ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸
صفحه ۱۷۰ - ۱۶۳

ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Triticum boeoticum* با استفاده از نشانگرهای ملکولی CBDP و ISSR

Assessment of genetic diversity in *Triticum boeoticum* populations using CBDP and ISSR molecular markers

الهام موسوی شبستری[۱]، علیرضا اطمینان[*۲]، محمود خسروشاهلی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، واحدکرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

Moosavi Shabestari E[1], Etminan A[*2], Khosroshahli M[1]

1- MSc Student, Professor, Department of Plant breeding and Biotechnology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Plant breeding and Biotechnology, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a.etminan@iauksh.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۲۶)

چکیده

خویشاوندان وحشی منبع ژنتیکی ارزشمندی برای استفاده دربرنامه‌های به‌نژادی گندم محسوب می‌شوند. گونه *Triticum boeoticum* یکی از مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم می‌باشد که خاستگاه اولیه آن بخش‌های مرکزی و شرقی هلال حاصل‌خیز است. در این پژوهش، تنوع‌ژنتیکی بین ۳۹ توده مختلف جمع‌آوری شده از دو ناحیه شمالی و جنوبی رشته کوه‌های زاگرس با استفاده از نشانگرهای ISSR وCBDP مورد بررسی قرار گرفت. آغازگرهای ISSR و CBDP در مجموع به‌ترتیب ۲۳۰ و ٦٥ باند چند شکل قابل امتیازدهی ایجاد نمودند. میزان فاصله ژنتیکی برآورد شده بین جفت ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های ISSR و CBDP به‌ترتیب ۰/۳٦ و۰/٤۰ به‌دست آمد. شاخص محتوای اطلاعات چندشکل در دامنه ۰/۲٤ تا ۰/۳۸ برای آغازگرهای ISSR و ۰/۲۳ تا ۰/٤۳ برای آغازگرهای CBDP متغیر بود. تجزیه کلاستر داده‌های ترکیبی ISSR وCBDP به روش UPGMA توده‌های مورد بررسی را در دو گروه کلی طبقه‌بندی نمود که البته دو توده شماره ۳۵ و ۳۱ به‌صورت جداگانه دسته‌بندی شدند. این گروه‌بندی توسط تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) مورد تایید قرار گرفت و با موقعیت جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌ها تا اندازه‌ای مطابقت داشت. نتایج تجزیه واریانس ملکولی (AMOVA) نشان داد که ۹٤ درصد از تنوع برآورد شده مربوط به درون جمعیت‌ها و ٦ درصد آن مربوط به بین جمعیت‌ها می‌باشد. برآورد تعداد الل (Na)، الل مؤثر (Ne)، شاخص شانون (I) و میزان هتروزیگوسیتی (H) نشان داد که جمعیت زاگرس شمالی در مقایسه با زاگرس جنوبی از میزان تنوع ژنتیکی بیش‌تری برخوردار می‌باشد. نتایج این تحقیق بیانگرتنوع قابل ملاحظه‌ای برای گونه *T. boeoticum* در نواحی زاگرس بود و نشان داد که نشانگرهای CBDP همانند نشانگرهای ISSR ابزار مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در خویشاوندان وحشی گندم می‌باشند.

