

تجزیه و تحلیل تنوع و روابط ژنتیکی در ژنوتیپ‌های مختلف دو گونه

SSR *Triticum aestivum* و *Aegilops tauschii* با استفاده از نشانگرهایAnalysis of genetic Diversity and relationships among different genotypes of *Triticum aestivum* and *Aegilops tauschii* using SSR markersزهره خدادادی^۱، منصور امید^{۲*}، علیرضا اطمینان^۳، آسا ابراهیمی^۴

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی،

تهران، ایران

۲- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

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

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

Khodadadi Z¹, Omid M^{*2}, Etminan A³, Ebrahimi A⁴

1- PhD Student, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Professors, College of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources University of Tehran, Karaj, Iran

3- Associate Professor, Department of Genetics and 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: ۹۹/۰۴/۰۹ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

جنس‌های تریتیکوم و آژیلوپس به واسطه پتانسیل اصلاحی خود هم‌چون تحمل به انواع تنش‌های غیر زنده و زنده به‌عنوان اصلی‌ترین خزانه ژنی گندم در نظر گرفته شده‌اند. هدف اصلی این پژوهش ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ۹۵ توده بومی و وحشی متعلق به دو گونه *T. aestivum* و *Ae. tauschii* با استفاده از نشانگرهای ریزوماهواره (SSR) بود. تعداد ۲۵ آغازگر SSR استفاده شده در این ارزیابی در مجموع ۴۸ قطعه چندشکل تکثیر نمودند. متوسط تعداد آلل‌های شناسایی شده، شاخص محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، تنوع ژنی (H)، شاخص نشانگر (MI) و قدرت تفکیک (Rp) به ترتیب برابر با ۱/۹۶، ۰/۳۲، ۰/۴۱، ۰/۸۰ و ۱/۲۷ بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد بیشترین سهم تنوع ژنتیکی مربوط به تنوع درون گونه‌ای (۸۶ درصد) بود. بر اساس پارامترهای ژنتیکی مشخص شد که گونه *Ae. tauschii* نسبت به *T. aestivum* 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، به‌طوری‌که برخی از توده‌های مربوط به هر گونه در زیر گروه یکسانی قرار گرفتند. نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نشان داد دو مؤلفه نخست ۵۰/۳۸ درصد تغییرات مولکولی را توجیه نمودند و بای پلات ترسیم شده بر اساس دو مؤلفه نخست منطبق با الگوی گروه‌بندی مشاهده شده توسط تجزیه خوشه‌ای بود. تجزیه ساختار جمعیت نیز جمعیت‌های ارزیابی شده را در چهار زیر جمعیت واقعی تفکیک نمود و متوسط شاخص F_{ST} در آن‌ها ۰/۵۰ برآورد شد. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* وجود دارد و آغازگرهای SSR استفاده شده در این پژوهش به‌خوبی قادر به نشان دادن این میزان تنوع بودند.

واژه‌های کلیدی

تجزیه واریانس مولکولی

تنوع ژنتیکی

ژرم‌پلاسما

نشانگرهای SSR

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین غله و گیاه زراعی دنیا است. این گیاه در محدوده وسیعی از شرایط اقلیمی و مناطق جغرافیایی تولید می‌شود و به دلیل تطابق زیاد با شرایط آب و هوایی مختلف، دامنه پراکندگی آن بیش از هر گونه دیگر گیاهی است. این گیاه زراعی با تولید جهانی بیش از ۷۰۰ میلیون تن، ۲۰ درصد نیاز روزانه به پروتئین و کالری ۴/۵ میلیارد نفر از مردم جهان را تامین می‌کند (Arzani and Ashraf 2016a). توسعه تغییر در اقلیم جهانی، فرسایش ژنتیکی و چالش تولید کشاورزی پایدار نیاز به بهره‌برداری از ذخائر توارثی به‌ویژه خویشاوندان وحشی را بدیهی ساخته است (Arzani and Ashraf 2016b).

خویشاوندان وحشی گندم حاوی ژن‌های مفیدی همچون ژن‌های مرتبط با مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی هستند (Hajjar and Hodgking 2007). از این‌رو، وجود چنین منابع ژنتیکی می‌تواند به‌عنوان ژرم پلاسماهای مفید در برنامه‌های به‌نژادی گندم مورد استفاده به‌نژادگران قرار گیرند (Pour-Aboughadareh et al. 2017). گونه‌های مختلف دو جنس *Triticum* و *Aegilops* مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند که مستقیم یا غیر مستقیم به‌عنوان گونه‌های بخشنده ژنوم A، B و D معرفی شده‌اند (Weide et al. 2007; Kilian et al. 2013). در بین گونه‌های آریلوپس، گونه *Ae. tauschii* با اعطای ژنوم D به گندم‌های زراعی به‌عنوان اصلی‌ترین خویشاوند وحشی گندم نان شناخته شده است. این گونه گیاهی دیپلوئید ($2x=2n=14$) و یکساله است که سواحل دریای خزر و آذربایجان به‌عنوان عمده‌ترین مراکز توزیع این گونه شناخته شده‌اند. در واقع این گونه تنها خویشاوند دیپلوئید از جنس آریلوپس بوده که از مرکز تکامل به نواحی شرقی گسترش یافته است. همچنین در مرکز چین پراکنش وسیعی از آن مشاهده شده است. دامنه‌ها، سرایشی‌ها، علف‌زارها، حاشیه‌ها، نواحی جنگلی مرطوب و حتی درون مزارع گندم زراعی به‌عنوان اصلی‌ترین رویشگاه‌های این گونه محسوب می‌شوند. رشد مطلوب و کامل *Ae. tauschii* در مناطق کم باران با میانگین بارش سالانه ۳۵۰ - ۱۵۰ میلی‌متر سبب شده است تا این گونه نیز به‌عنوان یکی از گونه‌های برخوردار از ژن‌های متحمل به خشکی

