

## **Molecular variation and genetic relationships among *Aegilops tauschii* accessions based on CAAT-box derived polymorphism**

### **Atefeh Nouri**

Department of Agronomy and plant breeding, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. Email: atefeh.nouri630@gmail.com

### **Alireza Etminan**

\*Corresponding author. Associate Professor, Department of plant breeding and Biotechnology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. Email: alietminan55@yahoo.com

### **Maryam Golabadi**

Associate Professor, Department of Agronomy and plant breeding, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. Email: golabadim@gmail.com

### **Ali –ashraf Mehrabi**

Research Associate, Department of Biotechnology, Research Institute of Forest and rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. Email: alia.mehrabi@yahoo.com

### **Abdolmajid Rezaee**

Professor, Department of Agronomy and plant breeding, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran Email: am.rezai@iut.ac.ir

---

## ***Abstract***

### **Objective**

The importance of wild relatives in wheat breeding has caused a lot of investigations to study the genetic diversity and population structures in different species of wild wheat, using various molecular markers. The purpose of this study was to investigate the molecular diversity of 90 different accessions of *Aegilops tauschii* and analyzing the genetic structure for clustering the populations using CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers.

### **Materials and methods**

In the present study, the genetic diversity and population structure of 90 different accessions of *Ae. tauschii* collected from different geographical areas of Iran, was evaluated using 12 CBDP primers.

## Results

Based on the results, the 12 primers amplified 141 bands in which 91 were polymorphic with an average of 7.58 bands per primer. The polymorphism information content (PIC) and marker index (MI) for the CDBP primers ranged from 0.40 to 0.49 and 1.49 to 4.99, respectively. Primers CB9, CB12 and CB1 showed a high efficiency in genetic discrimination of evaluated accessions. Population structure analysis classified evaluated accessions into three main groups with 10, 18 and 30 accessions respectively and other accessions recognized as a mixture accessions. In this study, subpopulation NO.1 had the highest values of genetic diversity indices such as number of effective alleles ( $N_e$ ), Shannon index ( $I$ ) and heterozygosity ( $H_e$ ). Among *Ae. tauschii* populations a very low genetic differentiation ( $G_{st}$ : 0.03) and high gene flow ( $N_m$ : 18.58) were observed. The dendrogram resulted from cluster analysis categorized the assessed accessions into three clusters which accordance with genetic structural analysis results.

## Conclusions

Overall, the results of different parameters showed that the CDBP, is an appropriate marker system for assessing the genetic diversity of *Aegilops tauschii* accessions. Regarding to the results of genetic structural analysis and diversity parameters, a conservation program is recommended for management of *Aegilops* germplasm as a valuable genetic resource in the wheat breeding programs.

**Keywords:** Diversity, wild wheat, population structure, germplasm management

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** 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 (1), 57-74.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 13 (1), 57-74.

DOI: 10.22103/jab.2021.16650.1267

Received: December 20, 2020.

Accepted: January 16, 2021.



Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

تنوع ملکولی و روابط ژنتیکی بین توده‌های *Aegilops tauschii* بر اساس چندشکلی حاصل از ناحیه

### CAAT-box پروموتور ژن‌ها

عاطفه نوری

دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران. ایمیل:  
atefeh.nouri630@gmail.com

علیرضا اطمینان 

\*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران. ایمیل:  
alietminan55@yahoo.com

مریم گل‌آبادی

دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران. ایمیل:  
golabadim@gmail.com

علی اشرف مهربانی

دانشیار پژوهش، بخش زیست فناوری، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ایمیل:  
alia.mehrabi@yahoo.com

عبدالمجید رضایی

استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران. ایمیل:  
am.rezai@iut.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۰/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۳۰

### چکیده

**هدف:** اهمیت خویشاوندان وحشی در به‌نژادی گندم سبب شده است تا مطالعات فراوانی در رابطه با بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی گونه‌های مختلف گندم وحشی با استفاده از سیستم‌های نشانگری گوناگون انجام شود. هدف این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی ۹۰ توده مختلف *Ae. tauschii* به منظور تعیین میزان تنوع ژنتیکی، و همچنین آنالیز ساختار ژنتیکی آن‌ها برای گروه‌بندی توده‌ها با استفاده از چندشکلی حاصل از نواحی CAAT-box بود.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ۹۰ توده *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران با استفاده از ۱۲ آغازگر CBDP مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** با توجه به نتایج به دست آمده در مجموع، تعداد ۱۴۱ باند توسط ۱۲ آغازگر مورد استفاده تولید شد که ۹۱ مورد از این باندها چندشکل بودند و متوسط تعداد باند چند شکل تولید شده به ازای هر آغازگر برابر با ۷/۵۸ بدست آمد. مقدار شاخص محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) و شاخص نشانگر (MI) برای آغازگرهای CDBP مورد استفاده بترتیب بین ۰/۴ تا ۰/۴۹ و ۱/۴۹ تا ۴/۹۹ متغیر بود. با توجه به شاخص‌های محاسبه شده آغازگرهای CB9، CB12 و CB1 بیشترین کارایی را در تفکیک ژنتیکی توده‌ها نشان دادند. تجزیه ساختار ژنتیکی، توده‌های مورد بررسی را در سه گروه اصلی با تعداد ۱۰، ۱۸ و ۳۰ توده دسته‌بندی نمود و بقیه توده‌ها به عنوان توده‌های مخلوط شناسایی شدند. در این مطالعه بالاترین مقادیر شاخص‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد آلل‌های مؤثر، شاخص شانون و میزان هتروزیگوسیتی مربوط به زیر جمعیت ۱ بود. علاوه بر این، میزان تمایز ژنی (Gst) و جریان ژنی (Nm) بین زیر جمعیت‌ها به ترتیب برابر با ۰/۰۳ و ۱۸/۵۸ بود. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، توده‌های مورد بررسی را به سه گروه تقسیم بندی نمود که مطابق با گروه‌بندی حاصل از تجزیه ساختار ژنتیکی بود.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از پارامترهای مختلف نشان داد که نشانگر CDBP یک نشانگر مناسب در بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های *Aegilops tauschii* می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج ساختار ژنتیکی جمعیت و پارامترهای تنوع ژنتیکی بین زیر جمعیتی به نظر می‌رسد لازم است اقداماتی جهت حفاظت از این منبع ژنتیکی ارزشمند که توان بالقوه بسیار بالایی در بهنزادی گندم زراعی دارد، صورت گیرد.

**کلمات کلیدی:** تنوع، ساختار جمعیت، گندم وحشی، مدیریت ژرم پلاسما

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** نوری عاطفه، اطمینان علیرضا، گل آبادی مریم، مهرابی علی اشرف، رضایی عبدالمجید (۱۴۰۰) تنوع ملکولی و روابط ژنتیکی بین توده‌های *Aegilops tauschii* بر اساس چندشکلی حاصل از ناحیه CAAT-box پرموتر ژن ها. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۳(۱)، ۵۷-۷۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

## مقدمه

در حال حاضر گندم با اختصاص بیش از ۲۱۸ میلیون هکتار زمین زیر کشت، دارای بالاترین سطح زیر کشت و تولید محصول در مقایسه با دیگر گیاهان زراعی در جهان می‌باشد (Giraldo et al. 2019). با این حال به نظر می‌رسد تغییرات گسترده اقلیمی

موجب کاهش شدید تولید این گیاه زراعی در آینده نه چندان دور شود (Liu et al. 2018). وارپته‌های یکنواخت اصلاح شده کنونی، فاقد انعطاف کافی برای مقابله با این شرایط ناپایدار اقلیمی می‌باشند (Kahiluoto et al. 2019). بنابراین به‌نژادگران گندم با چالش افزایش بازده ژنتیکی عملکرد، متناسب با تقاضای رو به رشد این محصول، در ترکیب با بهره‌گیری از روش‌های زراعی مناسب برای به حداقل رساندن شکاف عملکرد و تضمین پایداری محیطی روبرو می‌باشند (Lopes et al. 2015).