واژه‌های کلیدی

گندم

خویشاوندان وحشی

تنوع ژنتیکی

ISSR

CBDP

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

مقدمه

پراکنش خویشاوندان وحشی گندم در دنیا به‌طور عمده محدود به تعدادی از کشورهای واقع در حوزه هلال حاصل‌خیز می‌باشد. کشور ایران نیز به‌عنوان یکی از رویشگاه‌های اصلی خویشاوندان وحشی گندم، یکی از غنی‌ترین مراکز تنوع ذخایر توارثی این ژرم پلاسم در جهان به حساب می‌آید (Weide et al. 2013). از مهم‌ترین منابع تنوع ژنتیکی قابل دسترس می‌توان توده‌های وحشی و نژادهای بومی را برشمرد. گونه‌های خویشاوند و اجداد وحشی گندم به‌دلیل دارا بودن ژن‌های مفید برای ایجاد لاین‌های مقاوم به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و گسترش سازگاری ژنتیکی در برابر تغییرات محیطی حایز اهمیت هستند و از سوی دیگر، منبع ژنتیکی مهمی برای بهبود صفات مختلف زراعی، عملکرد و میزان پروتئین‌های مؤثر در کیفیت دانه محسوب می‌شوند. از این‌رو، این ژرم پلاسم به‌عنوان یک منبع ژنتیکی غنی جهت یافتن ژن‌ها و آلل‌های مفید برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم مورد توجه به‌نژادگران قرار گرفته‌اند (Schneider et al. 2008 ; Nevo et al. 1998; Pour-Aboughadareh et al. 2017a). تنوع ژنتیکی عامل پایداری اکوسیستم‌ها و جمعیت‌ها در مقابل تغییرشرایط زیست محیطی به‌ویژه تغییرات آب و هوایی است. آگاهی از ماهیت و میزان تنوع موجود در ژرم‌پلاسم جهت به کار بردن این منابع، مهم می‌باشد. هم‌چنین، بررسی تنوع ژنتیکی از لحاظ کمک به مدیریت مؤثر و حفاظت از منابع ژرم‌پلاسمی از اهمیت بالایی برخوردار است (Pradeep et al. 2002). دو جنس تریتیکوم و آژیلوپس واجد گونه‌های فراوانی هستند که مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند، به‌طوری که بعضی از این گونه‌ها به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم به‌عنوان والد بخشنده ژنوم A، B و D معرفی شده‌اند (Weide et al. 2013; Kilian et al. 2007; Pour-Aboughadareh et al. 2018a). بررسی تنوع ژنتیکی امکان شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی مهم و مورد نظر را برای به‌نژادگران فراهم می‌سازد و مطالعه الگوپذیری تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی و اقلیمی توده‌ها نشان‌دهنده سازگاری احتمالی آن‌ها با محیط‌های متفاوت می‌باشد (Mohammadi and Prasanna 2003). نشانگرهای مولکولی ابزار قدرتمندی برای مطالعه و تخمین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی و مطالعه روابط بین گونه‌ای فراهم آورده‌اند. نشانگرهای بین‌ریزماهواره[1] (ISSR) نشانگرهای مولکولی نیمه تصادفی‌ای هستند که از دهه ۹۰ میلادی تا کنون مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این سیستم نشانگری، تکثیر در حضور یک آغازگر مکمل با توالی‌های میکروساتلایت هدف انجام می‌پذیرد. در واقع، قطعات تکثیر شده، توالی‌هایی از ژنوم هستند که بین دو قطعه‌ی متوالی و معکوس از توالی‌های تکراری میکروساتلایت قرار گرفته‌اند (Zietkiewicz et al. 1994). با آغاز روند عبور از نشانگرهای DNA تصادفی به سمت نشانگرهای اختصاصی و هدفمند ژنی، سیستم‌های نشانگر جدیدی موسوم به چند شکلی DNA حفاظت شده CBDP[2] توسعه یافتند که مبتنی بر مناطق محافظت شده نواحی پروموتری ژن‌ها هستند. طول آغازگرهای CBDP به‌طور معمول ۱۸ نوکلئوتیدی بوده و هر آغازگر از سه بخش تشکیل شده‌است: بخش نخست شامل یک توالی ۱۰ تا ۱۱ نوکلئوتیدی است که در انتهای ۵ (پیش از توالی حفاظت شده CCAAT) قرار می‌گیرد. بخش دوم توالی CCAAT به‌عنوان هسته‌ی اصلی و ثابت تمامی آغازگرهاست و بخش سوم شامل دو تا سه نوکلئوتید انتخابی در انتهای ۳ آغازگر می‌باشد که مسئول ایجاد پلی‌مورفیسم بر اساس جفت‌شدن با نوکلئوتیدهـایی در ژنوم‌هـای مختلف است. (Singh et al. 2014). کاربرد موفقیت آمیز نشانگرهای CBDP در ارزیابی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم گندم دوروم (Etminan et al. 2018) و خویشاوندان وحشی گندم (Etminan et al. 2019) گزارش شده‌است.

در پژوهش‌های انجام‌گرفته با به کار بردن نشانگرهای مولکولی مختلف سطح قابل ملاحظه‌ای از میزان تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف گندم زراعی و خویشاوندان وحشی آن از جمله *T. boeoticum* نشان داده شده‌است (Pour-Aboughadareh et al. 2017a; Pour-Aboughadareh et al. 2017b; Etminan et al. 2017 ; Moradkhani et al. 2015; Zamanianfard et al. 2015).