در نظر گرفته شود (Kilian et al. 2011). با این‌حال، مشخص شده است این گونه دارای پتانسیل قابل توجهی از نظر مقاومت به انواع دیگری از تنش‌های محیطی مانند شوری، سرما، خشکی و بسیاری از آفات و بیماری‌ها می‌باشد (Sohail et al. 2011; Massomi-Aldizgeh et al. 2015; Ahmadi et al. 2018). این‌رو به‌نظر می‌رسد بررسی تنوع ژنتیکی در این گونه ژرم پلاسمای اطلاعات مفیدی در رابطه با وضعیت تنوع آلی برای به‌کارگیری از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی فراهم آورد.

تنوع ژنتیکی پایه و اساس هر برنامه اصلاحی بوده و برآورد میزان تنوع در ژرم پلاسما هر گونه گیاهی نقش مهمی در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از ذخائر ژنتیکی آن دارد (Mohammadi and Prasanna 2003). جهت تعیین و برآورد تنوع ژنتیکی می‌توان از روش‌های مختلفی مانند استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی استفاده نمود. در ارزیابی تنوع ژنتیکی نشانگرهای مولکولی نسبت به سایر نشانگرها دارای دقت و سودمندی بیشتری هستند زیرا برخلاف نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی متأثر از شرایط محیطی و رشدی گیاه نیستند. از مهم‌ترین ویژگی‌های یک نشانگر مناسب می‌توان به دسترسی آسان به آن، سادگی روش کار و سرعت عمل بالا، تکرارپذیری و بالا بودن درصد چندشکل آن اشاره نمود (Sharma et al. 2008). در بین نشانگرهای مولکولی، ریزماهورها (SSR^1) از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. این نشانگرها شامل واحدهای تکی تا شش تایی تکرار شونده‌ای هستند که در ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها پراکنده شده‌اند، به‌طوری‌که در هر ده کیلو جفت‌باز از ردیف DNA دست کم یک ردیف ریزماهوره‌ای دیده می‌شود (Litt and Luty 1989). 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 به‌طوری‌که متوسط میزان چندشکلی نیز بالا بود. در مطالعه Tahernezahad et al. (2010) از نشانگرهای SSR در بررسی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف *Ae. tauschii* استفاده شد. در این مطالعه با استفاده از ۱۹

¹ Simple sequence repeats

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. (Naghavi et al. 2010) نیز در ارزیابی ساختار جمعیت گونه‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای SSR گزارش کردند که مقادیر هر یک از شاخص‌های تنوع ژنتیکی هم‌چون میزان هتروزیگوتی مشاهده شده، تنوع ژنتیکی و شاخص شانون در نمونه‌های مربوط به نواحی شمالی ایران نسبت به سایر مناطق بیشتر بوده و میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های وحشی *Ae. tauschii* به مراتب بسیار بیشتر از تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های *T. aestivum* 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 آورند.

به‌طور کلی هدف اصلی این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران و مقایسه آن با تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌های گندم نان بود. علاوه بر این، گروه‌بندی توده‌های مختلف و تشکیل یک درخت‌واره ژنتیکی بر اساس انگشت‌نگاری ژنومی حاصل از نشانگرهای SSR مبتنی بر ژنوم D از دیگر اهداف این پژوهش به‌شمار می‌آید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۹۵ توده از دو گونه *Ae. tauschii* (۴۸ توده) و *T. aestivum* (۴۷ توده) بود که بذور آن‌ها از بانک ژن غلات دانشگاه ایلام تهیه و کد دسترسی آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. پس از کشت بذرها در شرایط گلخانه و تولید گیاهچه، استخراج DNA ژنومی از 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. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های مورد بررسی از ۲۵ جفت آغازگر SSR استفاده شد که در مجموع ۲۴ آغازگر قادر به ارائه چندشکلی بودند که توالی آن‌ها در جدول ۲ آورده شده است. پس از بهینه‌سازی 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 TaqPremix (2X, Amplicon) 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 باندهای براساس معیار یک (وجود باند) و صفر (عدم وجود باند)، مقادیر محتوای چندشکلی (PIC^1) 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 and Smouse 2006). مقادیر فواصل ژنتیکی بین جفت نمونه‌ها بر اساس ضریب فاصله جاکارد محاسبه و به‌منظور 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). به‌منظور بررسی ساختار جمعیت و یافتن تعداد

¹ Polymorphic information content

² Heterozygosity

نظر گرفت شد. برای تعیین بهترین تعداد زیر جمعیت نیز از نرم افزار Structure Harvester استفاده شد (Earl and vonHoldt 2012).

نتایج و بحث

از بین ۲۵ آغازگر SSR استفاده شده در این بررسی ۲۴ آغازگر توانستند چندشکلی خوبی در ۹۵ توده بررسی شده داشته باشند و در مجموع ۴۹ آلل شناسایی کردند (جدول ۲).

