

مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت در یک مجموعه از اکسشن های مختلف *Triticume urartu* با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهورهای

The study of genetic diversity and population structure in a set of different accessions of *Triticume urartu* using inter simple sequence repeat markers

فتانه غلامیان^۱، مهدی چنگیزی^۱، علیرضا اطمینان^{۲*}، شهاب خاقانی^۱، مسعود گماریان^۱

۱- به ترتیب دانشجوی دکترا، دانشیار، استاد و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد

اسلامی، اراک، ایران

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

Fataneh Gholamian¹, Mehdi Changizi¹, Alireza Etminan^{2*}, Shahab Khaghani¹,
Mosoud Gomarian¹

1. PhD student, Associate Professor, Professor, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology,

Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Alietminan55@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۱)

چکیده

تعیین تنوع ژنتیکی یک مرحله مهم و اساسی در برنامه های به نژادی محسوب می شود. گونه وحشی *T. urartu* به عنوان دهنده ژنوم A به گندم های زراعی، به واسطه دارا بودن تنوع الی غنی از نظر صفات مهمی از جمله ویژگی های زراعی، کیفیت پروتئین و تحمل به تنش های زنده، منبع ژنتیکی ارزشمندی برای اصلاح گندم می باشد. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت موجود در ۸۵ اکسشن مختلف *T. urartu* جمع آوری شده از مناطق مختلف جغرافیایی ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۱۶ آغازگر ISSR در مجموع ۱۶۴ باند را تکثیر نمودند که همگی آنها چندشکل بودند. متوسط شاخص محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) و شاخص نشانگر (MI) به ترتیب ۰/۴۴ و ۴/۵۳ به دست آمد که بیانگر قدرت تفکیک بالای آغازگرهای مورد استفاده بود. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش NJ بر اساس ضریب عدم تشابه جاکارد تمام ۸۵ اکسشن مختلف را در دو گروه اصلی طبقه بندی نمود که این طبقه بندی با نتایج تجزیه ساختار جمعیت با استفاده از نرم افزار STRUCTURE مطابقت داشت. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که سهم بالایی (۹۶ درصد) از تنوع کل مربوط به تنوع درون جمعیت ها بوده و سهم تنوع بین گروه ها بسیار کمتر (۴ درصد) می باشد. بر اساس شاخص های تنوع مانند تعداد ال موثر (Ne) شاخص شانون (I) و شاخص تنوع Nei(He) تنوع نسبتاً برابری در داخل جمعیت های مورد مطالعه مشاهده شد. این نتایج نشان داد مقدار قابل توجهی از تنوع ژنتیکی در بین اکسشن های مورد مطالعه وجود دارد که این یافته ضرورت حفاظت از این ذخایر ژنتیکی ارزشمند و همچنین پتانسیل قابل توجه خویشاوندان وحشی گندم را برای استفاده در برنامه های به نژادی یادآور می شود. این نتایج همچنین بیانگر کارایی نشانگرهای ISSR به عنوان تکنیکی قابل اعتماد و کارآمد در بررسی تنوع و مطالعات انگشت نگاری می باشد.

واژه های کلیدی

تنوع ژنتیکی
خویشاوندان وحشی
فرسایش ژنتیکی
گندم
نشانگرهای ملکولی

مقدمه

فرسایش ژنتیکی یکی از نتایج منفی برنامه‌های به‌نژادی و سیستم‌های نوین زراعت در جهان است. گزارش‌های موجود بیانگر آن است که ایجاد ارقام اصلاح شده تاکنون منجر به از دست رفتن چیزی در حدود سه چهارم تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی مهم شده است که تهدیدی جدی برای گونه‌های گیاهی و کشاورزی پایدار به‌شمار می‌آید (Al-Maamari et al. 2020). همانند سایر گونه‌های گیاهی، میزان تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما گندم نیز در نتیجه فرایندهای به‌نژادی و کشت و کار ارقام تجاری پرمحصول دستخوش تغییر قرار گرفته است (Peng et al. 2011; Reif et al. 2011).

از سوی دیگر طی چند دهه اخیر، جهان با تغییرات اقلیمی شدیدی روبرو بوده که این تغییرات به واسطه تاثیر بر شرایط زیست بوم‌ها و نیز به‌وجود آمدن تنش‌های محیطی مختلف می‌تواند تاثیر به‌سزایی بر تولیدات کشاورزی داشته باشد (Fita et al. 2018; Pour-Aboughadareh et al. 2015). سازگاری کشاورزی با تغییرات اقلیمی یکی از موضوعات چالشی حال حاضر در حوزه تولیدات غذایی بوده و ضرورت امنیت غذایی جهان ایجاب می‌کند گیاهانی که با هدف تامین غذای مردم دنیا کشت و کار می‌شوند بتوانند با شرایط اقلیمی جدید سازگار باشند (Lipper et al. 2014).

مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها با هدف حفاظت از ژرم پلاسما و جلوگیری از فرسایش ژنتیکی، بلکه به‌منظور فراهم شدن اطلاعات جامع در خصوص میزان تنوع و ساختار جمعیت‌های گیاهی برای گزینش والدین مناسب در انجام تلاقی‌ها و ایجاد جمعیت‌های جدید، مدیریت منابع ژرم پلاسما، استفاده از آلل‌های مطلوب برای اصلاح کمی و کیفی گیاهان زراعی و ایجاد ارقام مناسب بر اساس اهداف برنامه‌های به‌نژادی نقش بسیار مهمی دارد (Al-Maamari et al. 2020; Mohammadi and Prasanna 2003). یکی از راه‌های جلوگیری از فرسایش ژنتیکی توجه به به‌کارگیری مواد ژنتیکی متنوع در برنامه‌های به‌نژادی و استفاده از ژرم پلاسماهای مختلف برای ایجاد جمعیت‌های اصلاحی است. در این راستا، خویشاوندان وحشی یکی از ژرم پلاسماهای مهم قابل استفاده برای اصلاحگران به منظور ایجاد واریته‌های جدید در گیاهان

زراعی می‌باشند و امروزه انجام تلاقی‌های بین گونه‌ای بین گندم و خویشاوندان وحشی آن به‌عنوان راهکاری برای غلبه بر مشکل کاهش تنوع ژنتیکی در خزانه ژرم پلاسما این گیاه زراعی مهم تلقی می‌شود (King et al. 2017; Zhang et al. 2017).

خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی منابع ژنتیکی بسیار ارزشمندی هستند که اهمیت این منابع ارزشمند عمدتاً به خاطر ژن‌های با ارزش آنها است؛ چه ژن‌های شناخته شده‌ای که مقاومت به تنش‌های زنده، سازگاری به شرایط نامساعد محیطی و همچنین کیفیت محصول را کنترل می‌کنند و چه ژن‌هایی که در حال حاضر ناشناخته هستند و در آینده می‌توانند در پروژه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند (Pour-Aboughadareh et al. 2018). با اینحال، یکی از موانع به کارگیری خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی در برنامه‌های به‌نژادی، دانش محدود ما از تنوع ژنتیکی موجود در این ژرم پلاسما و همچنین چالش‌های مربوط به ترکیب آلل‌های مطلوب آنها در لاین‌های اصلاحی می‌باشد (Brunazzi et al. 2018).

