	۱۱	۷	٦٤	۰/۳۷	۲/٦
SCoT-15	CACCATGGCTACCACCAT	۸	۷	۸۸	۰/۳۷	۲/٦
	میانگین	۱۰/۹	۹	۰/۳٤	۳/۱	۰/۸۲
ISSR-1	DBDACACACACACACACA	۱٤	۱۲	۸٦	۰/٤۰	٤/۸
ISSR-2	GACAGACAGACAGACA	۱۲	۱۱	۹۲	۰/۳٦	٤
ISSR-3	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	۱٥	۱۲	۸۰	۰/۳۸	٤/٦
ISSR-4	ACACACACACACACACC	۱۲	۱۰	۸۳	۰/٤۱	٤/۱
ISSR-5	GAGAGAGAGAGAGAGARC	۱۲	۹	۷٥	۰/۳۹	۳/٥
ISSR-6	CTCTCTCTCTCTCTCTG	۱٥	۱۰	٦۷	۰/٤۱	٤/۱
ISSR-7	CACACACACACACACAG	۱٤	۱۲	۸٦	۰/۳۷	٤/٤
ISSR-8	ACACACACACACACACYA	۱۱	۸	۷۳	۰/٤۷	۳/۸
ISSR-9	GTGTGTGTGTGTGTGTYG	۱۲	۱۰	۸۳	۰/٤۱	٤/۱
ISSR-10	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۹	۳/۹
ISSR-11	AGAGAGAGAGAGAGAGT	۱۲	۱۰	۸۳	۰/٤۲	٤/۲
ISSR-12	ACACACACACACACACYG	۱٤	۸	٥۷	۰/۳۹	۳/۱
ISSR-13	CTCTCTCTCTCTCTCTRC	۱۱	۷	٦٤	۰/٤۱	۲/۹
ISSR-14	CACACACACACACACARG	۱٥	۱۲	۸۰	۰/۳٤	٤/۱
ISSR-15	TGTGTGTGTGTGTGTGRC	۱٥	۱۱	۷۳	۰/٤۰	٤/٤
	میانگین	۱۲/۹	۱۰/۱	۰/۳۹	۳/۹	۰/۷۸
CBDP-1	TGAGCACGATCCAAT AGC	۱٤	۱۰	۷۱	۰/۲۷	۲/۷
CBDP-2	TGAGCACGATCCAATAAT	۱۰	۷	۷۰	۰/۳٦	۲/٥
CBDP-3	TGAGCACGATCCAAT ACC	۸	۸	۱۰۰	۰/۳٤	۲/۷
CBDP-4	TGAGCACGATCCAAT AAG	۱۰	۹	۹۰	۰/٤٥	٤/۱
CBDP-5	TGAGCACGATCCAAT CTA	۱۲	۱۱	۹۲	۰/۲۹	۳/۲
CBDP-6	TGAGCACGATCCAAT CAG	۱۰	۸	۸۰	۰/٤٤	۳/٥
CBDP-7	TGAGCACGATCCAAT CGA	۸	۷	۸۸	۰/۳٥	۲/٥
CBDP-8	TGAGCACGATCCAAT CGG	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۸	۳/۸
CBDP-9	TGAGCACGATCCAAT GAT	۱۲	۱۱	۹۲	۰/۳۷	٤/۱
CBDP-10	TGAGCACGATCCAAT GTT	۸	۷	۸۸	۰/٤۷	۳/۳
CBDP-11	TGAGCACGATCCAAT TGC	۹	۹	۱۰۰	۰/٤٤	٤
CBDP-12	TGAGCACGATCCAATATA	۷	٥	۷۱	۰/٤۱	۲/۱
CBDP-13	TGAGCACGATCCAATGAG	۹	۸	۸۹	۰/۳۲	۲/٦
CBDP-14	TGAGCACGATCCAATGCG	۸	۸	۱۰۰	۰/۳۸	۳
CBDP-15	TGAGCACGATCCAATTGA	۱۲	۱۲	۱۰۰	۰/۳٥	٤/۲
	میانگین	۹/۸	۸/۷	۰/۳۷	۳/۲	۰/۸۸