گونه‌های *Aegilops* که از خویشاوندان وحشی گندم می‌باشند به بیماری (Bansal et al. 2017; Olivera et al. 2018) و تنش‌های محیطی (Dulai et al. 2014; Colmer et al. 2006) مقاومت نشان داده‌اند. در حال حاضر، برخی از آل‌های مربوط به این صفات مهم به روش‌های مختلف از این گونه‌ها به گندم منتقل شده‌اند (Liu et al. 2011; Olson et al. 2013). محققان بر این باورند که حدود ۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ سال پیش از تلاقی بین دو گونه *Triticum turgidum* و *Aegilops tauschii* یک گونه هگزاپلوئید *T. aestivum* ایجاد شده که پس از اهلی شدن و کشت و کار و گزینش، گندم نان امروزی را پدید آورده است (Kihara 1944; McFadden and Sears, 1946; Petersen et al. 2006; Dubcovsky and Dvorak, 2017; Pont and Salse, 2017; Mayer et al. 2014; Salse et al. 2007). اطلاع کامل از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی برای مدیریت ژرم‌پلاسم، تشخیص ژن‌هایی که درون یک گونه از لحاظ ژنتیکی منحصر بفرد می‌باشند و در نهایت تعیین جمعیت‌هایی که نیاز به حفاظت دارند امری ضروری به نظر می‌رسد (Zhuravlev et al., 2010). اهمیت اطلاع از تنوع ژنتیکی در حیوانات اهلی، از قبیل گاو (Ebrahimi et al. 2015)، گوسفند (Vajed et al. 2015; Khodabakhshzadeh et al. 2016; Ebrahimi et al. 2016)، بز (Baghizadeh et al. 2009; Moghadaszadeh et al. 2015) و زنبور عسل (Bahador et al. 2016) و طیور (Moazeni et al. 2016) نیز گزارش شده است که نشان از اهمیت ویژه مدیریت و حفاظت از ژرم‌پلاسم در همه گونه‌های زیستی دارد. همچنین شناخت ساختار ژنتیکی جمعیت، مدیریت مؤثر منابع ژنتیکی را از طریق تعیین حجم نمونه‌های ذخایر توارثی برای نگهداری در بانک ژن یا بذر و شناسایی هم‌نامی و ترادف‌ها امکان‌پذیر می‌سازد (Falahati et al. 2006).

با توجه به وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون منابع ژرم‌پلاسمی خویشاوندان وحشی گندم در ایران، به نظر می‌رسد ارزیابی و توجه به این منابع ارزشمند طبیعی، مسیر تازه‌ای در بهره‌مندی از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی گندم ایجاد نماید. در سال‌های اخیر، سیستم‌های نشانگری متعددی در بررسی تنوع ژنتیکی، تجزیه ساختار ژنتیکی و تجزیه فیلوژنتیکی توسعه یافته و مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Etminan et al. 2018a). یکی از نشانگرهای مولکولی نوظهور و کارآمد در تجزیه‌های ژنتیکی و بررسی تنوع گونه‌های گیاهی مختلف<sup>۱</sup> CDBP می‌باشد. طراحی آغازگر در این نشانگر بر اساس جعبه CAAT با توالی توافقی GGCCAATCT که ناحیه پیش برنده ژن‌ها است، می‌باشد (Singh et al. 2014). این ناحیه تقریباً در فاصله ۸۰ جفت بازی

<sup>۱</sup> CAAT box- derived polymorphism; CDBP

بالا دست کدون آغاز در ژن‌های یوکاریوتی واقع شده است و نقش مهمی در فرآیند رونویسی ایفا می‌کند (Benoist et al. 1980). از نشانگرهای CBDP بطور موفقیت آمیزی در بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار جمعیت در انواع ژرم پلاسما زراعی و وحشی گندم استفاده شده است (Etminan et al. 2018b; Etminan et al. 2019; Pour-Aboughadareh et al. 2019). مطالعات متعددی درباره بررسی تنوع ژنتیکی بعضی از گونه‌های *Aegilops* صورت گرفته است. در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰۳ توده مختلف *Aegilops* با استفاده از دو نشانگر CBDP و SCoT توسط Pour-Aboughadareh et al. (2019) تنوع ژنتیکی بالایی بین توده‌ها مشاهده شد و بیشترین سهم واریانس ژنتیکی در توده‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی مربوط به درون گونه‌ها بود. در مطالعه‌ای دیگر با بررسی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های مختلف *Ae. tauschii* بیشترین میزان تنوع در توده‌های مربوط به نواحی شمال ایران گزارش شده است (Naghavi et al. 2010). در بررسی انجام شده توسط Moradkhani et al. (2012)، با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ از ۵ گونه گندم زراعی و وحشی *Ae. tauschii*، *Ae. cylindrica*، *Ae. speltoides*، *crassa* و *T. aestivum* با ۱۰ آغازگر ISSR سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در درون گونه‌ها گزارش شده است. در پژوهش دیگری دو جمعیت گندم دوروم شامل ۲۱ ژنوتیپ محلی گندم دوروم از مناطق مختلف ایران و ۲۹ ژنوتیپ پیشرفته گندم دوروم از ایکاردا با استفاده از نشانگر CBDP، توسط Etminan et al. (2018a) مورد بررسی قرار گرفت که در این مطالعه ضمن مشاهده تنوع ژنتیکی بالا در بین این ژنوتیپ‌ها، نشانگر CBDP به عنوان یک نشانگر کارآمد در بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی گونه‌های مختلف گندم وحشی بر اساس ساختار ژنومی آن‌ها معرفی شد.

ایران یکی از مناطق مهم از نظر پراکنش گندم‌های وحشی در جهان محسوب می‌گردد و این موضوع سبب شده تا گونه‌های ژرم‌پلاسمی همواره یکی از مهمترین منابع مورد بررسی ساختار جمعیت در ایران و دیگر نقاط جهان باشند. تا کنون اطلاعات فراوانی در رابطه با میزان تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی گندم با استفاده از انواعی از نشانگرهای مورفو-فیزیولوژیکی (Pour-Moghaddam et al. 2000; Cheniany) (Aboughadareh et al. 2017b; Ahmadi et al. 2018a,b,c) و همچنین نشانگرهای DNA (Mousavifard et al. 2015; Etminana et al. 2019; Zamaniarfard et al. 2007) توسط محققان مختلف گزارش شده است. زیستگاه‌های گندم‌های وحشی در غرب ایران نواحی مناسبی برای استخراج ژرم پلاسما حاوی ژن‌های مفید می‌باشند. بنابراین، هدف این تحقیق بررسی میزان تنوع ژنتیکی موجود در برخی از توده‌های *Ae. tauschii* ایران و همچنین بررسی قابلیت این سیستم نشانگری در تفکیک و گروه‌بندی توده‌های مورد بررسی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ۹۰ توده وحشی *Aegilops tauschii* جمع‌آوری شده از زیستگاه‌های طبیعی واقع در دامنه‌های کوه‌های مرکزی البرز از شمال، شمال غربی تا شمال شرقی کشور مورد ارزیابی قرار گرفت. بذور کلیه توده‌های مورد بررسی در بانک ژن