چندین گونه مختلف از دو جنس تریتیکوم^۱ و آزیلوپس^۲ مهمترین خویشاوندان وحشی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند؛ به‌طوری‌که برخی از این گونه‌ها به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم به‌عنوان والد بخشنده ژنوم های A، B و D شناخته می‌شوند.

گونه *Triticum urartu* ($2n = 14$; genome A^uA^u) یکی از خویشاوندان وحشی مهم گندم است که بخشنده ژنوم A به گندم زراعی تتراپلوئید *T. turgidum* subsp. *durum* ($2n = 28$; genome AABB) یا همان گندم ماکارونی، و همچنین گندم زراعی هگزاپلوئید *T. aestivum* ($2n = 42$; genome AABBDD) یا همان گندم نان محسوب می‌شود (Dvorak et al. 1993). در نتایج تحقیقات گذشته نشان داده شده است که گونه *T. urartu* واجد ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی مهمی همچون نرخ فتوسنتز بالا (Austin et al. 1986; Morganand and Austin, 1986)، کیفیت دانه (Guzmán and Alvarez 2012) و مقاومت به بیماری (Rouse and Jin, 2011; Sheedy et al., 2012; Qiu et al. 2012).

¹ Triticum

² Aegilops

گرفته است. در این تحقیق، تنوع ژنتیکی در اکسشن‌های مختلف گونه *T. urartu* جمع آوری شده از مناطق مختلف غرب و شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این تحقیق شامل تعداد ۸۵ اکسشن مختلف از گونه وحشی *T. urartu* جمع آوری شده از ۷ منطقه جغرافیایی مختلف (جدول ۱) عمدتاً شامل مناطق غربی و شمال غربی ایران بود که مشخصات محل جمع آوری و اندازه هر جمعیت به تفکیک هر منطقه در جدول ۱ ارائه شده است. بذور هریک از اکسشن‌ها در سینی مخصوص نشاء کشت و جهت تولید گیاهچه در شرایط گلخانه نگهداری شد.

پس از رشد گیاهچه‌ها، استخراج DNA از بافت برگ هر تک بوته به روش CTAB (Doyle and Doyle 1987) انجام شد و سپس کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد بررسی و تایید قرار گرفت. در مجموع تعداد ۱۶ آغازگر ISSR از بین آغازگرهای مورد استفاده الگوهای بانندی قابل امتیازدهی ایجاد نمودند و تجزیه و تحلیل آماری بر مبنای این تعداد آغازگر انجام شد.

دمای اتصال آغازگرها با استفاده از روش گرادیانت PCR بهینه‌سازی گردید و واکنش‌های PCR با تمام ۸۵ نمونه DNA در دستگاه ترموسایکلر Biorad مدل T-100 انجام شد. واکنش‌های PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DN الگو، ۲ میکرولیتر آغازگر با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر، ۱۰ میکرولیتر 2X Master Mix و ۶ میکرولیتر آب دیونیزه استریل (DDW) انجام شد و واکنش‌های تکثیر با برنامه دمایی شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای بهینه‌شده برای هریک از آغازگرها به مدت یک دقیقه و مرحله توسعه رشته در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و

می‌باشد که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی به منظور ایجاد واریته‌های تجاری جدید گندم مورد استفاده قرار گیرد.

ایران یکی از مراکز اصلی تنوع و پراکنش گونه‌های وحشی گندم محسوب می‌شود و این منطقه جغرافیایی به‌عنوان جزئی از هلال حاصلخیز نقش بسزایی در تکامل گندم زراعی داشته است که در این ارتباط گزارش‌هایی مبنی بر تکامل گندم‌های امر در رشته کوه‌های زاگرس واقع در مناطق غربی ایران نیز ارائه شده است (Weide et al. 2013; Zohary and Hopf 1973).

نشانگرهای ISSR^۱ از جمله نشانگرهای پرکاربرد در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی مختلف می‌باشند. این نشانگر مولکولی، یک نشانگر نیمه‌تصادفی است و برای طراحی آغازگرهای آن نیازی به دانستن اطلاعات خاصی در خصوص ژنوم نیست. در این سیستم نشانگری، تکثیر در حضور یک آغازگر مکمل با توالی‌های میکروساتلایت هدف انجام می‌گیرد و قطعات تکثیر شده، توالی‌هایی از ژنوم هستند که بین دو قطعه متوالی و معکوس از توالی‌های تکراری میکروساتلایت قرار گرفته‌اند. از نشانگرهای ISSR و SSR در مطالعات تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار جمعیت در گونه‌های زراعی و وحشی گندم استفاده شده که از آن جمله می‌توان به ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسما گندم دوروم (Heidari et al. 2017)، مطالعه تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت در گونه *Aegilops triuncialis* (Khodae et al. 2021)، بررسی تنوع ژنتیکی در اکسشن‌های مختلف *Triticum boeoticum* (Mousavi et al. 2019)، بررسی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی در اکسشن‌های مختلف *Aegilops tauschii* (Nouri et al. 2021) و بررسی روابط ژنتیکی در اکسشن‌های دو جنس تریبیکوم و آزیلوپس (Moradkhani et al. 2012) اشاره نمود.

تاکنون تنوع ژنتیکی در گونه وحشی *T. urartu* با استفاده از نشانگرهای ملکولی مختلفی نظیر نشانگر تصادفی RAPD-PCR (Vierling and Nguyen 1992; Castagna et al. 1997;) (Dhaliwal et al. 1993)، آیزوزایم (Moghaddam et al. 2000)، AFLP (Castagna et al. 1997)، RFLP (Baum and Bailey 2013) و SCoT (Gholamian et al. 2019) مورد بررسی قرار

¹ Inter simple sequence repeats

از نرم GenAlEx- ver 6.5 (Peakall and Smouse 2006) انجام شد.

جدول ۱: مشخصات محل جمع آوری اکسشن های *T. urartu* جمع آوری شده از مناطق مختلف ایران

محل	کد	ارتفاع از	اندازه	Latitude	Longitude
جمع آوری	ژنوتیپ-ها	سطح دریا	نمونه	(N)	(E)
نمونه ها		(متر)			
باشماق	۱-۱۴	۱۴	۱۵۰۹	34°27'22''	46°16'18''
کرد	۱۵-۲۷	۱۳	۱۹۷۱	33°17'52''	46°19'24''
سیسخت	۲۸-۳۷	۱۰	۱۶۷۳	33°53'30''	50°51'29''
فرخ شهر	۳۸-۵۰	۱۳	۱۷۹۶	33°53'30''	51°11'34''
بیستون	۵۱-۶۱	۱۲	۱۵۵۱	36°25'26''	47°25'22''
سنقر	۶۲-۷۲	۱۰	۱۶۳۷	34°25'26''	47°52'33''
مریوان	۷۳-۸۵	۱۳	۱۵۱۸	35°37'34''	42°19'31''