در ارزیابی تنوع ژنتیکی در توده‌های *T. boeoticum* نمونه‌برداری شده از بخش‌های غربی ایران که با استفاده از نشانگرهای

[1] Inter Simple Sequence Repeats
[2] CAAT box- derived polymorphism

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

RAPD، AFLP و SSR انجام گرفت، مشخص شد که نشانگرهای SSR نسبت به دو سیستم نشانگری دیگر از میزان اطلاعات چندشکلی بالاتری برخوردار بوده و نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها بالاترین میزان تنوع ژنتیکی را در استان‌های کرمانشاه و لرستان نشان داد (Naghavi et al. 2009). مطالعه انجام گرفته بر روی توده‌های مختلف *Ae. tauschii* با استفاده از نشانگرهای SSR نیز حاکی از میزان بیشتر هتروزیگوسیتی و تنوع ژنتیکی در مناطق شمالی ایران نسبت به سایر نواحی می‌باشد (Naghavi et al. 2010). در بررسی میزان تنوع گونه‌های دیپلوئید گندم اینکورن جمع‌آوری شده از مناطق مختلف زاگرس با استفاده از نشانگرهای ISSR گزارش شده‌است که گونه‌های *T. boeoticum* و *T. monococcum* به‌ترتیب بیشترین (۹۰ درصد) و کم‌ترین (٦٨/٦٢ درصد) میزان چندشکلی را دارا می‌باشند. علاوه بر این، از لحاظ تنوع منطقه‌ای نیز، توده‌های مناطق غربی (٨٦/٤٤ درصد) نسبت به مناطق جنوبی غربی (٧٤/٧٠ درصد) زاگرس چند شکلی بیشتری را نشان دادند (Mousavifard et al. 2015). در مطالعه دیگری، تنوع ژنتیکی بالایی در گونه *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای SSR گزارش شده‌است (Saeidi et al. 2006). هم‌چنین در بررسی تنوع ژنتیکی نژادهای بومی گندم در منطقه شمال غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR، درصد بالایی از چندشکلی گزارش شده و این نشانگرها به‌عنوان ابزار مناسبی در مطالعات تنوع ژنتیکی ارقام گندم معرفی شده‌اند (Sofalian et al. 2008). در مطالعات صورت گرفته بر روی ژرم پلاسم گندم با استفاده از نشانگرهای نوظهور نیز مشخص شده که نشانگرهای SCoT و CBDP در انگشت نگاری توده‌های گندم دارای عملکرد بهتری هستند به‌طوری که این نشانگرها می‌توانند برای سایر مطالعات ژنتیکی در گندم مورد استفاده قرار گیرند (Hamidi et al. 2014; Etminan et al. 2017 ; Etminan et al. 2019) در این بررسی، تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از منطقه کوهستانی زاگرس با استفاده از نشانگرهای مولکولی CBDP و ISSR مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۳۹ توده از گونه وحشی *Triticum boeoticum* بود که بذور آن‌ها از مناطق مختلف کشور با ثبت موقعیت جغرافیایی جمع‌آوری شد. بذرها در گلخانه و در سینی‌های مخصوص نشا در کوکوپیت کشت و پس از تولید گیاهچه، استخراج DNA ژنومی از بافت مزوفیل برگ‌های جوان صورت گرفت. استخراج DNA ژنومی از گیاهان بر اساس روش CTAB Doyle and Doyle (1987) انجام شد و کیفیت DNA استخراجی توسط الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸درصد مورد تایید قرار گرفت.

در این مطالعه، در مجموع از ۲۲ آغازگر شامل ۱۵ آغازگر ISSR و۷ آغازگرCBDP استفاده شد که تمامی آن‌ها باندهای چندشکل و قابل امتیازدهی ایجاد نمودند. مشخصات آغازگرها در جدول ۱ ارایه شده‌است. پس از بهینه‌سازی شرایط تکثیر برای آغازگرها، واکنش‌های PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۲ میکرولیتر آغازگر (با غلظت ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر)، ٦ میکرولیتر آب دیونیزه و ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (2x Master mix) انجام شد. کلیه واکنش‌های تکثیر دردستگاه ترموسایکلر (T-100) Biorad انجام شد به‌طوری‌که برای آغازگرهای CBDP شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤ دقیقه و سیکل حرارتی شامل ۳۵ چرخه که در آن مرحله واسرشته‌سازی به مدت یک دقیقه با دمای ٩٤ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال یک دقیقه با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و مرحله بسط آغازگر به مدت دو دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. در نهایت یک مرحله توسعه نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه جهت تکمیل فرآیند تکثیر انجام گرفت. چرخه حرارتی برای آغازگرهای ISSR نیز شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت ۵۰ ثانیه و با دمای بهینه سازی شده برای آغازگر مربوطه و مرحله توسعه ۹۰ ثانیه و با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

جدول ۱- توالی آغازگرهای ISSR و CBDP مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف *Triticum boeoticum* به‌همراه مقادیر مربوط به شاخص نشانگر (MI) و محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) برآورد شده برای آن‌ها