زیرجمعیت‌های واقعی (K) در نمونه‌های ارزیابی شده، از نرم افزار Structure و روش آماری بیزین استفاده شد (Pitchard et al. 2000). در این روش افراد بر اساس ماتریس داده‌های مولکولی به زیر جمعیت‌های مشخصی منتسب می‌شوند به طوری که هر یک از زیر جمعیت‌ها از تعادل هاردی-واینبرگ برخوردار باشند. با در نظر گرفتن ۱۰ تکرار مستقل برای هر یک از زیر جمعیت‌های احتمالی مقادیر اولیه K نیز از ۲ تا ۶ در نظر گرفته شد. علاوه بر این برای هر دو شاخص Burn-in و MCMC مقدار ۱۰۰۰۰ در

جدول ۱- کد دسترسی توده‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* مورد ارزیابی در این پژوهش

No.	Species	Code	No.	Species	Code	No.	Species	Code
1	IUGB-00133	<i>T. aestivum</i>	33	IUGB-00578	<i>T. aestivum</i>	65	IUGB-00366	<i>Ae. tauschii</i>
2	IUGB-00134	<i>T. aestivum</i>	34	IUGB-00602	<i>T. aestivum</i>	66	IUGB-00369	<i>Ae. tauschii</i>
3	IUGB-00264	<i>T. aestivum</i>	35	IUGB-00586	<i>T. aestivum</i>	67	IUGB-00402	<i>Ae. tauschii</i>
4	IUGB-00447	<i>T. aestivum</i>	36	IUGB-00598	<i>T. aestivum</i>	68	IUGB-00151	<i>Ae. tauschii</i>
5	IUGB-00453	<i>T. aestivum</i>	37	IUGB-00515	<i>T. aestivum</i>	69	IUGB-00291	<i>Ae. tauschii</i>
6	IUGB-00460	<i>T. aestivum</i>	38	IUGB-01847	<i>T. aestivum</i>	70	IUGB-00382	<i>Ae. tauschii</i>
7	IUGB-00480	<i>T. aestivum</i>	39	IUGB-00534	<i>T. aestivum</i>	71	IUGB-00238	<i>Ae. tauschii</i>
8	IUGB-00482	<i>T. aestivum</i>	40	IUGB-00613	<i>T. aestivum</i>	72	IUGB-00249	<i>Ae. tauschii</i>
9	IUGB-00485	<i>T. aestivum</i>	41	IUGB-00590	<i>T. aestivum</i>	73	IUGB-00367	<i>Ae. tauschii</i>
10	IUGB-00516	<i>T. aestivum</i>	42	IUGB-00606	<i>T. aestivum</i>	74	IUGB-00273	<i>Ae. tauschii</i>
11	IUGB-00911	<i>T. aestivum</i>	43	IUGB-00599	<i>T. aestivum</i>	75	IUGB-00274	<i>Ae. tauschii</i>
12	IUGB-01569	<i>T. aestivum</i>	44	IUGB-01840	<i>T. aestivum</i>	76	IUGB-00276	<i>Ae. tauschii</i>
13	IUGB-01635	<i>T. aestivum</i>	45	IUGB-00532	<i>T. aestivum</i>	77	IUGB-00279	<i>Ae. tauschii</i>
14	IUGB-01671	<i>T. aestivum</i>	46	IUGB-00580	<i>T. aestivum</i>	78	IUGB-00289	<i>Ae. tauschii</i>
15	IUGB-01695	<i>T. aestivum</i>	47	7499-2	<i>T. aestivum</i>	79	IUGB-00374	<i>Ae. tauschii</i>
16	IUGB-01696	<i>T. aestivum</i>	48	TN-01-0836	<i>Ae. tauschii</i>	80	IUGB-00383	<i>Ae. tauschii</i>
17	IUGB-00615	<i>T. aestivum</i>	49	IUGB-00020	<i>Ae. tauschii</i>	81	IUGB-00386	<i>Ae. tauschii</i>
18	IUGB-00597	<i>T. aestivum</i>	50	IUGB-00107	<i>Ae. tauschii</i>	82	IUGB-00396	<i>Ae. tauschii</i>
19	IUGB-00604	<i>T. aestivum</i>	51	IUGB-00164	<i>Ae. tauschii</i>	83	IUGB-00400	<i>Ae. tauschii</i>
20	IUGB-00603	<i>T. aestivum</i>	52	IUGB-00193	<i>Ae. tauschii</i>	84	IUGB-00401	<i>Ae. tauschii</i>
21	IUGB-00576	<i>T. aestivum</i>	53	IUGB-00196	<i>Ae. tauschii</i>	85	IUGB-00404	<i>Ae. tauschii</i>
22	IUGB-00618	<i>T. aestivum</i>	54	IUGB-00198	<i>Ae. tauschii</i>	86	IUGB-00405	<i>Ae. tauschii</i>
23	IUGB-01845	<i>T. aestivum</i>	55	IUGB-00039	<i>Ae. tauschii</i>	87	TN-01-1970	<i>Ae. tauschii</i>
24	IUGB-00518	<i>T. aestivum</i>	56	IUGB-00223	<i>Ae. tauschii</i>	88	TN-01-2120	<i>Ae. tauschii</i>
25	IUGB-00593	<i>T. aestivum</i>	57	IUGB-00224	<i>Ae. tauschii</i>	89	IUGB-00297	<i>Ae. tauschii</i>
26	IUGB-00570	<i>T. aestivum</i>	58	IUGB-00245	<i>Ae. tauschii</i>	90	IUGB-01746	<i>Ae. tauschii</i>
27	IUGB-00575	<i>T. aestivum</i>	59	IUGB-00247	<i>Ae. tauschii</i>	91	KC-50006	<i>Ae. tauschii</i>
28	IUGB-01846	<i>T. aestivum</i>	60	IUGB-00260	<i>Ae. tauschii</i>	92	KC-50084	<i>Ae. tauschii</i>
29	IUGBI-00577	<i>T. aestivum</i>	61	IUGB-00261	<i>Ae. tauschii</i>	93	TN-01-0312	<i>Ae. tauschii</i>
30	IUGBI-00589	<i>T. aestivum</i>	62	IUGB-00143	<i>Ae. tauschii</i>	94	TN-01-1559	<i>Ae. tauschii</i>
31	IUGB-00573	<i>T. aestivum</i>	63	IUGB-00325	<i>Ae. tauschii</i>	95	IUGB-00141	<i>Ae. tauschii</i>
32	IUGB-00600	<i>T. aestivum</i>	64	IUGB-00365	<i>Ae. tauschii</i>			