نتایج و بحث

۱۶ آغازگر مورد استفاده برای تکثیر قطعات ژنومی در مجموع تعداد ۱۶۴ باند تکثیر کردند که همگی باندها چندشکل بودند (میزان چندشکلی ۱۰۰ درصد). تعداد باندهای چندشکل در بین آغازگرها از ۷ باند برای آغازگر ISSR-15 تا ۱۵ باند برای آغازگر ISSR-25 متفاوت بود و متوسط تعداد باند چندشکل به ازای هر نشانگر معادل ۱۰/۲۵ به دست آمد (جدول ۲). میانگین شاخص محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) برای آغازگرهای ISSR برابر ۰/۴۴ به دست آمد و مقادیر آن در دامنه ای بین ۰/۳۷ (آغازگر ISSR-15) تا ۰/۴۷ (آغازگرهای ISSR-01 و ISSR-14) متغیر بود. میانگین شاخص نشانگر (MI) نیز برای آغازگرهای مورد استفاده برابر ۴/۵۳ با دامنه تغییر ۲/۶۳ تا ۶/۶۷ به ترتیب برای آغازگرهای ISSR-15 و ISSR-25 بود. همچنین شاخص Rp دارای متوسط ۶/۵۸ برای مجموع آغازگرهای ISSR بود (جدول ۲). شاخص محتوای اطلاعات چندشکل بر اساس فراوانی آلل ها محاسبه می شود و بیانگر قدرت تمایز آغازگرها می باشد (Powell et al. 1996). به عبارت دیگر شاخص PIC احتمال تشخیص چندشکلی ایجاد شده توسط یک آغازگر بین دو فرد می باشد که به تعداد آلل های قابل تشخیص و فراوانی آنها وابسته است. علاوه بر شاخص PIC، شاخص های دیگری نظیر MI و

در نهایت یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد.

قطعات تکثیر شده در واکنش PCR با استفاده از روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و ژل های حاصل به وسیله Safeview رنگ آمیزی گردید. سپس تصویر الگوهای باندهای، در دستگاه Gel documentation ثبت و امتیازدهی باندها به صورت صفر و یک (به ترتیب برای عدم وجود باند و وجود باند) انجام شد.

برای بررسی سودمندی آغازگرهای مورد استفاده شاخص های میزان محتوای اطلاعات چندشکل (PIC^۱) قدرت تفکیک (Rp^۲) و شاخص نشانگر (MI^۳) محاسبه شد. جهت برآورد مقادیر فواصل ژنتیکی بین جفت نمونه ها از ضریب عدم تشابه جاکارد استفاده شد و به منظور گروه بندی نمونه ها، تجزیه خوشه ای به روش Neighbor joining (NJ) انجام گردید. از نرم افزارهای DARwin ver. 6 (Perrier et al 2006) و MEGA ver. 5.1 (Tamura et al. 2011) برای انجام تجزیه های آماری نظیر تجزیه خوشه ای، تجزیه به مختصات اصلی و برآورد فواصل ژنتیکی و همچنین رسم دندروگرام، نمودار توزیع فراوانی فواصل ژنتیکی استفاده شد. تجزیه ساختار جمعیت در توده های ارزیابی شده نیز با استفاده از نرم STRUCTURE صورت گرفت. در این تجزیه جهت یافتن زیر جمعیت های واقعی تجزیه بر پایه مدل بیزین (Bayesian) انجام و به تعداد ۱۰ مرتبه تکرار شد. تعداد شاخص های burn-in و شاخص Markov Chain Monte Carlo (MCMC) در هر تکرار به تعداد مساوی و ۵۰۰۰۰ در نظر گرفته شد. سپس به منظور دستیابی به تعداد زیر جمعیت های واقعی از نرم افزار بر خط Structure Harvester (Earl and von Holdt 2012) استفاده شد. همچنین به منظور تجزیه و تحلیل تنوع درون و بین جمعیت ها، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و همچنین برآورد پارامترهای ژنتیکی شامل درصد لوکوس های چندشکل (PPL)، شاخص شانون (I)، هتروزیگوسی (He)، تعداد آلل های مشاهده شده (Na) و تعداد آلل های مؤثر (Ne) با استفاده

¹ Polymorphism information content

² Resolving power

³ Marker index

Rp نیز می‌تواند در تعیین کارایی یک سیستم نشانگری مفید واقع شود، زیرا این شاخص‌ها هر یک به نحوی به قابلیت یک آغازگر در نشان دادن قطعات چندشکل و قدرت تفکیک آنها اشاره دارند (Prevost & Wilkinson 1999; Powell et al. 1996; Anderson et al. 1993). با توجه به حداکثر مقدار شاخص محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) برای نشانگرهای غالب (۰/۵۰) این نتایج نشان داد که آغازگرهای مورد استفاده از کارایی بسیار خوبی در تفکیک ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برخوردار بوده‌اند و برای سایر مطالعات تنوع ژنتیکی قابل توصیه هستند.

کارایی نشانگرهای ISSR در مطالعات تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف گندم مانند گندم دوروم (Shaygan et al. 2021; Heidari et al. 2017; Etminan et al. 2016)، گونه‌های مختلف *Aegilops* (Thomas and Bebeli 2010)، گونه‌های دیپلوئید وحشی گندم (Pour-Aboughadareh et al., 2017)، اکسشن‌های مختلف *Ae. triuncialis* (Khodae et al. 2021)، گونه‌های آزیلوپس واجد ژنوم D (Moradkhani et al. 2015)، اکسشن‌های مختلف *Aegilops tauschii* (Nouri et al. 2021) گزارش شده است.

جدول ۲- توالی و شاخص‌های برآورد شده آغازگرهای ISSR مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی اکسشن‌های *T. urartu* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران

ردیف	آغازگر	توالی آغازگر	TAB	NPB	PIC	MI	Rp
1	ISSR -01	DBDACACACACACACA	۱۱	۱۱	۰/۴۷	۵/۱۸	۳/۳۷
2	ISSR -03	GACAGACAGACAGACA	۱۰	۱۰	۰/۴۶	۴/۶۴	۷/۳۲
3	ISSR -04	AGAGAGAGAGAGAGYT	۹	۹	۰/۴۳	۳/۸۶	۵/۶۲
4	ISSR -05	ACACACACACACACC	۱۱	۱۱	۰/۴۴	۴/۸۷	۷/۲۹
5	ISSR -06	GAGAGAGAGAGAGARC	۱۲	۱۲	۰/۴۳	۵/۲۲	۷/۶۹
6	ISSR -07	CTCTCTCTCTCTCTG	۱۱	۱۱	۰/۴۵	۵/۰۶	۷/۸۸
7	ISSR -09	CACACACACACACAG	۸	۸	۰/۴۳	۳/۴۹	۵/۱۵
8	ISSR -11	ACACACACACACACYA	۹	۹	۰/۴۰	۳/۶۶	۵/۱۳
9	ISSR -12	GTGTGTGTGTGTGTGTYG	۹	۹	۰/۴۶	۴/۱۹	۶/۶۳
10	ISSR -13	GAGAGAGAGAGAGAYC	۱۰	۱۰	۰/۴۵	۴/۲۰	۷/۰۵
11	ISSR -14	AGAGAGAGAGAGAGT	۱۱	۱۱	۰/۴۷	۵/۱۲	۸/۱۱
12	ISSR -15	ACACACACACACACYG	۷	۷	۰/۳۷	۲/۶۳	۳/۵۰
13	ISSR -23	CTCTCTCTCTCTCTRC	۹	۹	۰/۴۲	۳/۸۲	۵/۵۱
14	ISSR -25	CACACACACACACARG	۱۵	۱۵	۰/۴۴	۶/۶۷	۱۰/۰۲
15	ISSR -27	TGTGTGTGTGTGTGRC	۱۱	۱۱	۰/۴۵	۴/۹۳	۷/۴۶
16	ISSR -28	TCTCTCTCTCTCTCG	۱۱	۱۱	۰/۴۵	۵/۰۱	۷/۷۰
میانگین			۱۰/۲۵	۱۰/۲۵	۰/۴۴	۴/۵۳	۶/۵۸