کدآغازگر	توالی	دمای اتصال (Annealing)	تعداد باند چندشکل	PIC میزان اطلاعات چندشکلی	MI شاخص نشانگر
ISSR-2	5'-TCGTCGTCGTCGTCGG-3'	۵۰	۱۸	۰/۳۰	۵/۴۰
ISSR-3	5'-TCGTCGTCGTCGTCGC-3'	۴۹	۱۴	۰/۳۲	۴/۴۸
ISSR-4	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGYT-3'	۴۵	۲۱	۰/۳۱	۶/۵۱
ISSR-7	5'- CTCTCTCTCTCTCTCTG-3'	۴۵	۱۲	۰/۲۶	۳/۱۲
ISSR-8	5'- GTGTGTGTGTGTGTGTC-3'	۴۵	۱۱	۰/۳۸	۴/۱۸
ISSR-9	5'- CACACACACACACACAG-3'	۴۵/۹	۱۵	۰/۳۰	۴/۵۰
ISSR-10	5'- AGAGAGAGAGAGAGAGC-3'	۴۷	۱۶	۰/۲۴	۳/۸۴
ISSR-11	5'- ACACACACACACACACYA-3'	۴۵	۲۲	۰/۳۳	۷/۲۶
ISSR-12	5'- GTGTGTGTGTGTGTGTYG-3'	۴۷/۵	۱۸	۰/۳۳	۵/۹۴
ISSR-13	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAYC-3'	۴۷/۵	۱۵	۰/۲۶	۳/۹۰
ISSR-15	5'- ACACACACACACACACYG-3'	۴۷/۵	۱۲	۰/۳۴	۴/۰۸
ISSR-812	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAA-3'	۴۷	۱۲	۰/۳۳	۳/۹۶
ISSR-826	5'-ACACACACACACACACC-3'	۴۹	۱۳	۰/۳۴	۴/۴۲
ISSR-880	5'-GGAGAGGAGAGGAGA-3'	۴۴	۱۲	۰/۳۷	۴/۴۴
ISSR-903	5'-BDBCACCACCACCACCAC3'	۵۵	۱۹	۰/۲۸	۵/۳۲
	میانگین		۱۵/۳۳	۰/۳۱	۴/۷۵
CBDP-1	5'- TGAGCACGATCCAAT AGC-3'	۵۰	۱۲	۰/۲۷	۳/۲۴
CBDP-3	5'- TGAGCACGATCCAAT ACC-3'	۵۰	۸	۰/۲۶	۲/۰۸
CBDP-4	5'- TGAGCACGATCCAAT AAG-3'	۵۰	۶	۰/۳۰	۱/۸۰
CBDP-5	5'- TGAGCACGATCCAAT CTA-3'	۵۰	۱۸	۰/۳۳	۵/۹۰
CBDP-6	5'- TGAGCACGATCCAAT CAG-3'	۵۰	۸	۰/۲۸	۲/۲۴
CBDP-11	5'- TGAGCACGATCCAAT TGC-3'	۵۰	۷	۰/۴۳	۳/۰۱
CBDP-15	5'- TGAGCACGATCCAATTGA-3'	۵۰	۶	۰/۲۳	۱/۳۸
	میانگین		۹/۲۸	۰/۳۰	۲/۸۱

(D) نمایانگر بازهای T،G،A،(B) نمایانگر بازهای T،G،C و (Y) نمایانگر بازهای T،C می‌باشد.

محصول PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با Safe View و سپس عکس‌برداری از آن‌ها انجام شد. پس از امتیازدهی قطعات تکثیری به‌صورت صفر و یک، محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) و شاخص نشانگر (MI) برای تمامی آغازگرهای مورد استفاده بر اساس روابط پیشنهاد شده توسط Powell et al. (1996) محاسبه شد. تجزیه خوشه‌ای به‌منظور گروه‌بندی نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار DARwin (Jacquemoud-Collet 2006) به‌روش UPGMA صورت گرفت و از نرم‌افزار GenAlEx (Peakall et al. 2006) برای تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول ۱ نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل باندهای حاصل از تکثیر قطعات ژنومی توسط ۱۵ آغازگر ISSR و ۷ آغازگر CBDP مورد استفاده در این پژوهش را نشان می‌دهد. آغازگرهای ISSR و CBDP به‌ترتیب ۲۳۰ و ۶۵ باند چند شکل و واضح تکثیر نمودند. تعداد باندهای چندشکل برای آغازگرهای CBDP بین ۶ تا ۱۸ و برای آغازگرهای ISSR بین ۱۱ تا ۲۲ متغیر بود. میانگین باندهای چندشکل برای آغازگرهای ISSR و CBDP نیز به‌ترتیب ۱۵/۳۳ و ۹/۲۸ برآورد شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان PIC در میان آغازگرهای ISSR، به‌ترتیب برای آغازگر ISSR-8 به‌میزان ۰/۳۸ و آغازگر ISSR10 به‌میزان ۰/۲۴ به‌دست آمد و میانگین این