این شاخص قادر به برآورد مناسبی از آغازگرهاست و با تعداد باندهای چندشکل مشاهده شده در نمونه‌های مورد بررسی ارتباط مستقیمی دارد (Milbourne et al. 1997). بررسی شاخص MI برآورد شده برای آغازگرهای SSR مورد استفاده در این تحقیق نشان داد این شاخص دارای دامنه تغییرات بین ۰/۲۸ تا ۰/۹۸ با میانگین ۰/۸۰ می‌باشد و آغازگر Xgwm-121 نسبت به سایر آغازگرها دارای بیشترین شاخص MI می‌باشد. علاوه بر شاخص‌های ذکر شده قدرت تفکیک (Rp) نیز معیار مناسبی برای تمایز آغازگرهاست و بیانگر توانایی یک آغازگر در تمایز افراد مورد بررسی می‌باشد. این شاخص نیز با تعداد آل‌های مشاهده در الگوی باندی رابطه مستقیمی دارد (Prevost and Wilkinson 1999). با بررسی نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مشخص شد این شاخص دارای میانگین ۱/۲۷ بوده و بیشترین و کمترین میزان آن به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای Xgwm-232 و Xgwm-608 می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای SSR استفاده شده و نتایج حاصل از تکثیر آن‌ها در جمعیت‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii*

آغازگر	تعداد آل	تنوع ژنی	PIC	Rp	MI
Xgwm-16	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۱۸	۰/۷۴
Xgwm-44	۲	۰/۳۵	۰/۲۹	۱/۵۷	۰/۵۸
Xgwm-111	۲	۰/۱۸	۰/۱۶	۱/۸۶	۰/۳۲
Xgwm-121	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۱۱	۰/۹۸
Xgwm-271	۲	۰/۴۳	۰/۳۴	۱/۴۳	۰/۷۴
Xgwm-272	۲	۰/۲۵	۰/۲۱	۱/۷۵	۰/۶۸
Xgwm-292	۲	۰/۴۱	۰/۳۳	۱/۵۲	۰/۴۲
Xgwm-296	۲	۰/۴۸	۰/۳۶	۱/۲۶	۰/۶۶
Xgwm-301	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۲۵	۰/۷۲
Xgwm-325	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۰۳	۰/۷۴
Xgwm-349	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۲۸	۰/۷۴
Xgwm-382	۲	۰/۴۸	۰/۳۶	۱/۲۰	۰/۷۴
Xgwm-455	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۲۲	۰/۷۲
Xgwm-469	۲	۰/۵۰	۰/۳۷	۱/۰۴	۰/۷۴
Xgwm-515	۲	۰/۴۶	۰/۳۵	۱/۳۴	۰/۷۰
Xgwm-565	۲	۰/۳۰	۰/۲۶	۱/۶۹	۰/۵۲
Xgwm-583	۲	۰/۵۰	۰/۳۷	۱/۰۴	۰/۷۴
Xgwm-608	۲	۰/۵۰	۰/۳۷	۱/۰۲	۰/۷۴
Xgwm-624	۲	۰/۴۹	۰/۳۸	۱/۱۴	۰/۷۶
Xgwm-157	۲	۰/۵۰	۰/۳۷	۱/۰۵	۰/۷۴
Xgwm-212	۲	۰/۳۸	۰/۳۰	۱/۵۶	۰/۶۰
Xgwm-232	۲	۰/۱۵	۰/۱۴	۱/۸۸	۰/۲۸
Xgwm-311	۲	۰/۴۶	۰/۳۵	۱/۳۱	۰/۷۰
Xgwm-484	۲	۰/۴۹	۰/۳۷	۱/۱۵	۰/۷۴
میانگین	۱/۹۶	۰/۴۱	۰/۳۲	۱/۲۷	۰/۸۰