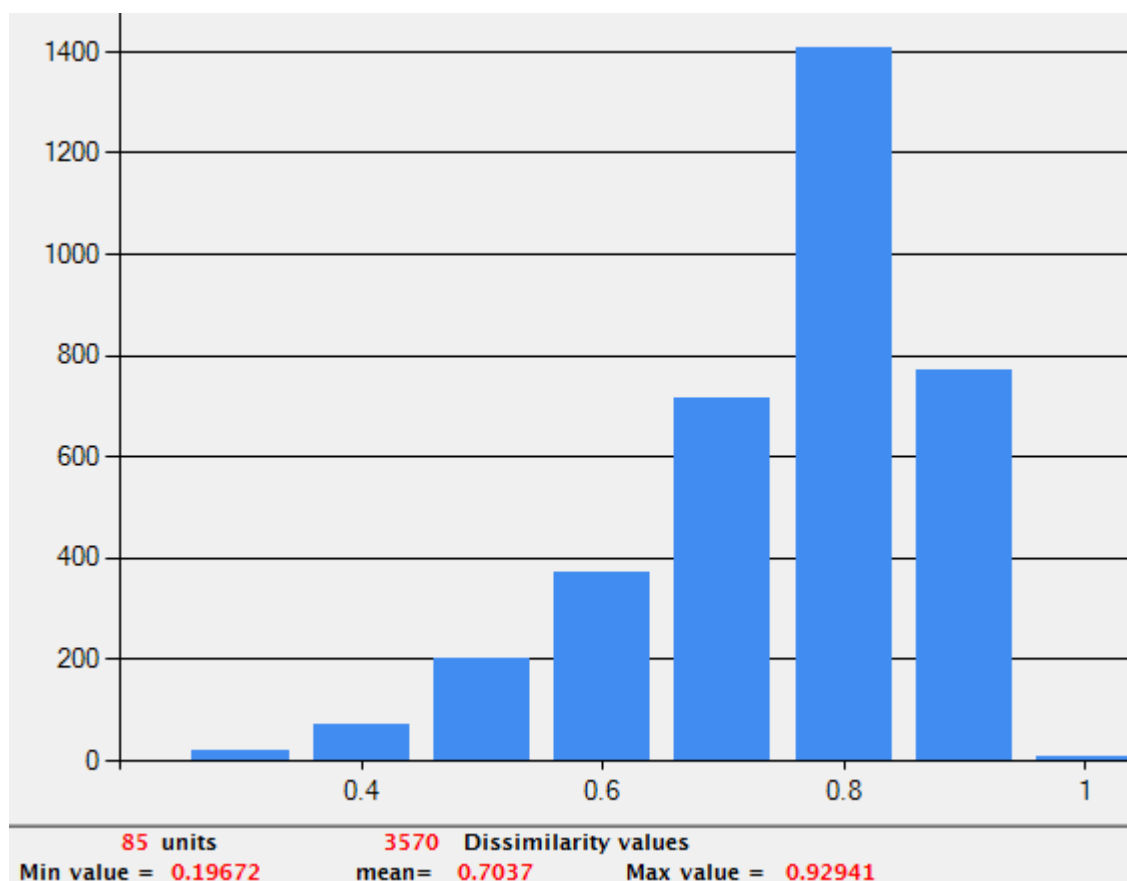
TAB, NPB, PIC, MI و Rp به ترتیب بیانگر تعداد کل باند تکثیر شده، تعداد باند چندشکل، محتوای اطلاعات چندشکل، شاخص نشانگر و قدرت تفکیک می‌باشند.

مقادیر حاصل از محاسبه میزان فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف بیانگر وجود تنوع بالایی در مواد ژنتیکی مورد مطالعه بود. برآورد فواصل ژنتیکی بین جفت نمونه‌ها بر اساس ضریب عدم

تشابه جاکارد نشان داد میزان فواصل ژنتیکی با میانگین ۰/۷۰ در دامنه ۰/۱۹ تا ۰/۹۲ بین ژنوتیپ‌های ارزیابی شده متغیر بود. بر اساس این داده‌ها، بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۹۲) بین اکسشن

مقابل این نتایج، در بررسی تنوع ژنتیکی در اکسشن های مختلف *T. urartu* با استفاده از نشانگرهای RFLP و RAPD میزان تنوع در این گونه پایین گزارش شده است (Vierling and Nguyen 1992; Dhaliwal et al. 1993; Castagna et al. 1997). این تناقض علاوه بر اینکه طبیعتا به ماهیت مواد ژنتیکی مورد بررسی مربوط می باشد به عوامل دیگری مانند اندازه جمعیت مورد بررسی، نوع نشانگر و پوشش ژنومی آن و همچنین گستردگی محل جغرافیایی نمونه برداری مرتبط است. توزیع فراوانی فواصل ژنتیکی برآورد شده بر اساس ضریب جاکارد در شکل ۱ نشان داده شده است.

شماره ۶۱ (از منطقه بیستون) با دو اکسشن شماره ۴۴ و ۴۳ (هر دو از منطقه فرخ شهر) مشاهده شد. در مطالعه دیگری که به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی در چند گونه آریلوپس از خویشاوندان وحشی گندم شامل *Ae. cylindrica*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltooides* و *Ae. crassa* با استفاده از نشانگرهای ISSR انجام شد نیز سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در داخل هریک از گونه ها گزارش شد (Moradkhani et al. 2015). همچنین در تحقیق دیگری که در آن با استفاده از نشانگرهای SSR تنوع ژنتیکی در یک مجموعه بزرگ از اکسشن های مختلف *T. urartu* که عمدتا از کشورهای واقع در ناحیه هلال حاصلخیز جمع آوری شده بودند مورد بررسی قرار گرفت، سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در مجموعه مورد مطالعه شناسایی شد (Wang et al. 2017).