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

شاخص برای تمام آغازگرهای ISSR برابر ۰/۳۱ به ثبت رسید. هم‌چنین متوسط شاخص MI برای آغازگرهای ISSR برابر ٤/۷۵ بود که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن، به‌ترتیب به آغازگر ISSR-11 به‌میزان ۷/۲٦ و آغازگر ISSR-7 به‌میزان ۳/۱۲ تعلق داشت. در میان آغازگرهای CBDP نیز بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار PIC، به‌ترتیب برای آغازگرهای CBDP-11 به‌میزان ۰/٤۳ و CBDP-15 به‌میزان ۰/۲۳ به ثبت رسید. هم‌چنین بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار MI در میان این آغازگرها به‌ترتیب متعلق به آغازگر CBDP-5 (به‌میزان ۵/۹) و آغازگر CBDP-15 (به‌میزان ۱/۳۸) بود. متوسط مقدار شاخص‌های PIC و MI برای آغازگرهای CBDP نیز به‌ترتیب معادل ۰/۳ و ۲/۸۱ بود. به‌طور کلی شاخص‌هایMI و PIC بیانگر احتمال تشخیص چندشکلی ایجاد شده توسط یک آغازگر بین دو فرد می‌باشند که به تعداد آل‌های قابل تشخیص و فراونی آن‌ها وابسته است و هرچه میزان این شاخص‌ها برای یک سیستم نشانگری یا یک آغازگر مشخص بیش‌تر باشد نشان‌دهنده قدرت تفکیک بالاتر آن نشانگر یا آغازگر خاص در ارزیابی مواد ژنتیکی می‌باشد. بر اساس متوسط مقادیر به‌دست آمده برای شاخص PIC در این تحقیق و با توجه به حداکثر مقدار این شاخص برای نشانگرهای بارز که برابر با ۰/۵ می‌باشد، مقادیر حاصل در تحقیق حاضر، حد قابل قبولی از قدرت تفکیک را برای نشانگرهای مورد استفاده نشان می‌دهد.

براساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) ٦ درصد از تغییرات کل مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها و ۹٤ درصد از تنوع مربوط به درون جمعیت‌ها بود که این موضوع می‌تواند بیانگر وجود الل‌های اختصاصی در هریک از جمعیت‌های مورد مطالعه باشد (جدول۲). باتوجه به ضریب فاصله Dice محاسبه شده برای تمامی توده‌ها براساس ترکیب داده‌های CBDP و ISSR میانگین فواصل ژنتیکی برآورد شده بین جفت توده‌ها برابر ۰/۳۷به‌دست آمد که در این میان، کم‌ترین فاصله (بیش‌ترین تشابه) مربوط به توده‌های شماره ۱ و ۲ (هردو از استان کرمانشاه) به‌میزان ۰/۱۲ و بیش‌ترین فاصله (کم‌ترین تشابه) بین توده شماره ۳۵ (از استان لرستان) با توده‌های شماره ۲۸ و ۳۸ (از استان کردستان) به‌میزان ۰/۷۱ مشاهده شد.

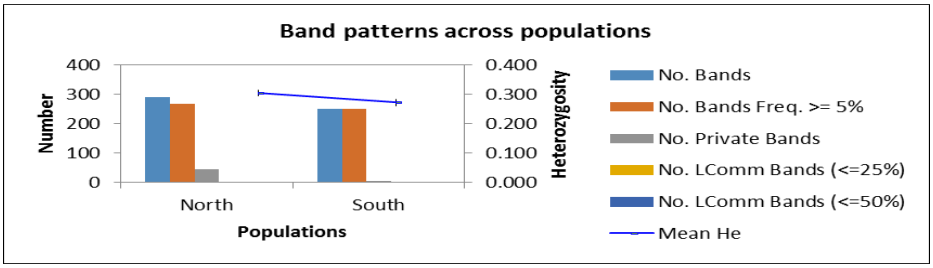
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (جدول ۲) نشان داد سهم بالایی از تنوع (۹٤ درصد) مربوط به‌جز درون جمعیتی بوده و تنها ٦ درصد از تنوع کل مربوط به‌جز بین جمعیتی می‌باشد. به‌عنوان یک دلیل احتمالی برای تنوع بین جمعیتی اندک، می‌توان به پدیده هم‌پوشانی ژنتیکی در نتیجه پدیده جریان ژنی اشاره نمود. در بررسی جمعیت‌های مختلف از گونه‌های زراعی و وحشی جنس تریتیکوم و آژیلوپس با استفاده از نشانگرهای SCoT نیز سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیتی گزارش شده‌است (Pour-Aboughadareh et al. 2017b; Pour-Aboughadareh et al. 2018b). سهم بالاتر تنوع درون جمعیتی درمطالعه انواع ژرم پلاسم‌ها به‌وسیله نشانگرهای مختلف DNA نظیر RAPD، SCoT، SSRو ISSR توسط سایر محققان گزارش شده‌است (Thomas et al. 2010; Etminan et al. 2016; Etminan et al. 2017).