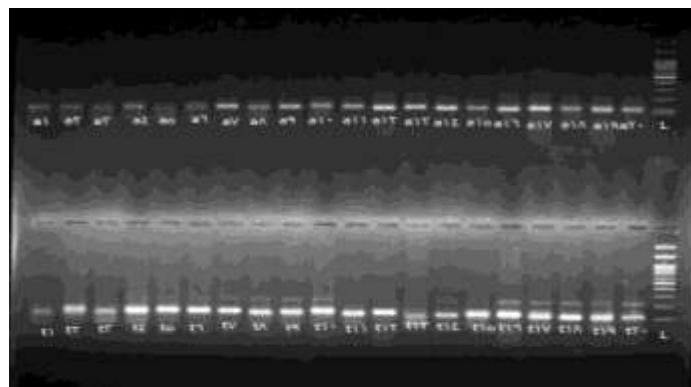
محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) و تنوع ژنی (H)، توان تفکیک یک نشانگر را به‌واسطه تعداد آل‌های مکان‌های ژنی نشانگر و فراوانی نسبی این آل‌ها در جمعیت مورد بررسی نشان می‌دهند (Farshadfar 1995). به‌جز آغازگر Xgwm-639 سایر آغازگرها ۲ آل شناسایی کردند. در واقع تشابه در تعداد آل‌های شناسایی شده می‌تواند ناشی از یکسانی در شمار توالی‌های تکراری، نوع نوکلئوتیدهای آن‌ها و ساختار نوکلئوتیدی ژنوم باشد (Nadi et al. 2019) (شکل ۱). با توجه به اطلاعات مندرج در جدول ۲ مشخص شد در مجموع ۲۴ آغازگر چندشکل مقدار PIC از ۰/۱۴ به‌عنوان کمترین میزان مربوط به آغازگر Xgwm-232 تا ۰/۳۸ به‌عنوان بیشترین مقدار مربوط به آغازگر Xgwm-624 متغیر و میانگین کل محتوای چندشکلی برابر با ۰/۳۲ بود. با توجه به اینکه هرچه مقدار شاخص PIC بیشتر باشد قدرت تمایز آغازگر نیز بیشتر خواهد بود از اینرو می‌توان نتیجه گرفت آغازگر Xgwm-232 نسبت به سایر آغازگرها دارای بیشتر سطح چندشکلی برای جایگاه خود بوده و علاوه براین از توان بالایی در آشکارسازی چندشکلی بین نمونه‌های بررسی شده دارد. پیش از این در مطالعه Moradkhani et al. (2015) که تنوع ژنتیکی موجود در گندم و خویشاوندان وحشی آن را ارزیابی نمودند میانگین شاخص PIC برابر با ۰/۳۶ گزارش شد که در این راستا با نتایج این پژوهش تا حد زیادی مطابقت داشت. با این‌حال مقدار PIC گزارش شده توسط (Naghavi et al. 2009) نسبت به مقدار مشاهده شده در این پژوهش متفاوت بود. این محققان با بررسی ۵۲ توده مربوط به گونه‌های *T. aestivum*، *Ae. tauschii* و *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* متوسط شاخص PIC را برای ۲۱ جفت آغازگر ریزماهواره را ۰/۵۶ گزارش نمودند.

شاخص تنوع ژنی نیز یکی از مهم‌ترین معیارهای ارزیابی تنوع آلی نشانگرها می‌باشد و رابطه مستقیمی با شاخص PIC دارد. بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد متوسط این شاخص برابر با ۰/۴۱ و بیشترین مقدار آن (۰/۵۰) مربوط به آغازگرهای Xgwm-469، Xgwm-583، Xgwm-608 و Xgwm-157 بود. در مقابل کمترین مقدار این شاخص برای آغازگر Xgwm-232 تخمین زده شد. از دیگر شاخص‌های مهم در برآورد کارایی یک سیستم نشانگری می‌توان به شاخص نشانگر (MI) اشاره نمود.

نسبت به *T. aestivum* بیشتر بود که این نشان‌دهنده سطح بالای تنوع آللی درون گونه‌ای در *Ae. tauschii* می‌باشد. پیش از این در مطالعات (Etminan et al. 2019) و Pour-Aboughadareh et al. (2018) نیز با مقایسه پارامترهای ژنتیکی در مجموعه‌ای از گونه‌های تریتیکوم و آژیلوپس گزارش شده است که جمعیت‌های *Ae. tauschii* نسبت به *T. aestivum* از نظر کلیه پارامترها دارای مقادیر بالاتری هستند. در واقع وجود چنین سطح بالایی از تنوع ژنتیکی است که منجر شده است این گونه به‌عنوان یک منبع ژنی غنی برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی گندم مورد توجه به‌نژادگران قرار گیرد. به‌عبارت دیگر با بررسی منابع مختلف مشاهده می‌شود که جمعیت‌های این گونه چه از نظر تحمل به انواع تنش‌های زنده و غیر زنده و چه از نظر صفات کیفی دانه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و در بین سایر گونه‌های خویشاوندی سهم بیشتری از مطالعات را به‌خود اختصاص داده است که این می‌تواند به نوعی بیانگر وجود سطح بالایی از تنوع آللی موجود در آن باشد که محققان را به جستجو برای یافتن ژن‌های مقاومت در خود سوق داده است.

به‌منظور بررسی بررسی میزان تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس ماتریس داده‌های SSR انجام و نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده بیشترین سهم تنوع ژنتیکی مربوط به درون گونه‌ها بود که نتیجه بیانگر تنوع آللی گسترده در دو گونه *Ae. tauschii* و *T. aestivum* می‌باشد. پیش از این نیز سطح بالایی از تنوع درون گونه در گندم و سایر خویشاوندان وحشی آن با استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند SSR، ISSR، SCoT و CDBP گزارش شده است که در این راستا با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشتند (Naghavi et al. 2009; Pour-Aboughadareh et al. 2017; Etminan et al. 2019; Ahmadi et al. 2020).

با توجه به مشاهده سطح بالایی از تنوع بین گونه‌ای، به‌منظور مقایسه میزان تنوع موجود در هر یک از گونه‌های مورد بررسی برخی از پارامترهای ژنتیکی شامل تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، شاخص اطلاعات شانون (I)، شاخص تنوع ژنی نی (H)، درصد چندشکلی مکان‌های ژنی (PPL) و تعداد باندهای اختصاصی (NPB) برآورد و مقادیر آن‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود مقادیر تمامی پارامترهای ژنتیکی برآورد شد در گونه *Ae. tauschii*



شکل ۱- الگوی باندی نشانگر SSR (Xgwm-157) در گونه‌های *Agilops* و *Triticum* واجد ژنوم D در سطوح مختلف پلوئیدی. L و a و t نشان‌دهنده leader، *T. aestivum*(a) و *A. tauschii*(t) می‌باشد.