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

با توجه به گروه‌بندی اکسشن‌های مورد مطالعه با استفاده از روش تجزیه کلاستر با الگوریتم neighbour-joining (NJ) بر اساس داده‌های CBDP کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در سه گروه اصلی دسته‌بندی شدند که در این دسته‌بندی اکسشن‌های مربوط به هریک از گونه‌های مورد بررسی با یکدیگر در یک گروه جداگانه و بدون هیچ اختلاطی قرار گرفتند (شکل۱). در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های ISSR نیز تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به تفکیک گونه در سه کلاستر مشخص دسته‌بندی شدند (شکل۲). در دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر داده‌های SCoT با استفاده از الگوریتم (NJ)-neighbour joining اکسشن‌های مورد مطالعه در چهار گروه دسته‌بندی شدند (شکل۳). کلاستر اول خود از دو زیرشاخه تشکیل شد که گروه اول شامل تمامی اکسشن‌های گونه *Ae. cylindrica* بود و ۹ اکسشن از گونه *Ae. crassa* گروه دوم این کلاستر را تشکیل دادند. کلاستر دوم متشکل از ۱۱ اکسشن باقیمانده از گونه *Ae. crassa* بود. به عبارت دیگر، اکسشن‌های گونه Ae. crassa در گروه‌های ۲ و ۳ جای گرفتند و بخشی از آنها همراه با اکسشن‌های Ae. cylindrica گروه‌بندی شدند. در کلاستر بعدی نیز تمامی اکسشن‌های گونه *Ae. triuncialis* گروه بعدی را تشکیل دادند. این گروه‌بندی نشان داد که گونه‌های مختلف مورد بررسی از فاصله ژنتیکی قابل توجه برخوردار بوده و آغازگرهای SCoT، CBDP و ISSR بر اساس پلی‌مورفیسم حاصل از تکثیر نواحی ژنومی، نمونه‌ها را بر اساس زمینه ژنتیکی آنها از یکدیگر تفکیک نموده‌اند. با مقایسه دندروگرام‌های حاصل از تجزیه کلاستر بر اساس داده‌های SCoT، ISSR و CBDP مشخص می‌شود که اگرچه بر اساس هر سه دسته از این داده‌ها گونه‌های مورد بررسی به‌خوبی از یکدیگر تفکیک شده‌اند اما مواردی از عدم مطابقت در دسته‌بندی اکسشن‌ها و تخمین فواصل ژنتیکی بین سه آزمایش فوق دیده می‌شود. این عدم تطابق بین دندروگرام‌های حاصل از داده‌های نشانگرهای مختلف را می‌توان به طبیعت متفاوت این سیستم‌های نشانگری در شناسایی چندشکلی در سطح ژنوم و اختلاف آنها در پوشش ژنومی نسبت داد (Souframanien and Gopalakrishna 2004).

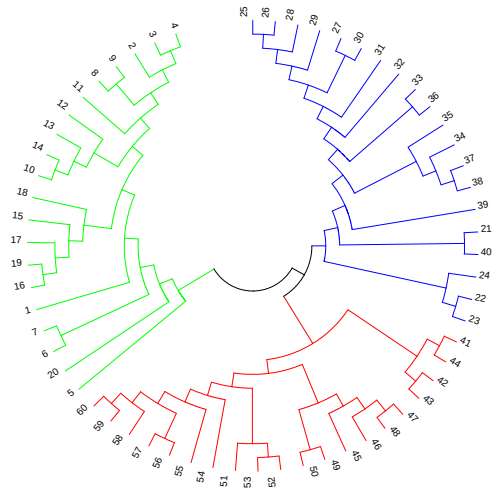
به‌منظور تعیین سهم واریانس های درون گروهی و بین گروهی و تفکیک واریانس مولکولی بین اکسشن‌ها به دو بخش درون و بین جمعیتی تجزیه واریانس مولکولی بر اساس داده‌های SCoT، CBDP و ISSR به‌صورت جداگانه انجام شد. نتایج این تجزیه‌ها نشان داد که بر اساس داده های CBDP ٦٦ درصد از واریانس کل مربوط به جزء بین گروهی و ٣٤ درصد مربوط به جزء درون گروهی می‌باشد. تجزیه واریانس مولکولی داده‌های ISSR نشان داد که ٤٥ درصد از واریانس کل مربوط به جزء بین گروهی بوده و ٥٥ درصد از تنوع کل توسط تنوع درون جمعیت‌ها تبیین می‌شود.

بر اساس داده‌های SCoT نیز سهم واریانس درون گروهی (٥٨ درصد) بیشتر از بین گروهی (٤٢ درصد) بود (جدول ٢ و شکل ٤). یک دلیل احتمالی برای بیشتر بودن سهم درون گروهی واریانس، همپوشانی ژنتیکی در نتیجه جریان ژنی است. در مطالعات قبلی در بررسی جمعیت‌های مختلف از گونه‌های مختلف جنس آژیلوپس با استفاده ازدیگر نشانگرهای هدفمند ژنی نظیر نشانگرهای SCoT سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیتی گزارش شده است (Pour-Aboughadareh et al. 2017; Pour-Aboughadareh et al. 2018b).