غلات واقع در دانشگاه ایلام نگهداری شده‌اند. به منظور استخراج DNA ژنومی، ابتدا بذرها را درون گلدان‌های پلاستیکی کشت و در شرایط بهینه گلخانه قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها برگ‌های جوان هر گیاهچه برداشت و DNA آن با استفاده از دستورالعمل CTAB<sup>۲</sup> و بر اساس روش Doyle and Doyle (1987) استخراج شد. کیفیت DNA استخراجی توده‌های مورد بررسی توسط الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی، ۱۲ آغازگر CDBP بر اساس توالی‌های توافقی ارائه شده توسط Singh et al. (2014) طراحی و استفاده شد که تمامی آن‌ها قادر به تولید باندهای قابل امتیازدهی و چندشکل بودند. دمای اتصال بهینه آغازگرها جهت تکثیر مناسب قطعات، با استفاده از PCR گردیانت تعیین شد. حجم نهایی واکنش PCR، ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم بر میکرولیتر)، ۶ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر آغازگرهای مورد بررسی (۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر) و ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس (2X) بود. تکثیر قطعات با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biorad (مدل T-100) انجام شد.

برنامه دمایی هر واکنش شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار دقیقه و ۳ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت یک دقیقه در دمای اختصاصی هر آغازگر و توسعه آغازگر به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک مرحله تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت هفت دقیقه بود. برای محصولات حاصل از واکنش PCR از روش ژل الکتروفورز آگارز ۱/۵ درصد و جهت رنگ‌آمیزی ژل‌ها از Safeview استفاده شد و پس از عکسبرداری از آن‌ها الگوهای باندی وجود باند (عدد یک) و عدم وجود باند (عدد صفر) امتیازدهی شدند. شاخص‌هایی از قبیل تعداد کل باندهای مشاهده شده با استفاده از تعداد کل باندهای قابل امتیازدهی برای هر آغازگر (NTB<sup>۳</sup>) و تعداد باندهای چندشکل (NPB<sup>۴</sup>) برای هر پرایمر به دست آمد. محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)<sup>۵</sup> برای هر نشانگر که تفاوت‌های موجود در تعداد و فراوانی توزیع آلل‌های هر توده را نشان می‌دهد با توجه به غالب بودن نشانگر مورد استفاده از فرمول  $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$  محاسبه گردید. در این فرمول p برابر با فراوانی آلل iام در هر جایگاه برای کلیه توده‌های مورد مطالعه است (Anderson et al. 1993). کارایی نشانگر مورد بررسی همچنین از رابطه  $MI = PIC \times NPB$  به دست آمد (Varshney et al. 2007). قدرت تفکیک هر آغازگر با استفاده از فرمول  $RP = \sum IB$  محاسبه شد که در آن  $IB = [2 * 0.5 - P_i]$  و Pi نسبت افرادی است که دارای آلل مشاهده شده می‌باشند (Prevost and Wilkinson 1999). کلیه پارامترهای ژنتیکی جمعیت شامل شاخص‌های درون جمعیتی مانند تعداد آلل مشاهده شده (Na) و تعداد آلل مؤثر (Ne)، شاخص شانون (I) و شاخص میزان هتروزیگوسیتی (He) و همچنین پارامترهای ژنتیکی بین جمعیتی مانند تنوع ژنتیکی کل جمعیتها (Ht)،

<sup>۲</sup> Cethyl Trimenthyl Ammonium Bromide

<sup>۳</sup> Number of total band

<sup>۴</sup> Number of polymorphic band

<sup>۵</sup> Polymorphism information content

تنوع ژنتیکی درون جمعیتی (Hs)، ضریب تنوع ژنتیکی (Gst) بین جمعیت‌ها (تمایز ژنتیکی) و جریان ژنی (Nm) با استفاده از نرم افزار Popgene v 1.32 محاسبه گردید.

تجزیه واریانس مولکولی برای تفکیک تنوع ژنتیکی کل به تنوع درون و بین توده‌ها با استفاده از نرم افزار GenAIEx انجام شد. ماتریس فاصله ژنتیکی توده‌ها بر اساس ضریب دایس محاسبه و دندروگرام با استفاده از الگوریتم Neighbor joining (NJ) تهیه شد. دسته‌بندی دقیق توده‌ها به زیر جمعیت‌های مناسب و تشخیص توده‌های مختلط با استفاده از نرم افزار Structure v3.2.4 انجام گرفت (Pritchard et al. 2000). در این تجزیه، تعداد ۱۰ تکرار مستقل برای هر یک از زیر جمعیت‌های احتمالی در نظر گرفته شد. تعداد K نیز بین ۱ و ۱۰ متغیر بود. مقادیر شاخص‌های Burn-in و MCMC نیز به ترتیب ۵۰۰۰۰ و ۵۰۰۰۰۰ در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

### تعداد باندهای مشاهده شده، تعداد باندهای چند شکل و درصد و پارامترهای چند شکلی: نتایج به دست

آمده برای آغازگرهای استفاده شده در جدول ۱ ارائه شده است. دوازده آغازگر CDBP مورد استفاده الگوی‌های نواری مناسب و قابل امتیازدهی تولید کردند. تعداد کل باندهای تولید شده ۱۴۱ عدد بود که ۹۱ عدد از این باندها چندشکل بودند. بیشترین درصد چند شکلی در آغازگر CB5 با ۸۳/۳۳ درصد و کمترین درصد چند شکلی در آغازگر CB7 با مقدار ۵۰ درصد مشاهده گردید. متوسط تعداد باند چند شکل تولید شده به ازای هر آغازگر ۷/۵۸ و به ازای هر توده ۱/۰۱ بود. محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) در نشانگرهای غالب از صفر تا نیم متغیر است و هرچه این عدد بزرگتر باشد نشان دهنده قدرت تفکیک بالاتر آغازگر مورد استفاده می‌باشد (Anderson et al. 1993). میانگین محتوای اطلاعات چند شکل در آغازگرهای مورد بررسی برابر ۰/۴۴۶ بود. بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی مربوط به آغازگر CB1 و کمترین این پارامتر مربوط به آغازگرهای CB7 و CB3 بود. بالاترین مقدار شاخص‌های قدرت تمایز (Rp) مربوط به CB1 و بیشترین میزان شاخص نشانگر (MI) نیز مربوط به CB1 و CB9 بود. در این میان CB7 کمترین میزان از دو شاخص مذکور را نشان داد. میانگین محتوای اطلاعات چند شکل در مطالعه Tahernezhad et al. (2010) در ۲۸ توده *Ae. tauschii* که به وسیله ۱۹ آغازگر SSR بررسی شدند ۰/۲۶۷ به دست آمد. در مجموع، با توجه به این نتایج کلیه آغازگرهای مورد استفاده از کارایی قابل قبولی برخوردار بودند. آغازگرهایی که مقادیر PIC آن‌ها بین ۰/۲۵ تا ۰/۵ باشد سودمند هستند و آن‌هایی که کمتر از ۰/۲۵ هستند حاوی اطلاعات سودمند اندکی می‌باشند (Ditta et al. 2018). از طرفی، شاخص قدرت تفکیک (Rp) پارامتر بسیار مفیدی برای گزینش آغازگر مناسب می‌باشد. بر این اساس و بر اساس مکمل بودن نتایج این پارامترها می‌توان گفت آغازگرهای CB1، CB9 و CB12 به عنوان آغازگرهای مناسب در بررسی تنوع *Ae. tauschii* و دیگر گونه‌های نزدیک به گندم معرفی می‌گردد.