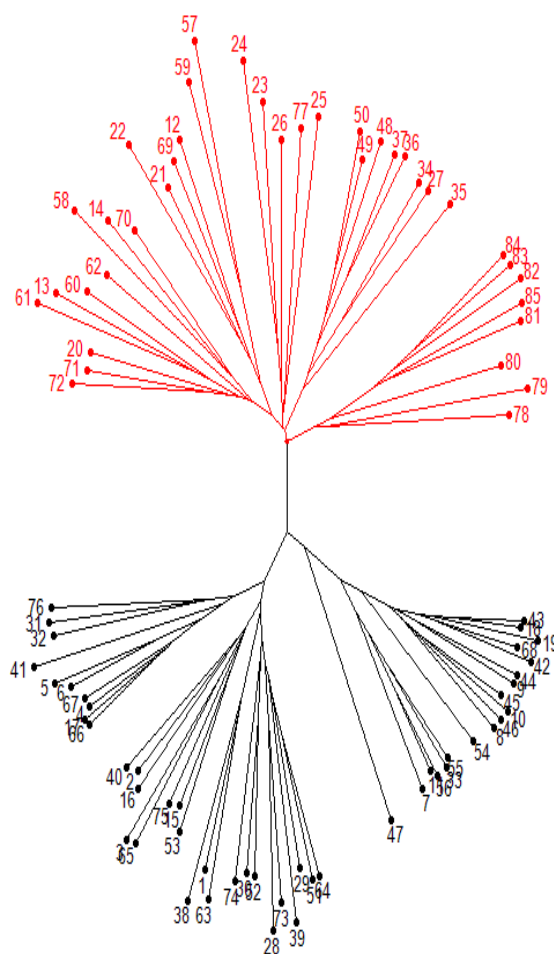
شکل ۱- توزیع فراوانی فواصل ژنتیکی برآورد شده بین افراد بر اساس ضریب عدم تشابه جاکارد در مطالعه تنوع ژنتیکی اکسشن های مختلف *T. urartu* با استفاده از نشانگرهای ISSR

دسته بندی، اکسشن های مربوط به مناطق جغرافیایی مشابه تا حدودی با یکدیگر دسته بندی شدند اگر چه در مواردی نیز اختلاط اکسشن ها و عدم مطابقت بین گروه بندی بر اساس تنوع

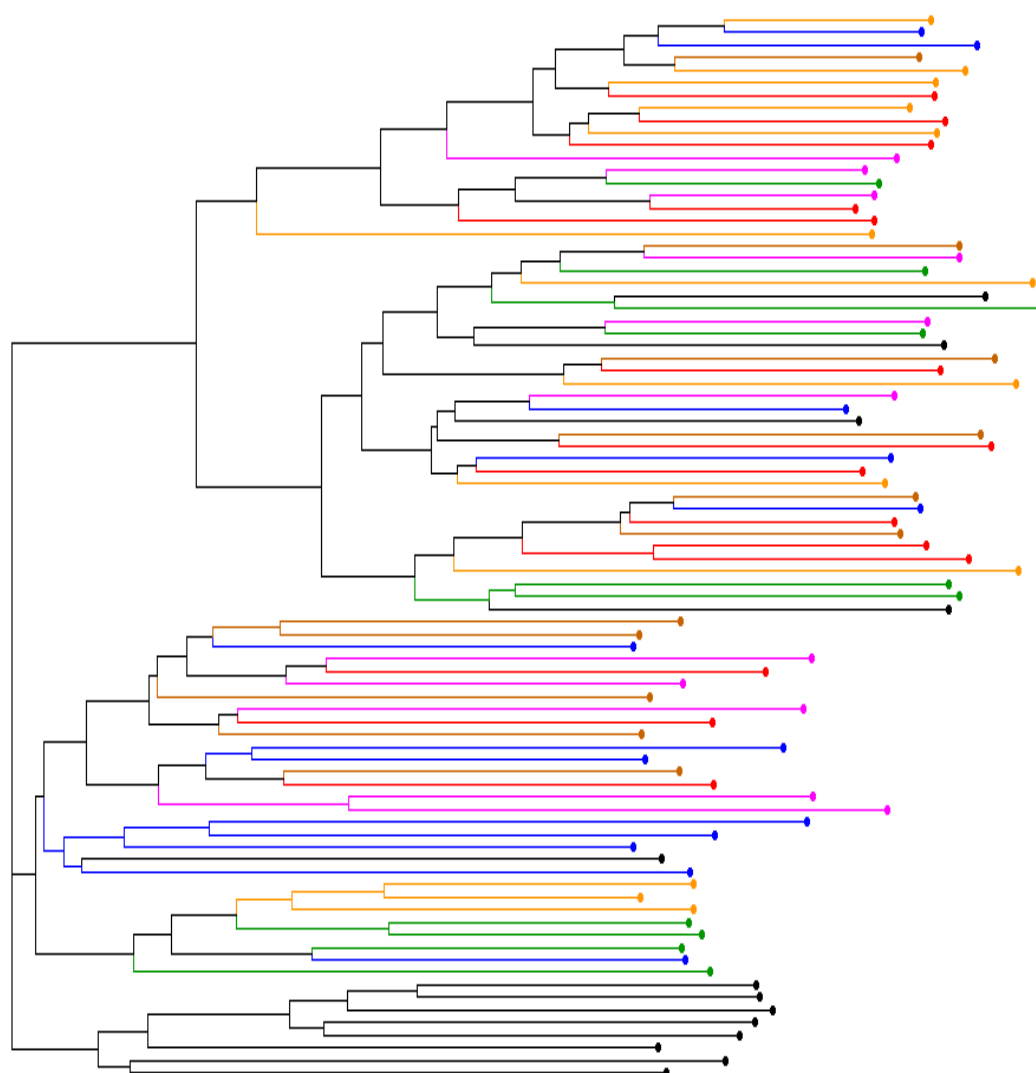
تجزیه کلاستر بر اساس الگوریتم neighbor joining و ماتریس فاصله جاکارد حاصل از داده های ISSR، اکسشن های مورد مطالعه را در دو گروه اصلی دسته بندی کرد (شکل ۲). در این

آن‌ها نشان داد (Brunazzi et al. 2018). در گزارش‌های دیگری نیز عدم تشابه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مولکولی یا مورفولوژیک با پراکنش جغرافیائی آنها عنوان شده است (Pezhmanmehr et al. 2009; Bradeen et al. 2002; Solouki et al. 2008). این موضوع می‌تواند در نتیجه زمینه ژنتیکی منحصر به فرد مواد ژنتیکی، جابجائی ژرم پلاسما، پراکنش وسیع در محدوده جغرافیایی و همچنین عدم پوشش ژنومی لازم به دلیل مکانیسم نشانگر مورد استفاده یا تعداد ناکافی آغازگرها باشد. به منظور نمایش بهتر گروه‌بندی اکسشن‌های مناطق جغرافیایی مختلف، نمونه‌های مربوط به هر منطقه جغرافیایی با رنگ متمایز از سایرین در دندروگرام شکل ۳ نشان داده شده‌اند.