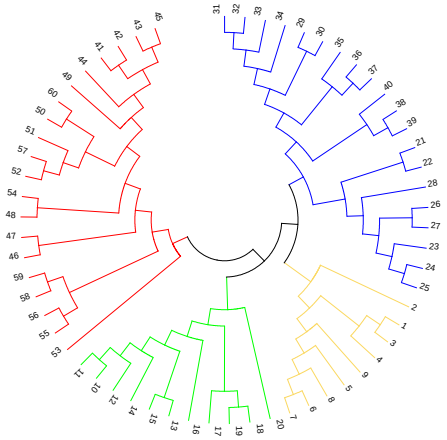


شکل ۱- دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه کلاستر بر اساس روش NJ و ماتریس فاصله جاکارد در ٦٠ اکسشن آژیلوپس مربوط به سه گونه مختلف با استفاده از داده‌های CBDP

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]



شکل ۲- دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه کلاستر بر اساس روش NJ و ماتریس فاصله جاکارد در ٦٠ اکسشن آژیلوپس مربوط به سه گونه مختلف با استفاده از داده‌های ISSR



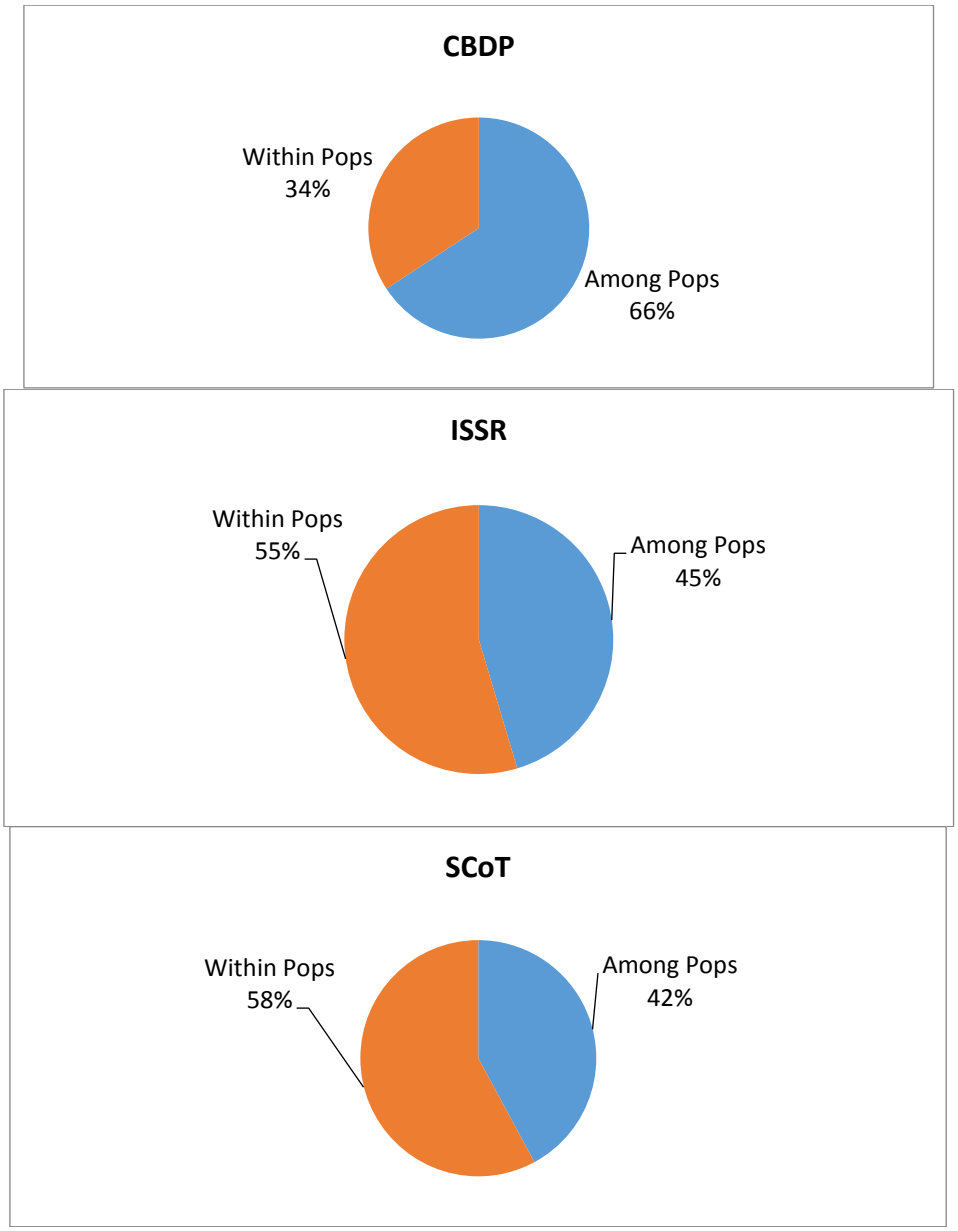
شکل ۳- دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه کلاستر بر اساس روش NJ و ماتریس فاصله جاکارد در ٦٠ اکسشن آژیلوپس مربوط به سه گونه مختلف با استفاده از داده‌های SCoT