## جدول ۱. مشخصات آغاز همراه پارامترهای چندشکلی

Table 1. Characteristics of evaluated primers along with polymorphism parameters

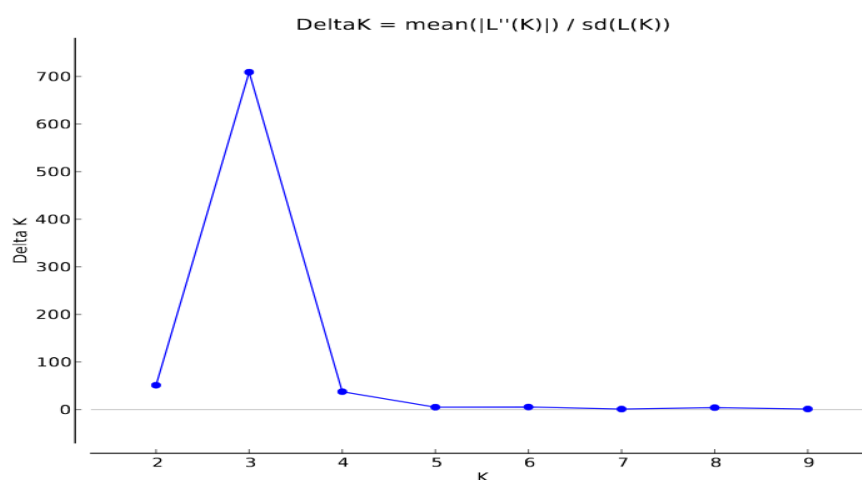
کد آغازگر Primer code	توالی آغازگرها Primer sequence	NTB	NPB	P%	PIC	MI	RP
CB1	TGAGCACGATCCAATAGC	13	10	76.92	0.49	4.99	9.70
CB2	TGAGCACGATCCAATAAT	9	7	77.77	0.46	3.47	6.40
CB3	TGAGCACGATCCAATACC	15	8	53.33	0.41	3.92	6.93
CB4	TGAGCACGATCCAATAAG	16	9	56.25	0.44	4.44	8.02
CB5	TGAGCACGATCCAATCTA	6	5	83.33	0.43	1.94	3.33
CB7	TGAGCACGATCCAATCGA	6	3	50.00	0.40	1.49	2.78
CB9	TGAGCACGATCCAATGAT	13	10	76.92	0.43	4.99	9.58
CB10	TGAGCACGATCCAATGTT	12	7	58.33	0.43	3.46	6.28
CB12	TGAGCACGATCCAATATA	14	10	71.42	0.47	4.96	9.20
CB13	TGAGCACGATCCAATGAG	10	6	60.00	0.43	2.99	5.73
CB14	TGAGCACGATCCAATGCG	14	8	57.14	0.44	3.99	7.95
CB15	TGAGCACGATCCAATTGA	13	8	61.53	0.45	3.49	7.89
میانگین Mean		141	91	65.24	0.446	3.67	6.98

NTB، NPB، P%، PIC، MI و Rp به ترتیب بیانگر تعداد کل قطعات تکثیری، تعداد قطعات تکثیری چندشکل، درصد چند شکلی هر پرایمر، محتوای اطلاعات چندشکل، شاخص نشانگر و قدرت تفکیک می‌باشند.

### ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها: با توجه به تغییرات مقدار $\Delta k$ به ازای تعداد مختلف گروه‌ها K (شکل ۱) و حداکثر بودن

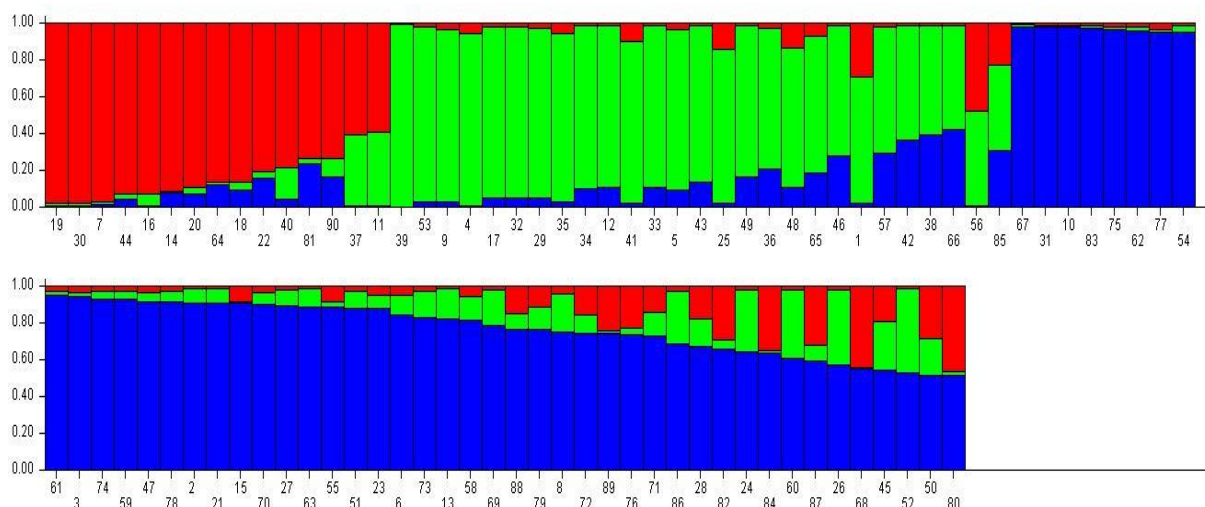
منحنی در  $K=3$ ، توده‌های مورد مطالعه در سه گروه قرار گرفتند. تجزیه ساختار جمعیت به زیرجمعیت‌ها شناسایی توده‌های اختلاط یافته را امکان‌پذیر می‌سازد. همانطور که در نمودار ستونی به دست آمده نشان داده شده (شکل ۲) توده‌های مورد مطالعه بر اساس حد آستانه ۰/۷۵ به سه زیر جمعیت تقسیم شده اند. ۳۵/۵ درصد (۳۲ توده) از توده‌های مورد بررسی دارای نسبت احتمال کمتر از حد آستانه بودند و لذا به عنوان توده‌های مختلط شناخته شدند و ۶۴/۵ درصد از توده‌ها دارای مقادیر بالای ۰/۷۵ بودند و بنابراین به یک زیر جمعیت خاص تعلق گرفتند. در این بررسی هر یک از زیر ساختارهای ۱، ۲، ۳ و به ترتیب دارای ۱۰، ۱۸ و ۳۰ توده بودند. یکی از دلایل ایجاد توده‌هایی که به عنوان مختلط شناخته می‌شوند؛ ایجاد پدیده شار ژنی بین توده‌های مناطق مختلف است. برخی مطالعات تمایز غیر مشخص و وجود توده‌های مختلط *Aegilops strangulata* را در اثر دورگ‌گیری که بین دو زیر جمعیت اتفاق افتاده است گزارش نموده‌اند (Saeidi et al. 2006). با توجه به مکان جمع‌آوری توده‌های مورد بررسی در این بررسی که شامل نوار دریای خزر نیز بوده است عواملی نظیر انتقال بذر توسط باد و همچنین فعالیت‌های انسانی می‌تواند دلیل ایجاد توده‌های ناهمگن

در این جمعیت‌ها باشد. در مطالعه Sohail et al. (2012) بر روی ۸۱ ژنوتیپ *Ae. tauschii* جمع آوری شده از مناطق جغرافیایی مختلف به وسیله نشانگرهای DArT، دامنه وسیعی از شباهت ژنتیکی (از ۰/۶۱ تا ۰/۹۹) مشاهده شد.