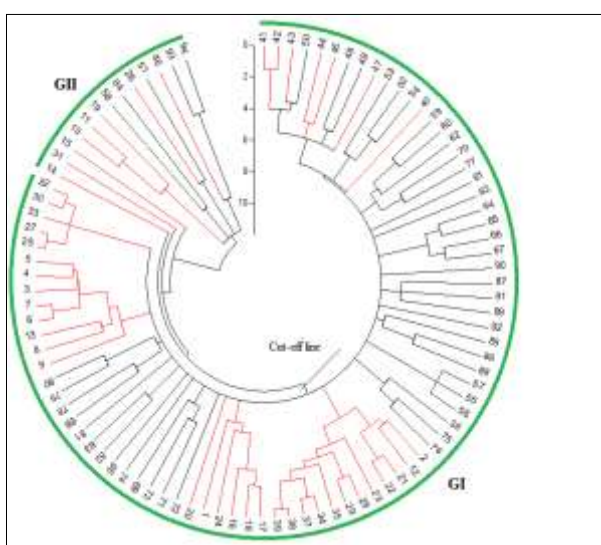
جدول ۳- تجزیه AMOVA بر اساس داده‌های بدست آمده از نشانگرهای SSR در دو گونه *Ae. tauschii* و *T. aestivum*

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	درصد واریانس
بین گونه‌ای	۱	۷۷/۵۳	۱/۴۴	۱۴
درون گونه‌ای	۹۳	۸/۶۹	۸/۶۹	۸۶

جدول ۴- مقایسه پارامترهای ژنتیکی برآورد شده در دو گونه *T. aestivum* و *Ae. tauschii* بر اساس آغازگرهای SSR

<i>Ae. tauschii</i> (n = 48)	<i>T. aestivum</i> (n = 47)	پارامتر ژنتیکی
$1/87 \pm 0/05$	$1/75 \pm 0/09$	تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)
$1/66 \pm 0/04$	$1/47 \pm 0/09$	تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)
$0/53 \pm 0/03$	$0/39 \pm 0/05$	شاخص اطلاعات شانون (I)
$0/37 \pm 0/02$	$0/27 \pm 0/04$	شاخص تنوع ژنی (H)
۸۹/۸۰	۳۸۳/۴۷	درصد چندشکلی مکان‌های ژنی (PPL)
۳	۰	تعداد باندهای اختصاصی (NPB)

شامل توده‌های مربوط به گونه *T. aestivum* بود ولی با این‌حال تعداد ۵ توده *Ae. tauschii* نیز در این گروه قرار گرفت (شکل ۲).



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های SSR به‌دست آمده در ۹۵ توده *T. aestivum* و *Ae. tauschii* خطوط قرمز معرف توده‌های مربوط به گونه *T. aestivum* می‌باشند.

جهت بررسی دقیق‌تر روابط بین دو گونه مورد بررسی و همچنین الگوی پراکنش توده‌های مختلف تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه نشان داد دو مؤلفه نخست به‌ترتیب با توجیه $30/48$ و $19/90$ درصد در مجموع $50/38$ درصد از کل تغییرات مشاهده شده توسط نشانگرهای SSR را توجیه نمودند. با بررسی نمودار بای‌پلات (شکل ۳) ترسیم شده بر اساس دو مؤلفه نخست مشاهده شد الگوی پراکنش و توزیع توده‌ها تا حد زیادی منطبق با گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. با در نظر گرفتن این نتایج می‌توان اظهار داشت قرار گرفتن برخی از توده‌های مربوط به دو

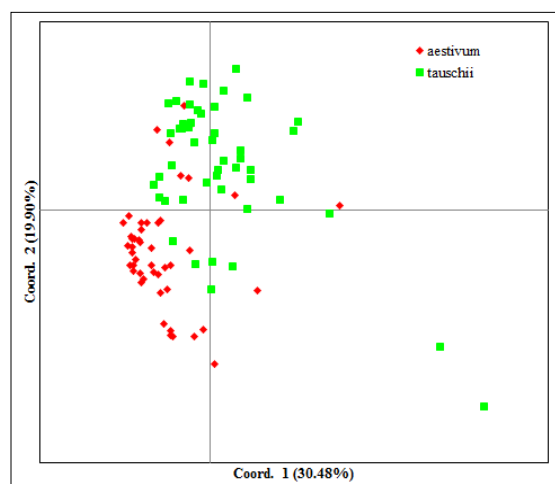
به‌عنوان مثال، Masoomi-Aldizgeh et al. (2015) با استفاده از صفات مورفو-فیزیولوژیک و آنالیز الگوی بیان ژن گزارش کردند که برخی از توده‌های گونه *Ae. tauschii* نسبت به ارقام زراعی و متحمل به سرما دارای مقاومت بالاتری هستند. در یک مطالعه صورت گرفته توسط Sohail et al. (2011) مشخص شد که برخی از توده‌های *Ae. tauschii* نسبت به ارقام سنتتیک گندم زراعی تظاهری بهتری در پاسخ به تنش خشکی دارند و تحت شرایط تنش خشکی میانگین صفات نمونه‌های وحشی نسبت به ارقام زراعی از کاهش کمتری برخوردار بود. از نظر صفات مرتبط با کیفیت دانه نیز Guangrong et al. (2010) گزارش کردند تنوع آللی بالایی برای ژن‌های امگا گلیادین در جمعیت‌های *Ae. tauschii* وجود دارد به‌طوری‌که تعداد ۵ ژن به‌عنوان ژن کاذب در این گونه شناسایی شد.