همچنین در مطالعه‌ای که به‌منظور تجزیه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) با استفاده از نشانگرهای SilicoDArT تولید شده از DArTseq در سطح کل ژنوم انجام شد بیشتر تغییرات واریانس (٧٦ درصد) میان ژنوتیپ‌ها در درون جمعیت‌ها مشاهده شد، درحالی‌که اختلاف بین جمعیت‌ها نسبتاً کم (٢٤ درصد) بود (Ebrahimi et al. 2021). بیشتر بودن واریانس بین گونه‌ای می‌تواند مؤید این باشد که جمعیت‌های مختلف مورد بررسی دارای بیشترین میزان تفرق از یکدیگر بوده به‌طوری‌که جریان ژنی درون هر یک از آن‌ها در کمترین میزان خود قرار دارد. در مقابل، بالا بودن میزان تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی بیانگر وجود سطح بالایی از تنوع و اختلاف ژنتیکی افراد درون یک جمعیت می‌باشد که به نوبه خود این تنوع می‌تواند در یافتن آلل‌های و یا ژن‌های گوناگون و به‌کارگیری از آن‌ها در تولید لاین‌های جدید مؤثر باشد. به‌منظور بررسی دقیق‌تر میزان تنوع درون جمعیتی و آنالیز تکمیلی خصوصیات ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی، شاخص‌های ژنتیک جمعیت شامل تعداد الل مؤثر، مقدار هتروزیگوسی، شاخص شانون و درصد چند شکلی برای هر جمعیت به تفکیک داده‌های CBDP، ISSR و SCoT محاسبه شد که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۲- نتایج واریانس داده‌های مولکولی (AMOVA) در جمعیت‌های آژیلوپس مورد مطالعه

	Source	df	SS	MS	Est. Var.	%
CBDP	بین گروهی	٢	٢٤/٤	١٢/٢	٠/٥٩	٦٦
	درون گروهی	٥٧	١٧/٦	٠/٣١	٠/٣١	٣٤
	واریانس کل	٥٩	٤٢		٠/٩٠	١٠٠
ISSR	بین گروهی	٢	٦٨٣/٧	٣٤١/٨	١٦/١	٤٥
	درون گروهی	٥٧	١١٠٦	١٩/٤	١٩/٤	٥٥
	واریانس کل	٥٩	١٧٨٩/٧		٣٥/٥	١٠٠
SCoT	بین گروهی	٢	٤٩٣/١	٢٤٦/٥	١١/٥	٤٢
	درون گروهی	٥٧	٩٠٣/٥	١٥/٨	١٥/٨	٥٨
	واریانس کل	٥٩	١٣٩٦/٦		٢٧/٣	١٠٠

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]



شکل ٤- نمایش گرافیکی توزیع درصد واریانس مولکولی در مطالعه تنوع ژنتیکی ٦٠ اکسشن آژیلوپس از سه گونه مختلف بر اساس داده‌های CBDP، ISSR و SCoT

مقایسه شاخص‌های برآورد شده بین سه گونه آژیلوپس بر اساس داده های CBDP نشان داد از نظر شاخص‌های تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، شاخص اطلاعات شانون (I) و تنوع ژنی نی (He) تفاوت محسوسی بین گونه‌های مورد بررسی وجود ندارد. با این حال، گونه *Ae. triuncialis* در مقایسه با دو گونه دیگر دارای مقادیر بیشتری بود. بر اساس داده‌های ISSR با وجود عدم تفاوت محسوسی بین جمعیت‌ها از نظر مقادیر شاخص‌های یاد شده، در همه موارد گونه *Ae. cylindrical* نسبت به گونه‌های دیگر دارای مقادیر بیشتری از شاخص‌های تنوع جمعیت بود. بررسی این شاخص‌ها بر اساس داده‌های SCoT نیز بیانگر عدم وجود اختلاف محسوسی بین میزان تنوع درون جمعیت‌های مورد مطالعه بود. به‌طور کلی نتایج آنالیزهای مختلف تنوع ژنتیکی بالایی را در مجموعه مواد ژنتیکی مورد بررسی مشخص نمود که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی بسیار کاربردی باشد. به‌ویژه که ژنوتیپ‌های اهلی شده در شرایط آب و هوای متنوع و به‌ویژه توده‌های بومی، زمینه ژنتیکی با تنوع آللی غنی دارند و می‌توانند در برنامه‌های مختلف اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند (Talebi et al. 2018; Zhang et al. 2017). بنابراین، اطلاعات در مورد