شکل ۱. نمودار دو طرفه برای تعیین تعداد بهینه K

Figure 1. Bilateral chart to determine the optimal number of K



شکل ۲. ساختار جمعیت به دست آمده از نرم افزار STRUCTURE

Figure 2. Inferred population structure out of STRUCTURE software

پارامترهای تنوع ژنتیکی درون زیر جمعیت و بین زیر جمعیت‌ها: برای بررسی تنوع ژنتیکی موجود در درون زیر جمعیت‌های حاصل از تجزیه ساختار ژنتیکی، پارامترهای تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل مؤثر، شاخص شانون و هتروزیگوسیتی و همچنین میزان چند شکلی در هر زیر جمعیت محاسبه گردید که مقادیر حاصل در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین میزان تعداد آلل‌های مشاهده شده (۱/۵۷) و درصد چند شکلی (۰/۶۰) مربوط به زیر جمعیت ۲ و بالاترین مقادیر پارامترهای دیگر تنوع ژنتیکی

شامل تعداد آل‌های مؤثر، شاخص شانون و میزان هتروزیزگوسیتی به ترتیب با مقادیر ۱/۲۸، ۰/۲۷ و ۰/۱۸ متعلق به زیر جمعیت ۱ بود. در مطالعه‌ای بر روی ۴۰ ژنوتیپ مختلف *Aegilops tauschii* و *Triticum* به وسیله نشانگرهای SSR و ISSR تعداد آل‌های مؤثر برابر با ۱/۰۵ در *Triticum* و ۱/۶۰ در *Aegilops tauschii* گزارش گردید (Moradkhani et al., 2015). این نتایج نشان می‌دهد که گونه‌های *Aegilops* از پتانسیل بسیار زیادی برخوردارند که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گندم قابل استفاده باشد و از سوی دیگر، سیستم نشانگری CBDP قادر است این تنوع را نشان دهد.

میانگین پارامترهای تنوع ژنتیکی بین زیر جمعیت‌ها در تمام مکان‌های ژنی محاسبه و در جدول ۳ آورده شده است. میانگین تنوع ژنتیکی کل (Ht) برای مکان‌های ژنی مشاهده شده با استفاده از آغازگرهای مورد بررسی ۰/۱۸۰۳ برآورد گردید و میزان تنوع ژنتیکی درون زیر جمعیت‌ها (Hs) ۰/۱۷۴۴ به دست آمد. همچنین ضریب تمایز ژنی و میزان جریان ژنی در این نشانگر به ترتیب برابر با ۰/۰۳۶۰ و ۱۸/۵۸ بود. تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها که به وسیله پارامتر Gst محاسبه می‌گردد ممکن است به علت اختلاف در صفات ژنتیکی و یا بر اثر تغییر شرایط محیطی و انتخاب طبیعی ایجاد شده باشد. فرآیندهای تصادفی مانند مهاجرت و جهش نیز می‌تواند از عوامل تأثیرگذار بر تمایز ژنتیکی بین زیر جمعیت‌ها باشد (Putman and Carbone 2014). این مقدار بر اساس تقسیم بندی Nei (1978) عبارتست از: تمایز ژنی کم ( $Gst < 0.05$ )، تمایز ژنی متوسط ( $0.05 < Gst < 0.15$ ) و تمایز ژنی بالا ( $Gst > 0.15$ ). بر اساس این مقادیر تمایز ژنتیکی پایینی بین زیر جمعیت‌های مورد بررسی وجود دارد.

همچنین اگر Nm بالاتر از یک باشد؛ جریان ژنی مهمترین عامل ایجاد تمایز ژنتیکی و هرگاه Nm کمتر از یک باشد رانش ژنی عامل اصلی ایجاد تمایز ژنتیکی تلقی می‌شود (Yan et al. 2019). بنابراین عامل ایجاد تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها و همچنین تنوع ژنتیکی بالا در زیر جمعیت‌های گونه مورد بررسی در این مطالعه را می‌توان مربوط به عامل جریان ژنی ایجاد شده دانست. احتمالاً دلیل بالا بودن جریان ژنی را می‌توان عواملی چون دورگ‌گیری بین زیر جمعیت‌های مناطق مختلف و انتقال فیزیکی بذور و یا دانه‌های گرده نسبت داد. در واقع این افزایش جریان ژنی ممکن است از هر دو طریق بذر و دانه گرده در جمعیت‌های پراکنده منجر به تمایز ژنتیکی متفاوت در جمعیت‌های *Aegilops* در ایران شده باشد. این نتایج با یافته‌های Mahjoob et al. (2012) که تنوع ژنتیکی بالا بین زیر جمعیت‌های گندم گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. یکی از شاخص‌های مناسب جهت ارزیابی میزان تمایز بین جمعیت‌ها سطح جریان ژنی بین آن‌هاست (Wang et al. 2013). در مطالعه‌ای که توسط Saeidi et al. (2006) بر روی ۵۷ نمونه *Ae. tauschii* ایران با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره انجام شد، علت عدم تفکیک دقیق نمونه‌ها بر اساس منشأ جغرافیایی جریان ژنی بین زیرگونه‌های مورد مطالعه بیان شد. یکی از مزایای تنوع ژنتیکی بالای درون زیر جمعیت‌ها می‌تواند افزایش امکان ایجاد انتخاب برای صفات مناسب به عنوان والدین اصلاحی در برنامه‌های به‌نژادی گندم باشد. Eltahir et al. (2018) با مطالعه ۲۳۰ نسل در حال تفرق گندم با استفاده از نشانگر SNP میزان جریان ژنی را در بین زیر جمعیت‌های مورد مطالعه ۶۲/۵ گزارش نمودند و دلیل آن را انتخاب والدین دور از هم عنوان کردند. در مطالعه دیگری با بررسی تنوع ژنتیکی ۷۰ توده مختلف از

انواع گونه‌های گندم با استفاده از ۱۵ آغازگر SCoT میزان جریان ژنی بالاتر از یک برآورد شد ( Pour-Aboughadareh et al. 2017a).