به‌منظور توصیف دقیق‌تر روابط بین توده‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* ارزیابی شده، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ماتریس تشابه ژنتیکی جاکارد و به روش Neighbor-joining انجام شد. ضریب تشابه ژنتیکی بین $0/42$ تا $0/97$ متغیر و متوسط آن برابر با $0/65$ بود. کمترین و بیشترین میزان تشابه به‌ترتیب بین توده‌های شماره ۲۵ با ۲۷ ($0/97$) و ۳۷ با ۷۴ ($0/42$) مشاهده شد (ماتریس ضرایب نشان داده نشده است). با توجه به دندروگرام به‌دست آمده مشخص شد کلیه توده‌ها در دو گروه اصلی (GI و GII) گروه‌بندی شدند. با توجه به دندروگرام به‌دست آمده از این تجزیه مشخص شد توده‌های مورد بررسی از الگوی یکنواختی بر حسب گونه‌های خود برخوردار نبوده و به‌صورت تصادفی هر گروه در برگیرنده تعدادی از توده‌های *Ae. tauschii* و *T. aestivum* بود. گروه GI در برگیرنده بیشترین تعداد توده بود. به‌جز تعداد محدودی، عمدتاً توده‌های مربوط به هر گونه در کنار یکدیگر در یک زیر خوشه مجزا قرار گرفتند. گروه GII عمدتاً

۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸ و ۳۹ از گونه *T. aestivum* زیر جمعیت سوم (SP-3) را تشکیل دادند. هشت توده از گونه *T. aestivum* (شماره‌های ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶ و ۴۷) و نه توده از گونه *Ae. tauschii* (شماره‌های ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷ و ۵۸) در زیر جمعیت چهارم (SP-4) قرار گرفتند. در بین توده‌های مورد بررسی نیز توده‌های شماره ۲۶ متعلق به گونه *T. aestivum* و شماره‌های ۶۳، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۵ و ۸۴ متعلق به گونه *Ae. tauschii* با میزان آستانه کمتر از ۰/۵ به عنوان توده‌های مختلط در هیچ از زیر جمعیت‌ها قرار نگرفتند (شکل ۴). با بررسی روند پراکنش توده‌های در زیر جمعیت‌های واقعی مشاهده می‌شود که توده‌های مربوط به هر گونه به خوبی از یکدیگر و در زیر جمعیت‌های متمایزی تفکیک شدند و وجود برخی از توده‌های مربوط به هر گونه در کنار یکدیگر در یک زیر جمعیت مشابه می‌تواند دلیلی بر جریان ژنی موجود در جمعیت‌ها باشد و یا اینکه تعداد جایگاه‌های ژنی مشاهده شده توسط آغازگرهای استفاده شده به اندازه کافی نبوده است. با این حال وجود چنین جریان ژنی و اختلاطی می‌تواند بیانگر ارتباط قوی بین گونه گندم نان و نیای وحشی آن *Ae. tauschii* باشد.

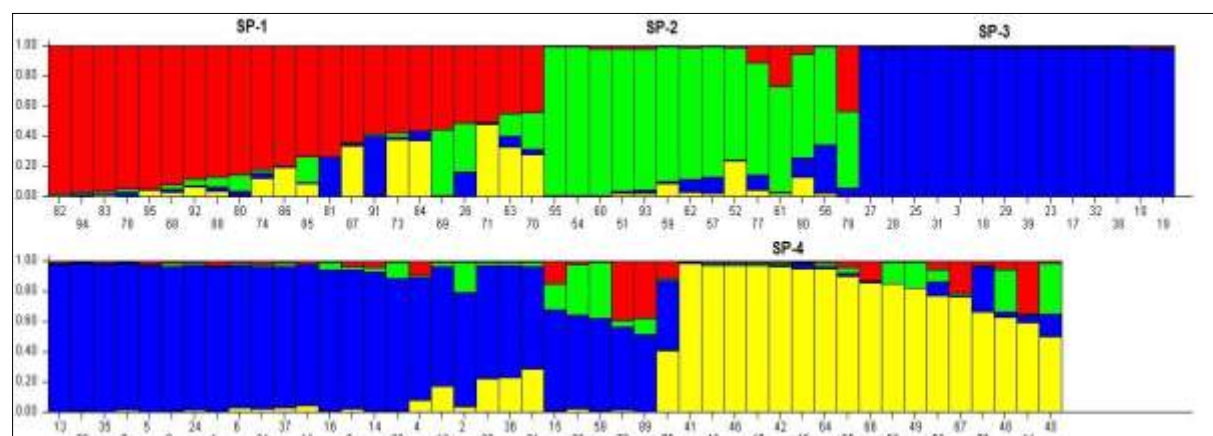
به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون هر یک از گونه‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* وجود داشت. علاوه بر این، آغازگرهای SSR استفاده شده در این بررسی به خوبی قادر به ارائه سطح بالایی از چندشکلی بوده و به خوبی قادر به تفکیک توده‌ها از یکدیگر بودند. با توجه به اینکه در سال‌های اخیر تغییرات گسترده اقلیمی منجر به بروز چالش‌های فراوانی برای به‌زادگران گندم شده است، لذا نظر به وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در خویشاوندان وحشی گندم به‌ویژه *Ae. tauschii* اهمیت جمع‌آوری، ذخیره و نگهداری از این ژرم‌پلاسم گیاهی امری ضروری به‌نظر می‌رسد.