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

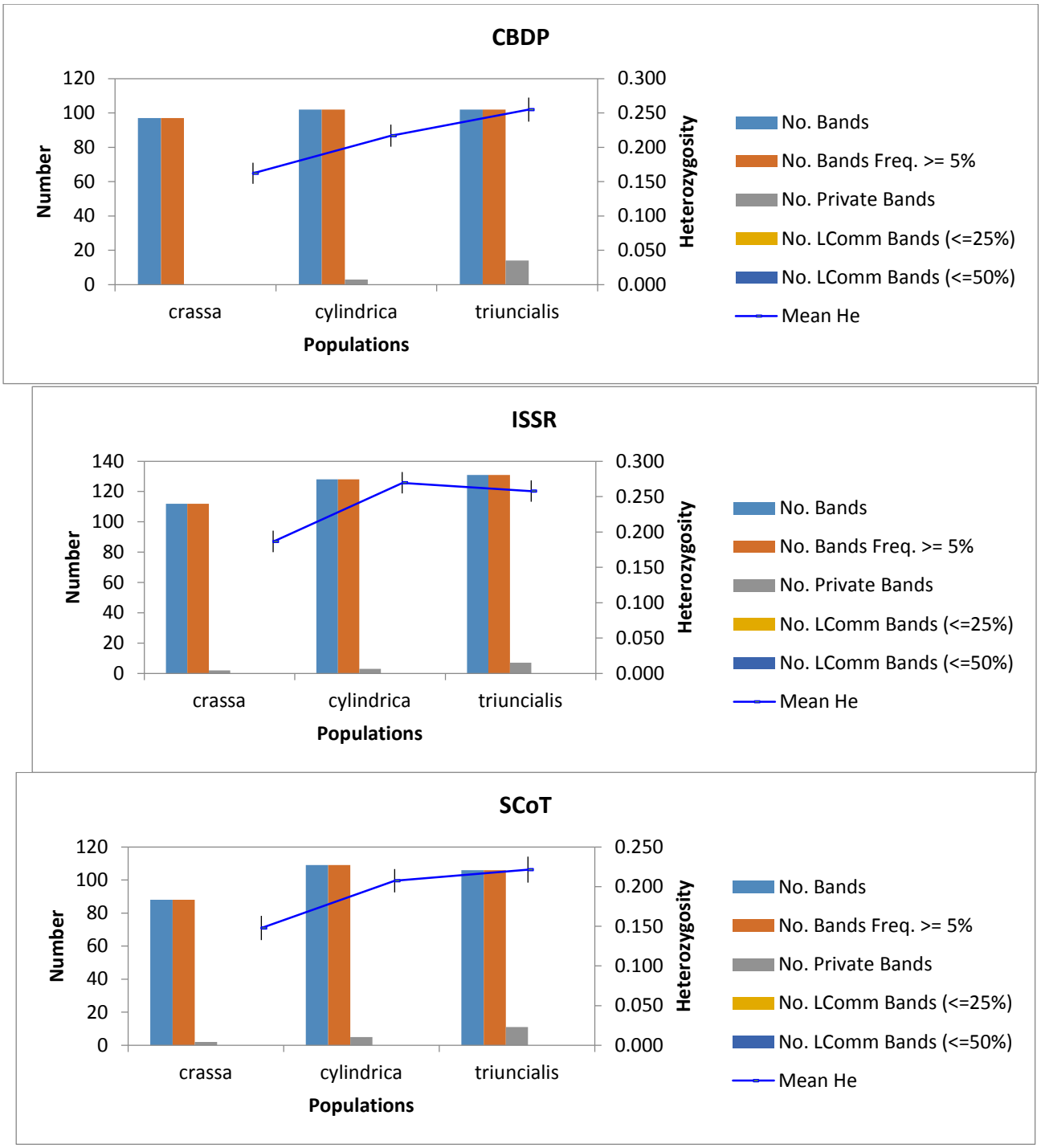
سطح تنوع در منابع ژنتیکی گیاهان زراعی می‌تواند به اصلاح‌گران نبات کمک کند تا ارقام جدیدی با پتانسیل عملکردی بالا و آلل‌های مطلوب تولید نمایند (Govindaraj et al. 2015). اهمیت این موضوع زمانی آشکارتر می‌شود که بدانیم کاهش تنوع ژنتیکی در گندم، مانند بسیاری از محصولات زراعی تحت تأثیر اهلی سازی و همچنین انجام فعالیت‌های اصلاحی پسامندلی قرار گرفته است (Morgante and Salamini 2003; Novoselovic et al. 2016) یکنواختی تنوع ژنتیکی منجر به آسیب‌پذیری ژنتیکی گونه‌های گیاهان در برابر تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی می‌شود (Van de Wouw et al. 2010; Nielsen et al. 2014).