جدول ۲. پارامترهای تنوع ژنتیکی برآورد شده درون زیرجمعیت‌های *Aegilops tauschii* با استفاده از نشانگر CBDP

Table 2. Estimated genetic variation parameters within subpopulations of *Ae. tauschii* using CBPD markers

زیر جمعیت (تعداد)	تعداد آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌های مؤثر	شاخص شانون	هتروزیگوسیتی	درصد چند شکلی
Population(N)	Na	Ne	I	He	PPB %
Pop1 (15)	1.52±0.06	1.28±0.03	0.27±0.02	0.18±0.01	57.78%
Pop2 (27)	1.57±0.05	1.27±0.03	0.26±0.02	0.17±0.01	60.00%
Pop3(48)	1.53±0.05	1.26±0.03	0.25±0.02	0.16±0.01	56.67%

جدول ۳. شاخص‌های تنوع ژنتیکی برآورد شده در زیرجمعیت‌های *Ae. tauschii* با استفاده از نشانگرهای CBDP

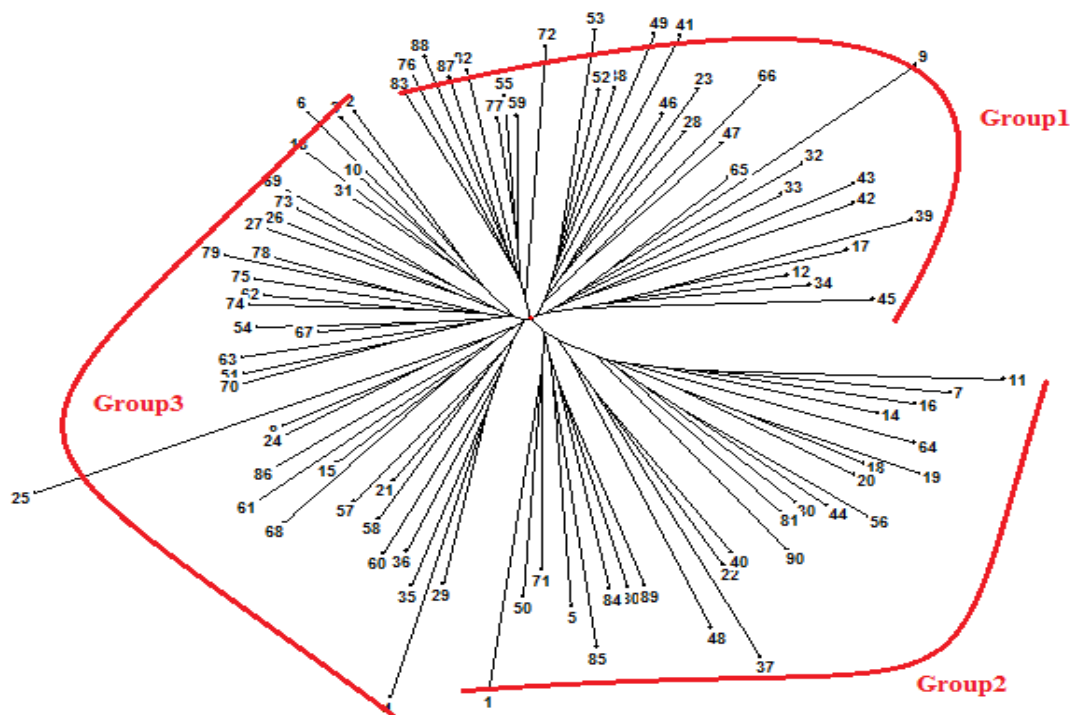
Table 3. Estimated genetic diversity parameters in subpopulations of *Ae. tauschii* using CBPD markers

شاخص‌ها Parameters	میانگین ± انحراف معیار Means ± standard deviation
(Ht) تنوع ژنتیکی کل	0.1803±0.0319
(Hs) تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها	0.1744±0.303
(Gst) ضریب تمایز ژنی	0.0326
(Nm) جریان ژنی	18.58

نتایج تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی: تجزیه خوشه‌ای براساس باندهای حاصل از ۱۲ آغازگر CBDP

با کاربرد ضریب فاصله دایس و الگوریتم Neighbor Joining انجام شد که نتایج آن در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس تجزیه خوشه‌ای، توده‌های مورد بررسی در سه گروه جای گرفتند که گروه یک شامل ۳۰ توده، گروه دو شامل ۲۵ توده و گروه سه شامل ۳۵ توده بودند.

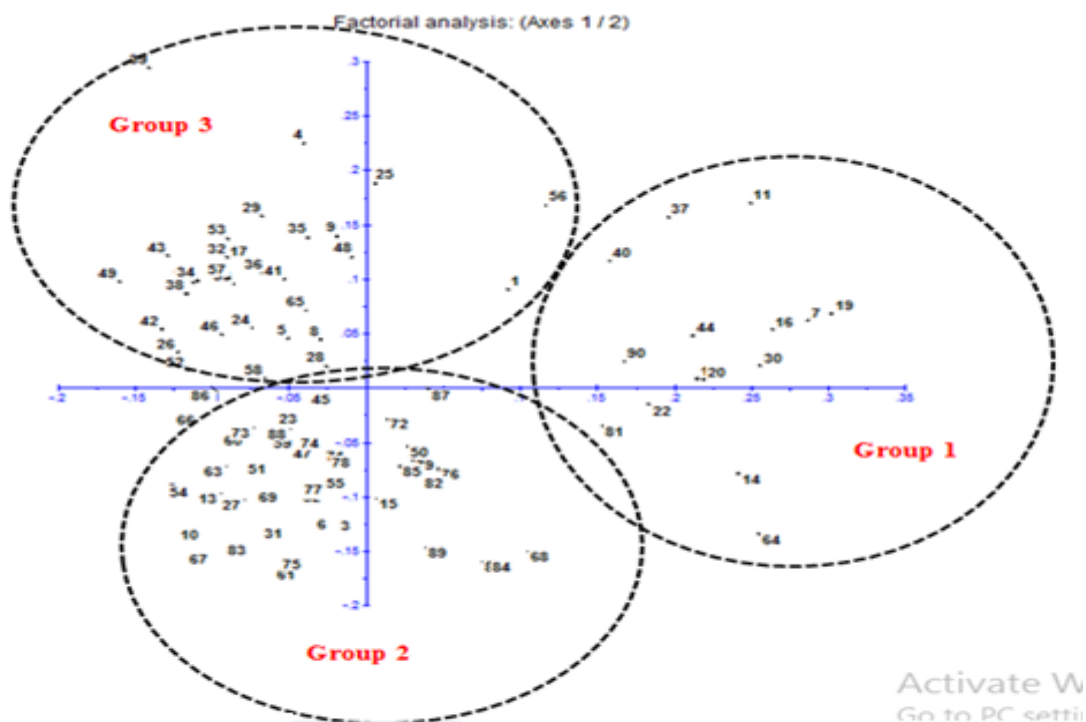
تجزیه به مختصات اصلی نیز به عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای انجام گرفت، این تجزیه نیز بر اساس داده‌های نشانگر CBDP دسته‌بندی توده‌های مورد بررسی را در سه گروه تأیید نمود و با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابق بود. گروه‌های حاصل در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. Hamidi et al. (2014) تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ گندم را با استفاده از نشانگرهای ISSR، SCoT و CDDP بررسی نمودند که در آن مطالعه پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های هر نشانگر بر اساس تجزیه خوشه‌ای نشان شد و برای نشانگرهای ISSR چهار گروه و نشانگرهای SCoT و CDDP سه گروه تشخیص داده شد.