با توجه به شکل ۱ که الگوی توزیع باندها در جمعیت‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد، ملاحظه می‌شود که تعداد باندهای تکثیر شده در توده‌های متعلق به ناحیه زاگرس شمالی در مقایسه با زاگرس جنوبی بیش‌تر بوده و از سوی دیگر، توده‌های مربوط به ناحیه زاگرس شمالی در مقایسه با زاگرس جنوبی واجد باندهای اختصاصی بیش‌تری نیز می‌باشند. وجود باندهای اختصاصی در جمعیت‌ها می‌تواند بیانگر وجود مواد ژنتیکی منحصر به‌فرد در مناطق مختلف باشد که این موضوع اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی در این گیاه را در سطح گسترده‌تری از مناطق اقلیمی ایران را آشکار ساخت (جدول۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس ملکولی (AMOVA) داده‌های ISSR و CBDP حاصل از بررسی جمعیت‌های *T. boeoticum*

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درصد واریانس تبیین شده
بین جمعیت‌ها	۱	۱۰۱/۲۳۲	۱۰۱/۲۳۲	٦
درون جمعیت‌ها	۳۷	۱٦۷۸/۰۵۰	٤۵/۳۵۳	۹٤

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]



شکل ۱- الگوی توزیع باندها در جمعیت‌های *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از نواحی شمالی و جنوبی زاگرس

جدول ۳- مقادیر برآورد شده در بررسی قطعات حاصل از تکثیر در جمعیت‌های *T. boeoticum* نواحی شمالی و جنوبی زاگرس با استفاده از آغازگرهای ISSR و CBDP

جمعیت	تعداد باند	تعداد باند اختصاصی	میزان هتروزیگوسیتی
نواحی شمالی	۲۸۹	٤٤	۰/۳۰
نواحی جنوبی	۲۵۱	٦	۰/۲۷

جدول ٤-مقایسه شاخص‌های تنوع ژنتیکی در *Triticum boeoticum* جمع‌آوری شده از نواحی شمالی و جنوبی زاگرس

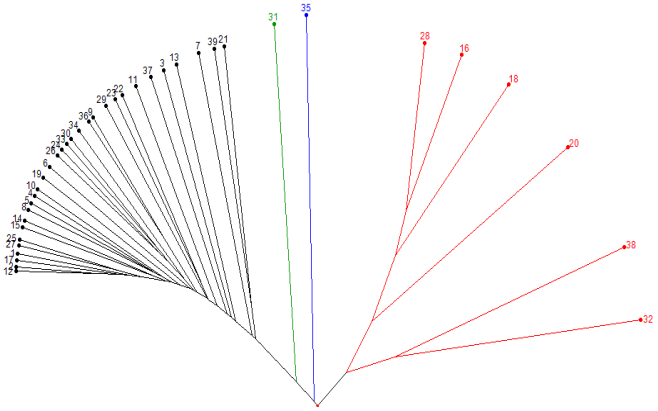
جمعیت	تعداد الل Na	تعدادالل موثر Ne	شاخص شانون I	هتروزیگوسیتی He
شمال زاگرس	۱/۹٤	۱/۵۲	۰/٤٦	۰/۳۰
جنوب زاگرس	۱/٦۹	۱/٤۷	۰/٤۱	۰/۲۷
میانگین	۱/۸۱	۱/٤۹	۰/٤۳	۰/۲۸

مقادیر تعداد الل‌های مشاهده شده و مؤثر، شاخص تنوع شانون و میزان هتروزیگوسیتی به تفکیک برای دو جمعیت مورد مطالعه در جدول٤، ارایه شده‌است. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، متوسط تعداد الل و الل مؤثر در مجموعه توده‌های مورد بررسی به‌ترتیب ۱/۸۱ و ۱/٤۹ به‌دست آمد. از سوی دیگر بر اساس مقادیر برآورد شده برای شاخص شانون و هتروزیگوسیتی ملاحظه می‌شود که جمعیت زاگرس شمالی در مقایسه با زاگرس جنوبی از سطح تنوع ژنتیکی بیش‌تری برخوردار است. تفاوت در سطح تنوع ژنتیکی جمعیت‌های متعلق به موقعیت‌های جغرافیایی مختلف در مطالعات دیگر نیز گزارش شده‌است. به‌عنوان نمونه در یک مطالعه با هدف بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های اینکورن با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مشخص شد که اگر چه به‌طور کلی تنوع ژنتیکی در این ژرم پلاسم در غرب و شمال‌غرب کشور بالا می‌باشد لیکن جمعیت‌های جمع‌آوری شده از شمال‌غرب ایران از تنوع بیش‌تری در مقایسه با جمعیت‌های جمع‌آوری شده از غرب کشور برخوردارند (Kharestani et al. 2013).