مولکولی با پراکنش جغرافیایی مشاهده شد. بنابراین نمی‌توان گروه‌بندی اکسشن‌های مورد مطالعه را بر اساس داده‌های مولکولی در انطباق کامل با پراکنش جغرافیایی و محل جمع‌آوری آن‌ها عنوان نمود. در بررسی تنوع ژنتیکی در اکسشن‌های مختلف *T. urartu* جمع‌آوری شده از مناطق مختلفی از ناحیه هلال حاصلخیز با استفاده از نشانگرهای SNP کلیه اکسشن‌ها در سه گروه از یکدیگر تفکیک شدند به طوری که در این گروه‌بندی اکسشن‌های ناحیه شرقی هلال حاصلخیز با یکدیگر در یک گروه قرار گرفتند و اکسشن‌های جمع‌آوری شده از کشورهای اردن و لبنان نیز در یک کلاستر قرار گرفتند. این گروه‌بندی تا حدود زیادی تنوع مولکولی اکسشن‌ها را منطبق بر فاصله جغرافیایی



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر به روش neighbor joining بر اساس داده‌های ISSR در مطالعه تنوع ژنتیکی ۸۵ اکسشن مختلف *T. urartu*



شکل ۳- نمایش اکسشن‌های مربوط به هر منطقه جغرافیایی با رنگ متمایز از سایر مناطق در دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ۸۵ اکسشن مختلف *T. urartu* جمع‌آوری شده از ۷ منطقه جغرافیایی با استفاده از ضریب فاصله جاکارد و الگوریتم NJ بر اساس داده‌های ISSR

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 موثر باشد. این موضوع در مورد خویشاوندان وحشی گندم مانند *T. urartu* اهمیت دوچندانی دارد چرا که مطالعات انجام شده بر روی این گونه وحشی تنوع قابل‌توجهی را در این گونه از نظر آلل‌های گلوٲنین نشان داده است (Cuesta et

نتایج تجزیه واریانس مولکولی که باهدف تفکیک واریانس مولکولی بین اکسشن‌ها به دو بخش درون و بین جمعیتی انجام شد نشان داد که ۹۶ درصد از واریانس کل مربوط به جزء درون گروهی بوده و تنها ۴ درصد از تنوع کل توسط تنوع بین جمعیت‌ها تبیین می‌شود (شکل ۴). غالب بودن بخش درون جمعیتی واریانس بر جزء بین جمعیتی در تجزیه واریانس مولکولی داده‌های تحقیقات دیگر نیز فراوان دیده شده است (Etminan et al. 2019; Heydari et al. 2017; Gholamian et al. 2019). بیشتر بودن واریانس بین گونه‌ای می‌تواند مؤید این باشد که جمعیت‌های مختلف مورد بررسی دارای بیشترین میزان تفرق از

فاصله کمترین و بیشترین مقدار این شاخص تنها برابر با ۰/۰۳ و بین جمعیت بیستون (۰/۲۴) با جمعیت‌های باشماق، کردند و مریوان (۰/۲۷) است.

نتایج مربوط به برآورد پارامترهای ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی شامل تعداد آلل شناسایی شده (Na) تعداد آلل موثر (Ne)، شاخص تنوع نی (He)، شاخص شانون (I) و درصد لوکوس‌های چندشکل (%P) به تفکیک هر جمعیت در جدول ۳ ارائه شده است.

همانگونه که در این جدول ملاحظه می‌شود تفاوت چندانی بین بیشترین و کمترین مقادیر پارامترهای برآورد شده در بین جمعیت‌های مورد بررسی وجود ندارد. به عنوان مثال تعداد آلل‌های موثر در ۷ جمعیت مورد مطالعه در دامنه ۱/۳۹ (برای جمعیت بیستون) تا ۱/۴۴ (برای جمعیت‌های کردند و مریوان) تغییر می‌کند.

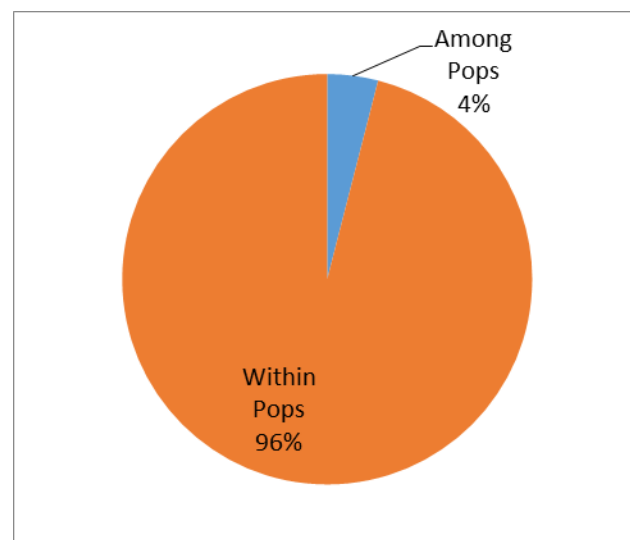
همچنین کمترین و بیشترین میزان شاخص شانون به ترتیب ۰/۳۸ و ۰/۴۲ می‌باشد. با توجه به اندازه نسبتاً برابر جمعیت‌ها این طور به نظر می‌رسد که جمعیت‌ها از نظر میزان تنوع ژنتیکی وضعیت مشابهی دارند؛ کما اینکه برآورد مقدار شاخص تنوع نی (He) نیز گویای همین موضوع می‌باشد؛ همانطور که در ستون مربوط به این شاخص در جدول ۳ مشاهده می‌شود فاصله کمترین و بیشترین مقدار این شاخص تنها برابر با ۰/۰۳ و بین جمعیت بیستون (۰/۲۴) با جمعیت‌های باشماق، کردند و مریوان (۰/۲۷) است.

الگوی توزیع باندها در ۷ جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق در شکل ۷ ارائه شده است. همه باندهای تکثیر شده در جمعیت‌های مورد بررسی دارای فراوانی بیشتر از ۵ درصد بودند. باندهای اختصاصی تنها در جمعیت باشماق (یک باند اختصاصی) مشاهده شد و سایر جمعیت‌ها فاقد باند اختصاصی بودند.

باندهای اختصاصی در یک جمعیت بیانگر زمینه ژنتیکی خاص و منحصربه‌فرد آن جمعیت است و بنابراین به نظر می‌رسد که جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس داده‌های حاصل به صورت خیلی مشخصی قابل تمایز از یکدیگر نیستند. این موضوع در دسته‌بندی اکسشن‌ها بر اساس تجزیه کلاستر نیز مشهود بود.

به منظور یافتن زیرجمعیت‌های واقعی در مجموعه مورد مطالعه تجزیه ساختار جمعیت انجام شد که نتیجه آن در شکل ۶ نشان

al., 2015) که این موضوع می‌تواند در اصلاح کیفی گندم‌های زراعی بسیار مفید و امیدبخش باشد. به‌ویژه اینکه در نتایج تحقیقات گذشته گزارش شده که تنوع مولکولی در جمعیت‌های *T. urartu* با صفات زراعی و کیفیت دارای همبستگی می‌باشد (Wang et al. 2017).