شکل ۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای CBDP برای ۹۰ توده *Ae. tauschii* ارزیابی شده

**Figure 3. Dendrogram rendered using cluster analysis based on CBDP markers for the 90 investigated *Ae. tauschii* accessions**

**تجزیه واریانس مولکولی:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی توده‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای CBDP در جدول ۴ ارائه شده است. همانگونه که در این جدول ملاحظه می‌شود سهم بخش‌های درون جمعیتی و بین جمعیتی از واریانس کل بترتیب ۹۶ و ۴ درصد بود. وجود تنوع ژنتیکی بالا در درون زیر جمعیت‌ها نشان دهنده وجود اختلاف ژنتیکی زیاد افراد درون جمعیت از لحاظ مکان‌های ژنی تکثیر یافته است و این گویای ناهمگنی درون زیر جمعیت می‌باشد. به طور کلی ناهمگنی زیاد در درون جمعیت می‌تواند دلایل زیادی از جمله ماهیت پلی پلوئیدی، اختلاط فیزیکی بذور، دگرگشتی، تلاقی‌های مختلف بین ارقام و غیره داشته باشد (Dumolin-Lapegue et al. 1997).



شکل ۴. بای پلات حاصل از تجزیه مختصات اصلی برای ۹۰ توده *Ae. tauschii* بر اساس آغازگرهای

CBDP

Figure 4. Biplot derived from the PCoA for 90 *Ae. tauschii* accessions based on CBDP markers

**نتیجه گیری:** بررسی پارامترهای تنوع ژنتیکی در ۹۰ توده *Ae. tauschii* جمع آوری شده از مناطق مختلف به وسیله آغازگرهای CBDP نشان داد که این نشانگر بخوبی قادر به شناسایی چند شکلی و تنوع ژنتیکی موجود در توده های ارزیابی شده می باشد. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش توده های مورد بررسی در سه گروه دسته بندی شدند که از طرفی می تواند برای انتخاب والدین در برنامه های اصلاحی جهت تنظیم تلاقی های دور در نظر گرفته شود و از طرف دیگر جهت مدیریت منابع ژرم پلاسما در بانک ژن برای جلوگیری از نگهداری زمینه ژنتیکی یکسان مفید واقع شود. علاوه بر این، بالابودن شاخص های ژنتیکی و همچنین میزان بالای جریان ژنی بین زیر جمعیت ها می تواند بازگو کننده وجود تنوع آلی بالا در هر زیر جمعیت باشد. از این رو، حفاظت و استفاده بالقوه از این منبع ژرم پلاسمی در اصلاح گندم قابل توصیه می باشد.

جدول ۴. آنالیز واریانس مولکولی ۹۰ توده *Ae. tauschii* بر اساس نشانگرهای CBDPTable 4. The molecular analysis of variance of 90 *Ae. tauschii* accessions based on CBDP markers

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	درصد	آماره F	مقدار احتمال
Source of variation	Degree of freedom	Mean square	Estimate variance	Percent	(Phi)	Sig
بین جمعیت‌ها (توده‌ها)	2	27.74	0.55	4%	0.041	0.001
Between population						
درون جمعیت‌ها	87	12.85	12.85	96%		
Within population						
کل	89		13.41	100%		
Total						

## منابع

بهادر یاسر؛ محمدآبادی محمدرضا؛ خضری امین؛ اسدی مهدیه؛ مدحتی لیلا (۱۳۹۵) مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل استان کرمان با استفاده از نشانگرهای ISSR. پژوهش‌های تولیدات دامی ۱۱۳(۱)، ۱۹۲-۱۸۶.

پورابوقداره علیرضا؛ اطمینان علیرضا؛ شوشتری لیا؛ ملکی تبریزی ندا (۱۳۹۸) ارزیابی مقایسه‌ای نشانگرهای CBDP و SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های مختلف *Aegilops*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱ (۴)، ۱۷۴-۱۵۳.

واجدابراهیمی محمدتقی؛ محمدآبادی محمدرضا؛ اسماعیلی زاده علی (۱۳۹۴) بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۷ (۴)، ۱۴۳-۱۵۸.

## Reference

- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Fabriki-Ourang S et al. (2018a) Screening wild progenitors of wheat for salinity stress at early stages of plant growth: insight into potential sources of variability for salinity adaptation in wheat. *Crop Pasture Sci* 69, 649–58.
- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Fabriki-Ourang S, Mehrabi A-A, Siddique KHM (2018b) Screening wheat germplasm for seedling root architectural traits under contrasting water regimes: potential sources of variability for drought adaptation. *Arch Agron Soil Sci* 64, 1351–1365.
- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Ourang SF, Mehrabi AA, Siddique KHM (2018c) Wild relatives of wheat: *Aegilops-Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. *Acta Physiol Plant* 40, 90.

- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, et al. (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36, 181–186
- Baghizadeh A, Bahaaddini M, Mohamadabadi MR, Askari N (2009) Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. *Am-Eurasian J Agric Environment Sci* 6, 454-459.
- Bahador Y, Mohammadabadi MR, Khezri A, Asadi M, Medhati L (2016) Study of Genetic Diversity in Honey Bee Populations in Kerman Province using ISSR Markers. *Res Anim Prod* 7 (13), 186-192 (In Persian).
- Bansal M, Kaur S, Dhaliwal HS, Bains NS, Bariana H S, Chhuneja P, et al (2017) Mapping of *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust and stripe rust resistance loci in wheat. *Plant Pathol* 66, 38–44.
- Benoist C, O'hare K, Breathnach R, Chambon P (1980) The ovalbumin gene-sequence of putative control regions. *Nucleic Acid Res* 8, 127–142.
- Cheniany M, Ebrahimzadeh H, Salimi A, Niknam V (2007) Isozyme variation in some populations of wild diploid wheats in Iran. *Biochem Syst Ecol* 35, 363–371.
- Colmer TD, Flowers TJ, Munns R (2006) Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *J Exp Bot* 57, 1059–1078.
- Ditta A, Zhou Z, Cai X et al (2018) Assessment of genetic diversity, population structure, and evolutionary relationship of uncharacterized genes in a novel germplasm collection of diploid and allotetraploid *Gossypium* accessions using EST and mgenomic SSR markers. *Int J of Mol Sci* 19, 2401.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19, 11-15.
- Dubcovsky J, Dvorak J (2007) Genome plasticity a key factor in the success of polyploid wheat under domestication. *Science* 316, 1862–6.
- Dulai S, Molnár I, Szopkó D et al. (2014) Wheat- *Aegilops biuncialis* amphiploids have efficient photosynthesis and biomass production during osmotic stress. *J Plant Physiol* 171, 509–517.
- Dumolin-Lapegue S, Demesure B, Fineschi S, Le Corre V, Petit RJ (1997) Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent. *Genetics* 146, 1475–1487.
- Ebrahimi Z, Mohammadabadi MR, Esmailzadeh A, Khezri A (2015) Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle *J Livest Sci Technol* 3 (1), 41-49.