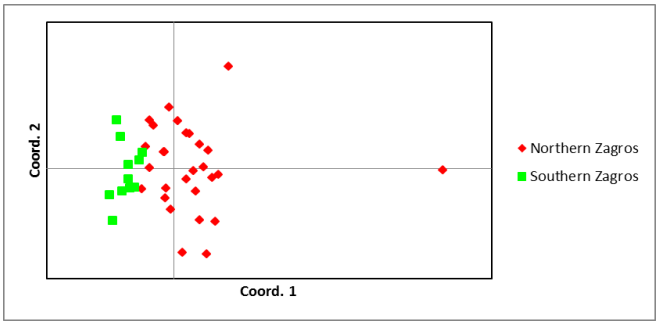
گروه‌بندی ۳۹ نمونه مورد مطالعه با انجام تجزیه خوشه‌ای بر اساس الگوریتم UPGMA و ضریب فاصله Dice بر روی داده‌های ترکیبی هردو نشانگر صورت گرفت. در این دسته‌بندی، صرف‌نظر از دو توده شماره ۳۱ (مربوط به استان کرمانشاه) و ۳۵ (مربوط به استان لرستان) که به‌صورت فردی در گروه‌های مجزایی قرار گرفتند، سایر افراد مورد مطالعه در دو گروه کلی دسته‌بندی شدند که این دسته‌بندی تا اندازه‌ای با موقعیت جغرافیایی محل جمع‌آوری آن‌ها مطابقت داشت (شکل۲). این نتایج به‌طور نسبی با نتایج مطالعه تنوع ژنتیکی گیاه دارویی بذرالبنج که حاکی از قرار گرفتن توده‌های متعلق به مناطق جغرافیایی نزدیک به یکدیگر در یک گروه و یا زیر گروه‌های نزدیک به‌هم بر اساس داده‌های مولکولی می‌باشند مطابقت دارد (Etminan et al. 2012). به‌منظور تأیید نتایج حاصل از تجزیه

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

خوشه‌ای، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) انجام شد که پراکنش توده‌ها در صفحه مختصات، اطلاعات حاصل ازتجزیه خوشه‌ای را تا حدود زیادی تایید نمود. نتایج PCoA نشان‌دهنده تفرق نسبی توده‌ها بود که این موضوع می‌تواند به علت ماهیت هتروژن نمونه‌های مورد بررسی باشد و البته در عین حال، پوشش ژنومی مناسب آغازگرهای مورد استفاده را نیز تایید می‌نماید.



شکل۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۳۹ توده گندم وحشی *Triticum boeoticum* به‌روش UPGMA



شکل ۳- پراکنش توده‌های *T. boeoticum* بر اساس دو بردار اول اصلی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از داده‌های CBDP و ISSR

کارایی نشانگرهای ISSR و نشانگرهای هدفمند ژنی مانند SCoT در برآورد تنوع ژنتیکی در خزانه ژنتیکی گندم دوروم (Etminan et al. 2016) و گونه‌های مختلف از خویشاوندان وحشی گندم (Etminan et al. 2019) نیز گزارش شده‌است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی در گونه *Triticum boeoticum* را در مناطق شمالی و جنوبی زاگرس عمدتا شامل استان‌های کردستان، کرمانشاه و لرستان نشان داد. بر اساس یافته‌های این تحقیق، میزان تنوع در مناطق شمالی زاگرس بیش‌تر از مناطق جنوبی آن بود که این موضوع می‌تواند با شرایط اقلیمی و توپوگرافیکی آن مرتبط باشد. مطالعات صورت گرفته در ارتباط با ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط بین گونه‌ای در ژرم پلاسم گندم توسط نشانگر CBDP کمتر از سایر انواع سیستم‌های نشانگری می‌باشد که این موضوع می‌تواند به‌دلیل جدیدتر بودن این سیستم نشانگری در مقایسه با سایر سیستم‌های مرسوم مبتنی بر PCR برای انجام انگشت‌نگاری DNA باشد. اگر چه نشانگر ISSR در مقایسه با CBDP از متوسط تولید باند بیش‌تری برخوردار است، لیکن با توجه به ماهیت نشانگر CBDP به‌عنوان یک نشانگر هدفمند ژنی، استفاده از این نشانگر در مقایسه با نشانگر نیمه تصادفی ISSR ترجیح داده می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که بر اساس شاخص‌های برآورد شده برای مقایسه بین این دو سیستم نشانگری، نشانگر CBDP ضمن کارامدی در گروه‌بندی افراد طبق ساختار ژنومی آن‌ها با توجه به ماهیت تنوعی که آشکار می‌سازد که همان تنوع ناحیه حفاظت شده درون ساختمان ژن‌ها و متمرکز بر مناطق اگزونی می‌باشد می‌تواند در مطالعات تجزیه ارتباط نیز کاربرد داشته باشد داشته باشد.