الگوی توزیع باندها در جمعیت‌های مورد مطالعه به تفکیک نشانگرهای CBDP، ISSR و SCoT در شکل ۵ نشان داده شده است. جدول ٤ نیز فراوانی باندهای مختلف را به تفکیک جمعیت‌ها و بر اساس داده‌های نشانگرهای مورد استفاده نشان می‌دهد.

جدول ۳- میانگین و خطای استاندارد شاخص‌های تنوع محاسبه شده در جمعیت‌های مورد مطالعه آژیلوپس به تفکیک داده‌های نشانگرهای مختلف

نشانگر	جمعیت	اندازه جمعیت		شاخص های تنوع			
				Na	Ne	I	He
CBDP	*Ae. crassa*	۲۰	Mean	۱/٤	۱/۲۵	۰/۲٦	۰/۱٦
			SE	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. cylindrica	۲۰	Mean	۱/۵	۱/۳۵	۰/۳۳	۰/۲۲
			SE	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. triuncialis	۲۰	Mean	۱/۵	۱/٤۰	۰/۳۸	۰/۲۵
			SE	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱
ISSR	*Ae. crassa*	۲۰	Mean	۱/٤	۱/۳۰	۰/۲۹	۰/۱۸
			SE	۰/۰۷	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. cylindrica	۲۰	Mean	۱/۷	۱/۵۱	۰/٤۱	۰/۲۷
			SE	۰/۰٦	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. triuncialis	۲۰	Mean	۱/۷	۱/٤۰	۰/۳۹	۰/۲٦
			SE	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
SCoT	*Ae. crassa*	۲۰	Mean	۱/۳	۱/۲۰	۰/۲۳	۰/۱۵
			SE	۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. cylindrica	۲۰	Mean	۱/٦	۱/۳۰	۰/۳۲	۰/۲۱
			SE	۰/۰٦	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
	Ae. triuncialis	۲۰	Mean	۱/۵	۱/۳۱	۰/۳٤	۰/۲۲
			SE	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]



شکل ۵ – الگوی توزیع باندها در جمعیت‌های مورد بررسی در مطالعه تنوع ژنتیکی ٦٠ اکسشن آژیلوپس از سه گونه مختلف بر اساس داده‌های CBDP، ISSR و SCoT

همان‌طور که از اطلاعات مندرج در جدول ٤ و همچنین شکل ٥ مشخص می‌شود بر اساس هر سه سری داده‌های CBDP، ISSR و SCoT جمعیت مربوط به گونه *Ae. triuncialis* با اختلاف قابل توجهی واجد آل‌های اختصاصی بیشتری در مقایسه با جمعیت‌های دو گونه دیگر می‌باشد. با توجه به این‌که در بررسی سطح تنوع درون جمعیتی با استفاده از شاخص‌های تعداد آل‌های مؤثر (Ne)، شاخص اطلاعات شانون (I) و تنوع ژنی نی (He) تفاوت محسوسی بین گونه‌های مورد بررسی ملاحظه نشد، تعداد آل‌های اختصاصی بیشتر در این جمعیت می‌تواند یکی از دلایل توجیه کننده تنوع درون جمعیتی بیشتر در این جمعیت باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

جدول ٤- فراوانی انواع باندهای تکثیر شده در جمعیت‌های مورد بررسی در مطالعه تنوع ژنتیکی ٦٠ اکسشن آژیلوپس از سه گونه مختلف بر اساس داده‌های CBDP، ISSR و SCoT

	CBDP			ISSR			SCoT		
	Ae. crassa	*Ae. cylindrica*	*Ae. triuncialis*	*Ae. crassa*	*Ae. cylindrica*	*Ae. triuncialis*	*Ae. crassa*	*Ae. cylindrica*	*Ae. triuncialis*
تعداد باند	۹۷	۱۰۲	۱۰۲	۱۱۲	۱۲۸	۱۳۱	۸۸	۱۰۹	۱۰٦
تعداد باند با فراوانی بیشتر از ۵ درصد	۹۷	۱۰۲	۱۰۲	۱۱۲	۱۲۸	۱۳۱	۸۸	۱۰۹	۱۰٦
تعداد باندهای اختصاصی	۰	۳	۱٤	۲	۳	۷	۲	۵	۱۱
تعداد باند با فراوانی کمتر از از ۲۵ درصد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
تعداد باند با فراوانی کمتر از ۵۰ درصد	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

ضمن اینکه فراوانی باندهای اختصاصی در یک جمعیت نشان دهنده زمینه ژنتیکی خاص و منحصربه‌فرد آن جمعیت تلقی می‌شود. کارایی نشانگرهای هدفمند ژنی SCoT و CBDP در تحقیقات دیگری نیز مورد اشاره قرار گرفته است. به‌عنوان مثال Pour-Aboughadareh et al. (2019) تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های مختلف آژیلوپس ایران را با استفاده از دو سیستم نشانگری SCoT و CBDP مطالعه نمودند و سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را درون گونه‌های مختلف گزارش کردند.