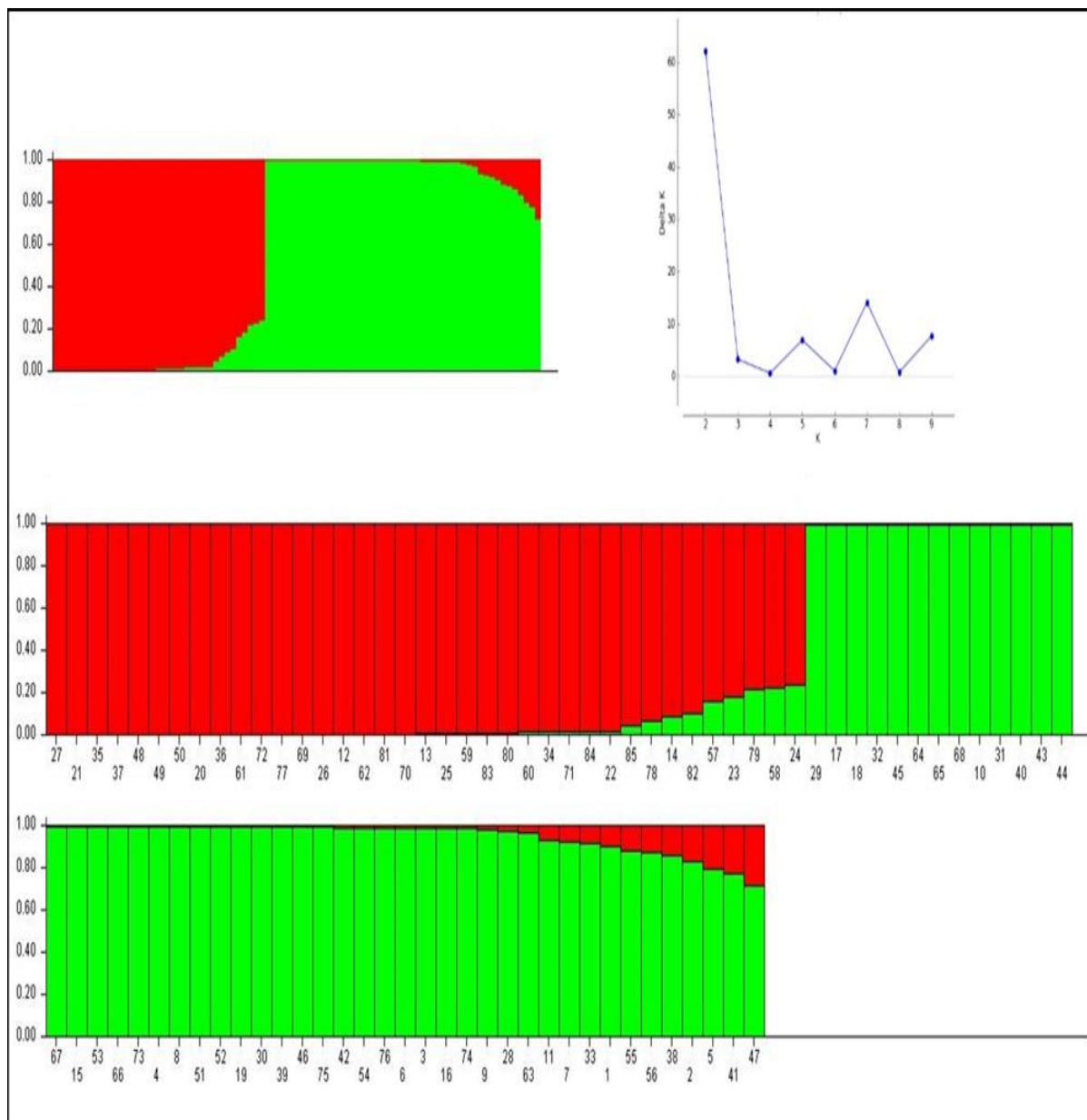


شکل ۴- نمودار دایره‌ای توزیع واریانس ژنتیکی بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی داده‌های ISSR در مطالعه تنوع ژنتیکی ۸۵ اکسشن مختلف *T. urartu* جمع آوری شده از ۷ منطقه مختلف

نتایج مربوط به برآورد پارامترهای ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی شامل تعداد آلل شناسایی شده (Na) تعداد آلل موثر (Ne)، شاخص تنوع نی (He)، شاخص شانون (I) و درصد لوکوس‌های چندشکل (%P) به تفکیک هر جمعیت در جدول ۳ ارائه شده است. همانگونه که در این جدول ملاحظه می‌شود تفاوت چندانی بین بیشترین و کمترین مقادیر پارامترهای برآورد شده در بین جمعیت‌های مورد بررسی وجود ندارد. به عنوان مثال تعداد آلل‌های موثر در ۷ جمعیت مورد مطالعه در دامنه ۱/۳۹ (برای جمعیت بیستون) تا ۱/۴۴ (برای جمعیت‌های کردند و مریوان) تغییر می‌کند. همچنین کمترین و بیشترین میزان شاخص شانون به ترتیب ۰/۳۸ و ۰/۴۲ می‌باشد. با توجه به اندازه نسبتاً برابر جمعیت‌ها این طور به نظر می‌رسد که جمعیت‌ها از نظر میزان تنوع ژنتیکی وضعیت مشابهی دارند؛ کما اینکه برآورد مقدار شاخص تنوع نی (He) نیز گویای همین موضوع می‌باشد؛ همانطور که در ستون مربوط به این شاخص در جدول ۳ مشاهده می‌شود

T. urartu مربوط به ۷ منطقه جغرافیایی مختلف وجود داشت
($K=2$).

داده شده است. نتایج به دست آمده از این تجزیه نشان داد در
بهترین شرایط ممکن تعداد ۲ زیر جمعیت واقعی در ۸۵ اکسشن



شکل ۶- تجزیه ساختار جمعیت تعیین شده بر استفاده از آغازگرهای ISSR بر اساس مدل Bayesian. دو زیر جمعیت احتمالی یافت شده با رنگ سبز و قرمز مشخص شده‌اند.

نتیجه گیری کلی

سهم بسیار بیشتری را به خود اختصاص داد که بیانگر
اختلاف‌های زیاد ژنتیکی افراد درون جمعیت‌هاست و این تنوع
می‌تواند در یافتن آلل‌های گوناگون و به‌کارگیری آنها در تولید
ارقام اصلاحی جدید موثر واقع شود.
برآورد تنوع ژنتیکی و پارامترهای تنوع محاسبه شده در ۸۵
اکسشن جمع آوری شده از مناطق مختلف بر اساس داده های

نتایج این بررسی میزان قابل توجهی از تنوع ژنتیکی را در گونه
مورد بررسی نشان داد. مقایسه میزان پارامترهای ژنتیکی برآورد
شده در جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که این جمعیت‌ها
تقریباً از سطح تنوع یکسانی برخوردار هستند. بر اساس نتایج
تجزیه واریانس ملکولی جزء درون گروهی واریانس با فاصله زیاد

اقدامات حفاظتی از این منبع مهم ژنتیکی که از پتانسیل بالقوه بسیار بالایی در به‌نژادی گندم برخوردار است، و همچنین بهره‌گیری از ظرفیت ژن‌های موجود در این ژرم پلاسما ارزشمند برای اصلاح ویژگی‌های ارقام زراعی توصیه می‌شود.