منابع

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.

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

Etminan A, Omidi M, Majidi Hervan E, Naghavi M, Reza zadeh S, Pirseyedi M (2012) The study of genetic diversity in some Iranian accessions of Hyoscyamus sp. using amplifiedfragment length polymorphism (AFLP) and

Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, Ahmadi-Rad A, Moradi Z, Mahdavian Z, Noori A (2017) Evaluation of genetic diversity in a mini core collection of Iranian durum wheat germplasms. The Journal of Animal and Plant Sciences 27:1582-1587.

Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, Ahmadi-Rad A, Noori A, Mahdavian Z, Moradi Z (2016)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]

retrotransposon/AFLP markers. African Journal of Biotechnology 43: 10070-10078.
Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R, Noori A, Ahmadi-Rad A (2018) Applicability of CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers for analysis of genetic diversity in durum wheat. Cereal Research Communications 46: 1-9.
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.
Hamidi H, Talebi R, Keshavarz F (2014) Comparative efficiency of functional genebased markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived Polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research Communications 42:558-567.
Kharestani H, Nasrolah Nejad Qomi AA, Mehrabi AA (2013) Genetic diversity assessment of Einkorn wheat by using microsatellite markers. Journal of crop production 6:1-16 (In Farsi).
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.
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.
Mousavifard SS, Saeidi H, Rahiminejad MR, Shamsadini M (2015) Molecular analysis of diversity of diploid *Triticum* species in Iran using ISSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 62:387-394.
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.
Nevo E (1998) Genetic diversity in wild cereals: regional and local studies and their bearing on conservation ex situ and in situ. Genetic Resources and Crop Evolution 45: 355-370.
Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology 6:288-295.
Perrier X, Jacquemoud-Collet J. (2006) DARwin software. Available from: http://darwin.cirad.fr/
Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M (2018a) Assessment of agro-morphological diversity existing in some of Aegilops species. Cereal Research 7: 533-549.(In Farsi).
Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M. (2018b). Insight into the genetic variability analysis and relationships among some *Aegilops* and *Triticum* species, as genome progenitors of bread wheat, using SCoT markers. Plant Biosystems 152: 694-703.
Pour-Aboughadareh A, Mohmoudi M, Ahmadi J, Moghaddam M, Mehrabi AA, Alavikia SS (2017a) Agro-morphological and molecular variability in *Triticum boeoticum* accessions from Zagros Mountains, Iran. Genetic Resources and Crop Evolution 64: 545-556.
Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M. (2017b). Assessment of genetic diversity among Iranian *Triticum* germplasm using agro-morphological traits and start codon targeted (SCoT) markers. Cereal Research Communications 45: 574-86.
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.
Pradeep Reddy M, Sarla N, Siddiq EA (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its applicaton in plant breeding. Euphytica 128: 9-17.
Saeidi H, Rahiminejad MR, Vallian S, Heslop-Harison JS (2006) Biodiversity of diploid D-genome *Aegilops tauschii* Coss. in Iran measured using microsatellites. Genetic Resources and Crop Evolution 53:1477-1484.
Schneider A, Molnar I, Molnar-Lang M (2008) Utilisation of Aegilops (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. Euphytica 163:1-19.
Singh AK, Rana MK, Singh S, Kumar S, Kumar R, Singh R (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology 23:175-183.
Sofalian A, Chaparzadeh N, Javanmard A, Hejazi MS (2008) Study of Genetic Diversity of Wheat Races from Northwest of Iran based on ISSR molecular markers. International Journal of Agricuiture and Biology 10:465-468. (In Farsi)
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.
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.
Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20:176-183.
Zamanianfard Z, Etminan A, Mohammadi R, Shooshtari L (2015) Evaluation of molecular diversity of durum wheat genotypes using ISSR markers. Biological Forum 7:214-218.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.2.7.3]