نتایج این بررسی نشان داد که نشانگرهای CBDP به‌خوبی قادر به گروه‌بندی گونه‌های مختلف و نشان دادن رابطه فیلوژیکی بین گونه‌ها می‌باشند.

Heydari et al. (2017) نیز در بررسی کارایی سه نشانگرISSR، SCoT و CBDP در آنالیز تنوع در ژرم پلاسم گندم دوروم گزارش نمودند که هر سه سیستم نشانگری مورد استفاده به‌طور مناسبی از طریق دسته‌بندی با هر دو روش تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی، ژنوتیپ‌های گندم دوروم را از همدیگر تمیز دادند. گروه‌بندی متمایز و فواصل قابل توجه ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلف، بیانگر تنوع مولکولی قابل توجه در ژنوتیپ‌های گندم دوروم مورد بررسی بود. همچنین کاربرد موفقیت‌آمیز نشانگرهای CBDP در ارزیابی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم گندم دوروم (Etminan et al. 2018) و خویشاوندان وحشی گندم (Etminan et al. 2019) گزارش شده است. کارایی خوب نشانگرهای SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های زیر مجموعه دیگر خویشاوند وحشی گندم یعنی جنس تریتیکوم نیز گزارش شده است (Gholamian et al. 2019).

نتیجه‌گیری کلی

پایه ژنتیکی ضعیف هنوز هم مهم‌ترین نگرانی به‌نژادگران در مواجه با این یکنواختی ژنتیکی و کاهش آسیب‌پذیری ژنتیکی با معرفی ژنوتیپ‌های متنوع از ژرم پلاسم‌های ملی و بین‌المللی به مواد اصلاحی می‌باشد (Novoselovic et al. 2016). از این رو غربال و شناسایی مواد ژنتیکی حائز تنوع می‌تواند نقش به‌سزایی در موفقیت برنامه‌های به‌نژادی داشته باشد و این نکته اهمیت انجام مطالعات تنوع ژنتیکی را روشن‌تر می‌سازد.

به‌عنوان یک نتیجه کلی در مقایسه سه سیستم نشانگری ISSR، SCoT و CBDP، از آنجا که با توجه به جدیدتر بودن سیستم نشانگرهای SCoT و به‌خصوصCBDP در مقایسه با ISSR و سایر نشانگرهای مرسوم مبتنی بر PCR، مطالعات صورت گرفته در ارتباط با ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم‌های گیاهی و ازجمله گونه‌های زراعی و وحشی گندم توسط نشانگر CBDP کمتر از سایر انواع سیستم‌های نشانگری می‌باشد، لیکن با توجه به ماهیت نشانگر CBDP به‌عنوان یک نشانگر هدفمند ژنی، استفاده

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

از این نشانگر در مقایسه با سایر نشانگرهای تصادفی مانند ISSR ترجیح داده می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که بر اساس شاخص‌های برآورد شده برای مقایسه بین این سه سیستم نشانگری، نشانگر CBDP ضمن کارآمدی در گروه‌بندی افراد طبق ساختار ژنومی آن‌ها و ویژگی‌های تاکسونومیک نشانگر مطمئن‌تری برای مطالعات نقشه‌یابی و انتخاب به کمک نشانگر است. مزیت نسبی دیگر نشانگر CBDP آشکار کردن تنوع در نواحی فعال و عملکردی ژنوم است که می‌توان از این برتری در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر و نقشه‌یابی بهره گرفت.

منابع

Collard BCY, Mackill DJ (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.

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

Ebrahimi P, Karami E, Etminan A, Talebi R, Mohammadi R (2021) Genetic diversity and population structure analysis of Durum wheat (*Triticum turgidum* L.) genotypes using whole genome DArTseq-generated SilicoDArT markers, Agricultural Biotechnology Journal 13:43-68. (In Farsi).

Etminan A, Mehrabi AA, Shooshtari L, Moradkhani H (2018) Applicability of CBDP markers to study of genetic diversity among some of the cultivated wheat accessions and their ancestral species. Modern Genetics Journal 13:79-89. (In Farsi).

Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mehrabi AA, Shooshtari L, Ahmadi-Rad A, Moradkhani H (2019) Molecular characterization of the wild relatives of wheat using CAAT-box derived polymorphism. Plant Biosystems 153:398-405.

Gholamian F, Etminan A, Changizi M, Khaghani S, Gomarian M (2019) Assessment of genetic diversity in Triticum urartu Thumanjan ex Gandilyan accessions using start codon targeted polymorphism (SCoT) and CAATbox derived polymorphism (CBDP) markers. Biotechnology and Biotechnological Equipment 33:1653-1662.