گونه مختلف در کنار یکدیگر از یک سو می‌تواند دلیلی بر وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای بوده و از سوی دیگر بیانگر وجود یک رابطه فیلوژنتیکی نزدیک بین *T. aestivum* و *Ae. tauschii* باشد. در واقع با توجه به اینکه گونه *Ae. tauschii* به‌طور مستقیم در فرایند تکامل کندم زراعی نقش داشته است و از طرفی آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش نیز مبتنی بر ژنوم D بوده‌اند لذا دست‌یابی به چنین نتایجی دور از انتظار نیست.



شکل ۳- الگوی پراکنش توده‌های ارزیابی شده بر اساس دو مؤلفه‌های نخست حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) با استفاده از داده‌های SSR

به‌منظور گروه‌بندی نمونه‌های مورد بررسی و یافتن تعداد واقعی زیر جمعیت‌ها بر اساس ماتریس داده‌های SSR تجزیه ساختار جمعیت انجام شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده و بررسی درصد عضویت افراد با آستانه ۰/۵ مشخص شد ۹۵ توده *T. aestivum* و *Ae. tauschii* در چهار زیر جمعیت ($K = 4$) پراکنده شدند. میانگین شاخص F_{ST} زیر جمعیت‌ها برابر با ۰/۵۰ و مقدار آن در هر یک از زیر جمعیت‌های ۱ تا ۴ به ترتیب برابر با ۰/۲۶، ۰/۶۱، ۰/۵۷ و ۰/۵۸ بود. بررسی پراکنش توده‌ها نشان داد زیر جمعیت نخست (SP-1) در برگیرنده توده‌های *Ae. tauschii* شماره ۶۸، ۷۳، ۷۴، ۷۸، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۶، ۸۵، ۸۷، ۹۱، ۹۲، ۹۴ و ۹۵ بود. زیر جمعیت دوم (SP-2) در برگیرنده توده‌های شماره ۵۱، ۵۲، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۷۷، ۷۹، ۹۰ و ۹۳ متعلق به گونه *Ae. tauschii* بود. سه توده از گونه *Ae. tauschii* (شماره‌های ۵۸، ۷۲ و ۸۹) به‌همراه توده‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴،



شکل ۴- گروه‌بندی توده‌های ارزیابی شده بر اساس داده‌های SSR مبتنی بر تجزیه ساختار جمعیت

منابع

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 (2018) Wild relatives of wheat: *Aegilops-Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 40:90.

Arzani A, Ashraf M (2016a) Cultivated ancient wheats (*Triticum* spp.): A potential source of health-beneficial food products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16: 477-488.

Arzani A, Ashraf M (2016b) Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 35: 146-189.

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

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

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.

Farshadfar A. (1995) The application of quantitative genetics in plant breeding. Tagh Bostan Pulpation, 528p. (In Farsi).

Guangrong L, Zhang T, Wei P, Jia J, Yang Z (2010). Sequence Analysis of gliadin Genes from *Aegilops tauschii* Native to China. *Asian Journal of Agricultural Sciences* 2: 128-135.

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.

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.

Kilian B, Ozkan H, Deusch O, Effgen S, Brandolini A, Kohl J, Martin W, Salamini F (2007) Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes. *Molecular Biology and Evolution* 24: 217-227.

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.

Masoomi-Aladizgeh F, Aalami A, Esfahani M, Aghaei MJ, Mozaffari K (2015). Identification of *CBF14* and *NAC2* genes in *Aegilops tauschii* associated with resistance to freezing stress. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 176: 1059-1070.

Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43: 1235-1248.

Moradkhani H, Mehrabi AA, Etminan A, Pour-Aboughadareh A (2015) Molecular diversity and phylogeny of *Triticum-Aegilops* species possessing D genome revealed by SSR and ISSR markers. *Plant Breeding and Seed Science* 71: 81-95

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 (2009) 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.

- 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 (2018) Insight into the genetic variability analysis and relationships among some *Aegilops* and *Triticum* species, as genome progenitors of bread wheat, using SCoT markers. *Plant Biosys* 152: 694-703.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Moghaddam M, Etminan E, Siddique KHM (2017a) Physiological responses to drought stress in wild relatives of wheat: implications for wheat improvement. *Acta Physiologiae Plantarum* 39: 49.
- Prevost A, Wilkinson MJ (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 107-112.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.
- Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Heslop-Harrison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. in Iran measured using microsatellites. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1477-1484.
- Sharma R, Konandreas P (2008) WTO provisions in the context of responding to soaring food prices. *FAO Commodity and Trade Policy Research Working Paper No. 25*. FAO, Rome.
- Sohail Q, Inoue T, Tanaka H, Eltayeb AE, Matsuoka Y, Tsujimouka H (2011) Applicability of *Aegilops tauschii* drought tolerance traits to breeding of hexaploid wheat. *Breeding Science* 61: 347-357.
- Tahernezhad Z, Zamani MJ, Solouki M, Zahravi M, Imamjomeh AA, Jafaraghaei M, Bihanta 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.
- Varshney RK, Chabane K, Hendre PS, Aggarwal RK, Graner A (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 Science* 173: 638-649.
- Weide A, Rieh S, Zeidi M, Conard NJ (2013) Using new morphological criteria to identify domesticated emmer wheat at the aceramic Neolithic site of Chogha Golan (Iran). *Journal of Archaeological Science* 57: 109-118.