ISSR نشان داد که این نشانگر می‌تواند در تجزیه تنوع ژنتیکی موجود در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی سودمند باشد و آغازگرهای مورد استفاده برای تحقیقات آتی قابل توصیه می‌باشند. همچنین با توجه به اهمیت گونه *T. urartu* به‌عنوان منبعی ارزشمند از ژن‌های موثر در بهبود عملکرد و مقاومت به تنش‌های زنده، انجام

منابع

- Al-Maamari IT, Mumtaz Khan M, Al-Sadi AM, Iqbal Q, Al-Saady N (2020) Morphological characterization and genetic diversity of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) accessions in Oman Bulgarian Journal of Agricultural Science 26: 375–383.
- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE, Tanksley SD, Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36:181–186.
- Austin RB, Morgan CL, Ford MA (1986) Dry matter yields and photosynthetic rates of diploid and hexaploid triticum species. *Ann. Bot.* 57 847–857.
- Baum BR, Bailey LG (2013) Genetic diversity in the red wild einkorn: *T. urartu* gandilyan (Poaceae: Triticeae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:77–87.
- Bradeen JM, Bach IC, Briard M, Le CV, Grzebelus D, Senalik DA, Simon PW (2002) Molecular diversity analysis of cultivated carrot (*Daucus carota* L.) and wild *Daucus* populations reveals a genetically nonstructured composition. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127: 383–391.
- Brunazzi A, Scaglione D, Fiorella Talini R, Miculan M, Magni F, Poland J, Enrico Pe M, Brandolini A, Dell'Acqua M (2018) Molecular diversity and landscape genomics of the crop wild relative *Triticum urartu* across the Fertile Crescent. *The Plant Journal* 94: 670–684.
- Castagna R, Gnocchi S, Perenzin M, Heun M (1997) Genetic variability of the wild diploid wheat *Triticum urartu* revealed by RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 94:424–30.
- Cuesta S, Guzman C, Alvarez JB (2015) Molecular characterization of novel LMW-i glutenin subunit genes from *Triticum urartu* Thum. Ex Gandil. *Theoretical and Applied Genetics* 128 2155–2165.
- Dhaliwal HS, Sidhu JS, Minocha JL (1993) Genetic diversity in diploid and hexaploid wheats as revealed by RAPD markers. *Journal of Crop Improvement* 20:17–20.
- Doyle JJ and Doyle KJ (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11–15.
- Dvorak J, Terlizzi P, Zhang HB, Resta P (1993) The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. *Genome* 36, 21–31.
- Earl DA, vonHoldt BM (2012) Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4:359–361.
- Etminan A, Pour -Aboughadareh A, Mohammadi R, Ahmadi -Rad A, Noori A, Mahdavian Z, Moradi Z (2016) Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter - simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 30:1075 - 1081
- 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.
- Fita A, Rodriguez -Burruezo A, Boscaiu M, Prohens J, Vicente O (2015) Breeding and domesticating crops adapted to drought and salinity: a new paradigm for increasing food production. *Frontiers in Plant Science* 6:978.
- 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.
- Guzmán C, Alvarez JB (2012) Molecular characterization of a novel waxy allele (Wx-Au1a) from *Triticum urartu* Thum. Ex Gandil. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(6):971–9.

- Heidari P, Etminan A, Azizinezhad R, Khosroshahli M (2017) Genomic variation studies in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum) using CDBP, SCoT and ISSR markers. Indian Journal of Genetics and Plant breeding, 77: 379-386.
- King J, Grewal S, Yang CY, Hubbart S, Scholefield D, Ashling S, Edwards KJ, Allen AM, Burridge A, Bloor C, Davassi A, da Silva GJ, Chalmers K, King IP (2017) A step change in the transfer of interspecific variation into wheat from *Amblyopyrum muticum*. Plant Biotechnol Journal 15, 217–226.
- Khodaei L, Azizinezhad R, Etminan A, Khosroshahi M (2021) Assessment of genetic diversity among Iranian *Aegilops triuncialis* accessions using ISSR, SCoT, and CDBP markers. Journal of Genetic Engineering and Biochemistry 19: 5.
- Lipper L, Thornton P, Campbell BM, Baedeker T, Braimoh A, Bwalya M, Caron P, Cattaneo A, Garrity D, Henry K, Hottle R, Jackson L, Jarvis A, Kossam F, Mann W, McCarthy N, Meybeck A, Neufeldt H, Remington T, Thi Sen P, Sessa R, Shula R, Austin Tibu A, Torquebiau EF (2014) Climate-smart agriculture for food security. Nature Climate Change 4: 1068-1072.
- Moghaddam M, Ehdaie B, Waines JG (2000) Genetic diversity in populations of wild diploid wheat *Triticum urartu* tum. Ex. gandil. Revealed by isozyme markers. Genetic Resources and Crop Evolution 47:323-34.
- 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 71:82 -95.
- Moradkhani H, Pour-Aboughadareh A, Mehrabi AA, Etminan A, (2012) Evaluation of genetic relationships of *TriticumAegilops* species possessing D genome in different ploidy levels using microsatellites. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4: 1746-1751
- Mousavi Sabestari E, Etminan A, Khosroshahli M (2019) Assessment of genetic diversity in *Triticum boeoticum* populations using CDBP and ISSR molecular markers. Modern genetics Journal 14(2):163-170 (In Farsi)
- Nouri A, Golabadi M, Etminan A, Rezaei A, Mehrabi A (2021). Comparative assessment of SCoT and ISSR markers for analysis of genetic diversity and population structure in some *Aegilops tauschii* Coss. accessions. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, 19, 375-383.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6:288–295.
- Peng JH, Sun DF, Nevo E (2011) Domestication evolution, genetics and genomics in wheat. Molecular Breeding. 28:281-301.
- Perrier X, Jacquemoud-Collet J (2006) DARwin software at available at: <http://darwin.cirad.fr/>
- Pezhmanmehr M, Hassani ME, Jahansooz F, Najafi AA, Sefidkon F, Mardi M, Pirseiedi M (2009) Assessment of genetic diversity in some Iranian populations of *Bunium persicum* using RAPD and AFLP markers. Iranian Journal of Biotechnology 7:93-100.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M (2017) 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, Omid M, Etminan A, Mehrabi AA (2018) The importance of wild wheat germplasm in breeding for resistance to abiotic stresses. Modern Genetics Journal 12 (4): 489-504. (In Farsi).
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225–238.
- 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.
- Qiu YC, Zhou RH, Kong XY, Zhang SS, Jia JZ (2005) Microsatellite mapping of a *Triticum urartu* Tum. Derived powdery mildew resistance gene transferred to common wheat (*Triticum aestivum* L.). Theoretical and Applied Genetics 111:1524–31.
- Reif JC, Gowda M, Maurer HP, Longin CFH, Korzun V, Ebmeyer E, Bothe R, Pietsch C, Würschum T (2011) Association mapping for quality traits in soft winter wheat. Theoretical and Applied Genetics 122:961–70.
- Rouse MN, Jin Y (2011) Stem rust resistance in A-genome diploid relatives of wheat. Plant Disease 95: 941-944.
- 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).

Sheedy JG, Thompson JP, Kelly A (2012) Diploid and tetraploid progenitors of wheat are valuable sources of resistance to the root lesion nematode *Pratylenchus thornei*. *Euphytica* 186, 377–391.

Solouki M, Mehdikhani H, Zeinali H, Emamjomeh AA (2008) Study of genetic diversity in Chamomile (*Matricaria chamomilla*) based on morphological traits and molecular markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117: 281-287.

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 Evolution* 28:2731–2739.

Thomas KG, Bebeli PJ (2010) Genetic diversity of Greek *Aegilops* species using different types of nuclear genome markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56:951- 961.

Vierling RA, Nguyen HT (1992) Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid wheat genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 84:835–8.

Wang Xin, Luo G, Yang W, Li Y, Sun J, Zhan K, Liu D and Zhang A (2017) Genetic diversity, population structure and marker-trait associations for agronomic and grain traits in wild diploid wheat *Triticum urartu*. *BMC Plant Biology*, 17:112.

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

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