Govindaraj M, Vetriventhan M, Srinivasan M (2015) Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. Genetics Research International 2015, 431487-431487.

Hamidi H, Talebi R, Keshavarzi F (2014) Comparative efficiency of functional gene-based markers, Start Codon Targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research Communications 42:558-567.

Heidari P, Etminan A, Azizinezhad R, Khosroshahli M (2017) Genomic variation studies in durum wheat (Triticum turgidum ssp. durum) using CBDP, SCoT and ISSR markers. Indian Journal of Genetics and Plant breeding 77:379-386.

Khodaee L, Azizinezhad R, Etminan A, Khosroshahi M (2021) Assessment of genetic diversity among Iranian Aegilops triuncialis accessions using ISSR, SCoT, and CBDP markers. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 19:5.

Kilian B, Mammen K, Millet E, Sharma R, Graner A, Salamini F, Hammer K, Ozkan H (2011) Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Cereals, springer, Chapter 1.

Lalhruaitluanga H, Prasad MNV (2009) Comparative results of RAPD and ISSR markers for genetic diversity assessment in Melocanna baccifera Roxb. growing in Mizoram State of India. African Journal of Biotechnology 8:6053-6062.

Morgante M, Salamini F (2003) From plant genomics to breeding practice. Current Opinion in Biotechnology14:214-219.

Novoselovic D, Bentley AR, Šimek R, Dvojković K, Sorrells ME, Gosman N, Horsnell R, Drezner G, Šatović Z (2016) Characterizing Croatian wheat germplasm diversity and structure in a European context by DArT markers. Frontiers in Plant Science 7:184.

Nielsen NH, Backes G, Stougaard J, Andersen SU, Jahoor A (2014) Genetic diversity and population structure analysis of European hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. PLOS ONE 9: e94000.

Nouri A, Etminan A, Golabadi M, Mehrabi AA, Rezaee A (2021) Molecular variation and genetic relationships among Aegilops tauschii accessions based on CAAT-box derived polymorphism. Agricultural Biotechnology Journal 13:57-74. (In Farsi).

Paliwal R, Singh R, Singh AK, Kumar S, Kumar A, Singh-Majumdar R (2013) Molecular characterization of Giloe (*Tinospora cordifolia* Willd. Miersex) accessions using Start Codon Targeted (ScoT) markers. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants 3:413-422.

Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6:288-295.

Perrier X, Jacquemoud-Collet J (2006) DARwin software at available at: http://darwin.cirad.fr/

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]

Pour-Aboughadareh A, Omidi M, Etminan A, Mehrabi AA (2018a) The importance of wild wheat germplasm in breeding for resistance to abiotic stresses. Modern Genetics Journal 12:489-504 (In Farsi).

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, Mohmoudi M, Ahmadi J, Moghaddam M, Mehrabi AA, Alavikia SS (2017) Agro-morphological and molecular variability in *Triticum boeoticum* accessions from Zagros Mountains,Iran. Genetic Resources and Crop Evolution 64:545-556.

Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shooshtari L, Maleki Tabrizi N (2019) Comparative Assessment of SCoT and CBDP Markers for Investigation of Genetic Diversity Existing in Different Aegilops Species. Agricultural Biotechnology 11:153-174. (In Farsi).

Reddy MP, Sarla N, Siddiq EA (2002) Inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9-12.

Shaygan N, Etminan A, Majidi Hervan I, Azizinezhad R, Mohammadi R (2021) Evaluation of molecular diversity in breeding lines of durum wheat using SCoT markers. Modern Genetics Journal 16:151-160. (In Farsi).

Singh AK, Rana MK, Singh S, Kumar S, Kumar R, Singh R (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 23:175-183.

Sorkheh K, Amirbakhtiar N, Ercli S (2016) Potential Start Codon Targeted (SCoT) and interretrotransposon amplified polymorphism (IRAP) markers for evaluation of genetic diversity and conservation of wild pistacia species population. Biochemical Genetics 54:368-387.

Souframanien J, Gopalakrishna T (2004) A comparative analysis of genetic diversity in black gram genotypes using RAPD and ISSR markers. Theoretical and Applied Genetics 109:1687-1693.

Talebi R, Nosrati, S Etminan A, Naji AM (2018) Genetic diversity and population structure analysis of landrace and improved safflower (*Cartamus tinctorious* L.) germplasm using arbitrary functional gene-based molecular markers. Biotechnology and Biotechnological equipment 32:1183-1194.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, 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.

Van de Wouw M, van Hintum T, Kik C, van Treuren R, Visser B (2010) Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta-analysis. Theoretical and Applied Genetics 120:1241-1252.

Zhang H, Mittal N, Leamy LJ, Barazani O, Song BH (2017) Back into the wild—apply untapped genetic diversity of wild relatives for crop improvement. Evolutionary Applications 10:5-24.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-07-18]