- Eltaher S, Sallam A, Belamkar V, Emara HA, Nower AA, Salem KFM (2018) Genetic Diversity and Population Structure of F3:6 Nebraska Winter Wheat Genotypes Using Genotyping-By-Sequencing. *Front Genet* 9, 76.
- 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 Biosyst* 153, 398-405.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R et al. (2018a) Applicability of CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers for analysis of genetic diversity in durum wheat. *Cereal Res Commun* 46, 1–9.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Noori A et al. (2018b) Genetic relationships and diversity among wild *Salvia* accessions revealed by ISSR and SCoT markers. *Biotechnol & Biotechnol Equi* 32, 610–617.
- Falahati-Anbaran M, Habashi AA, Esfahany M, Mohammadi SA & Ghareyazie B (2006) Study of genetic diversity and relationships of diploid and tetraploid annual medics using Microsatellite markers. *Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources* 10(3), 349-358 (In Persian).
- Giraldo OP (2019) *Political ecology and agriculture*. 1st Edition, Springer, Cham.
- 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 Res Commun* 42, 558-567.
- Kahiluoto H, Kaseva J, Balek J, et al. (2019) Decline in climate resilience of European wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116, 123–128.
- Khodabakhshzadeh R, Mohammadabadi MR, Moradi H et al. (2015) Identify of G→A point mutation at positions 477 and 721 in exon 2 of GDF9 gene in Kermani sheep. *Modern Genet J* 10, 261-268 (In Persian)
- Kihara H (1944) Discovery of the DD-analyser, one of the ancestors of vulgare wheat. *Biol Agric Hortic* 19:889–90.
- Liu B, Martre P, Ewert F, et al. (2018) Global wheat production with 1.5 and 2.0 °C above pre-industrial warming. *Global Change Biol* 25, 1428–1444.
- Liu W, Rouse M, Friebe B, et al. (2011) Discovery and molecular mapping of a new gene conferring resistance to stem rust, Sr53, derived from *Aegilops geniculata* and characterization of spontaneous translocation stocks with reduced alien chromatin. *Chromosome Res* 19, 669–682.

- Lopes M, El-Basyoni I, Baenziger P, Singh S, Royo C, Ozbek K, Aktas H, Ozer E, Ozdemir F, Manickavelu A, Ban T, Vikram P (2015) Exploiting genetic diversity from landraces in wheat breeding for adaptation to climate change. *J. Exp. Bot* 66, 3477-3486.
- Mahjoob BH, Najafi-Zarini and Hashemi SHR (2014) Assessment of genetic relationships among 36 Brassica genotypes using ISSR molecular markers. *J Crop Breed* 6, 96-106.
- Mayer KFX, Rogers J, Dole el J, et al (2014) A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science*, 345.
- McFadden ES, Sears ER (1946) The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. *J Hered* 37, 107-116.
- Moazeni SM, Mohammadabadi MR, Sadeghi M et al. (2016) Association of the melanocortin-3(MC3R) receptor gene with growth and reproductive traits in Mazandaran indigenous chicken. *J. Livest. Sci. Technol* 4, 51-56.
- Moghadaszadeh M, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh Koshkoieh A (2015) Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. *Genet the 3rd Millennium* 13, 4062-4067.
- Moghaddam M, Ehdaie B, Waines G. 2000. Genetic diversity of wild diploid wheat *Triticum urartu* Tum. ex. Gandil. revealed by isozyme markers. *Genet Res Crop Evol* 47, 323-334.
- Moradkhani H, Mehrabi A, Etminan A, Pour-Aboughadareh A (2015) Molecular diversity and phylogeny of *Triticum-Aegilops* species possessing D genome revealed by SSR and ISSR markers. *Plant Breed Seed Sci* 81, 71-95.
- Moradkhani H, Pour-Aboughadareh AR, Mehrabi AA, Etminan A (2012) Evaluation of genetic relationships of *Triticum-Aegilops* species possessing D genome in different ploidy levels using microsatellites. *Int J Agri Crop Sci* 23, 1746-1751.
- Mousavifard SS, Saeidi H, Rahiminejad MR, Shamsadini M (2015) Molecular analysis of diversity of diploid *Triticum* species in Iran using ISSR markers. *Genet Resour Crop Evol* 62, 387-394.
- Naghavi M, Maleki M, Tabatabaei S (2009) Efficiency of floristic and molecular markers to determine diversity in Iranian populations of *T. boeoticum*. *World Acad Sci Eng Technol* 3, 42-44.
- Naghavi MR, Hajikaram M, Taleei AR, Jafar Aghaee M (2010) Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of *Aegilops tauschii* Coss. in Northern Iran. *Genet Res Crop Evol* 57, 423-430.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89, 583-590.

- Olivera PD, Rouse MN, Jin Y (2018) Identification of new sources of resistance to wheat stem rust in *Aegilops* spp. in the tertiary gene pool of wheat. *Front Plant Sci* 9, 1719–1726.
- Olson EL, Rouse MN, Pumphrey MO, et al. (2013) Introgression of stem rust resistance genes *SrTA10187* and *SrTA10171* from *Aegilops tauschii* to wheat. *Theor Appl Genet* 126, 2477–2484.
- 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*). *Mol Phylogenet Evol* 39, 70.
- Pont C, Salse J (2017) Wheat paleohistory created asymmetrical genomic evolution. *Curr Opin Plant Biol* 36, 29–37.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, et al. (2017a) Assessment of genetic diversity among Iranian *Triticum* germplasm using agro-morphological traits and start codon targeted (SCoT) markers. *Cereal Res Commun* 45, 574–586.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Moghaddam M, Etminan A (2017b) Evaluation of agro-morphological diversity in wild relatives of wheat collected in Iran. *J Agr Sci Tech* 19, 943–956.
- 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. *Agric Biotechnol J* 11 (4), 153-174. (In Persian)
- Pour-Aboughadareh A, Mohmoudi M, Ahmadi J, Moghaddam M, Mehrabi AA, Alavikia SS. 2017c. Agro-morphological and molecular variability in *Triticum boeoticum* accessions from Zagros Mountains, Iran. *Genet Res Crop Evol* 64, 545–556.
- Prevost A, Wilkinson MJ (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet* 98, 107–112.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multi locus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Putman AI, Carbone I (2014) Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecol Evol* 4, 4399–4428.
- Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Heslop-Harrison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. in Iran measured using microsatellites. *Genet Resour Crop Evol* 53, 1477–1484.
- Salse J, Chagué V, Bolot S, et al. (2008) New insights into the origin of the B genome of hexaploid wheat: evolutionary relationships at the SPA genomic region with the S genome of the diploid relative *Aegilops speltoides*. *BMC Genomics* 9, 555.

- Singh AK, Rana MK, Singh S, et al. (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 23,175–183.
- Sohail Q, Shehzad T, Kilian A, et al. (2012) Development of diversity array technology (DART) markers for assessment of population structure and diversity in *Aegilops tauschii*. *Breed Sci* 62, 38–45.
- 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. *Mol Bio Rep* 37, 3413–3420.
- Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. *Agric Biotechnol J* 7(4), 143-158 (In Persian).
- Varshney RK, Chabane K, Hendre PS, et al. (2007) Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Sci* 173, 638–649.
- Wang IJ (2013) Examining the full effects of landscape hetero-geneity on spatial genetic variation: a multiple matrix regression approach for quantifying geographic and ecological isolation. *Evol* 16, 175–182.
- Yan W, Li J, Zheng D, Friedman C, Wang H, et al. (2019) Analysis of genetic population structure and diversity in *Mallotus oblongifolius* using ISSR and SRAP markers. *PeerJ* 7, e7173.
- Zamanianfard Z, Etminan A, Mohammadi R, Shooshtari L (2015) Evaluation of Molecular Diversity of durum wheat genotypes using ISSR markers, *Biol Forum* 7(1), 214-218.
- Zhuravlev YN, Reunova GD, Kats IL, Muzarok TI, Bondar AA (2010) Genetic variability and population structure of endangered *Panax ginseng* in the Russian Primorye. *China*