ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲
صفحه ۱۶۰ - ۱۵۱

بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های *Aegilops crassa* و *Aegilops cylindrica* با استفاده از نشانگرهای SCoT

Assessment of genetic diversity among Aegilops crassa and Aegilops cylindrica species using SCoT markers

علی سجاد بکائی[۱]، امید سفالیان*[۲]، بهزاد سرخی‌لو[۳]، علی اصغری[۲]، علیرضا پورابوقداره[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

Bokaei AS[1], Sofalian O*[2], Sorkhilalehlo B[3], Asghari A[2], Pour-Aboughadareh AR[3]

1- PhD Student, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2- Professors, Deptartment of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3- Assistant Professors, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sofalian@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳)

چکیده

گونه‌های متعلق به جنس آژیلوپس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین ذخایر ژنتیکی گندم محسوب می‌شوند. این منابع ژرم‌پلاسمی به‌واسطه پتانسیل‌های اصلاحی خود همواره منبع ژنی غنی برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی گندم محسوب می‌شوند. در این مطالعه تنوع ژنتیکی موجود در ۶۰ توده آژیلوپس متعلق به دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* با استفاده از نشانگرهای SCoT مورد بررسی قرار گرفت. بررسی الگوی باندی به‌دست آمده از آغازگرهای استفاده شده نشان داد در مجموع ۱۷۱ قطعه در توده‌های مورد بررسی تکثیر یافت که ۱۵۶ قطعه چندشکل بودند. متوسط شاخص اطلاعات چندشکلی (PIC)، قدرت تمایز (Rp) و شاخص نشانگر (MI) به‌ترتیب ۰/۳۰، ۱۶/۲۷ و ۳/۱۸ برآورد شد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد بیشترین میزان تنوع ژنتیکی مربوط به درون گونه‌ها بود (۷۹٪ در مقابل ۲۱٪). بررسی شاخص‌های تنوع ژنتیکی نیز نشان داد بیشترین میزان تنوع ژنتیکی مربوط به گونه *Ae. crassa* بود. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه ژنتیکی جاکارد نشان داد کلیه توده‌ها در دو گروه اصلی مجزا شدند، به‌طوری که الگوی گروه‌بندی منطبق با ساختار ژنومی توده‌ها بود. علاوه براین، نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نیز تأیید کننده گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بود. به‌طور کلی این نتایج می‌تواند بیانگر قابلیت نشانگرهای SCoT در تمایز توده‌های ژرم‌پلاسمی بر اساس ساختار ژنومی آن‌ها باشد. از این‌رو، استفاده از این سیستم نشانگری در دیگر مطالعات ژنتیکی قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

آژیلوپس
تجزیه واریانس مولکولی
تنوع ژنتیکی
نشانگرهای مبتنی بر ژن

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

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) به‌عنوان مهم‌ترین غله و گیاه زراعی دنیا شناخته شده است. این گیاه در محدودهٔ وسیعی از شرایط اقلیمی و مناطق جغرافیایی تولید می‌شود و به‌دلیل تطابق زیاد با شرایط آب و هوایی مختلف، دامنهٔ پراکندگی آن بیش از هر گونهٔ دیگر گیاهی است. این گیاه زراعی با تولید جهانی بیش از ۷۰۰ میلیون تن، ۲۰٪ نیاز روزانه به پروتئین و کالری ۵/۴ 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). با توجه به محدودیت تنوع ژنتیکی قابل استفاده در گونه‌های زراعی اصلاح شده برای سازگاری به تغییرات اقلیمی و بنابراین شانس ضعیف دستیابی به تنوع آللی جدید در این ذخایر، استفاده از خویشاوندان وحشی و گونه‌های بیگانه می‌تواند یک منبع ژنی غنی و متنوع از آل‌های جدید و ایده‌آل را برای به‌نژادگران فراهم آورد (Pour-Aboughadareh et al. 2021). جنس آژیلوپس به‌عنوان مهم‌ترین ژرم‌پلاسم گندم شناخته می‌شود. گونه‌های موجود در این جنس شامل مهم‌ترین خویشاوندان گندم زراعی بوده و بخش اصلی مخزن ژنی این گیاه را شامل می‌شوند. گونه‌های آژیلوپس بر اساس ساختار ژنومی خود در ۵ دسته کلی شامل Aegilops با ساختار ژنومی U، Cylindropyrum با ساختار ژنومی C و DC، Vertebrata با ساختار ترکیبی از ژنوم D و سایر ژنوم‌ها، Comopyrum با ساختار ژنومی M و N و در نهایت Sitopsis با ساختار ژنومی S گروه‌بندی می‌شوند (Kimber and Feldman 1987). بر اساس تحقیقات صورت گرفته مشخص شده است که گونه‌های وحشی برخوردار از ژنوم D دارای پتانسیل بالایی جهت استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی گندم هستند. علاوه‌براین، بسیاری از خصوصیات زراعی و کیفی گندم زراعی نشأت گرفته از ژنوم D می‌باشد. از این‌رو بررسی تنوع ژنتیکی و غربال این منابع ژرم‌پلاسمی از نظر صفات مطلوب زراعی می‌تواند چشم‌انداز جدیدی را در استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی را فراهم کند.

مطالعه الگوی تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین پایه‌های هر برنامه به‌نژادی در نظر گرفته شده است. زیرا آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی در منابع ژرم‌پلاسمی سبب خواهد شد تا ظرفیت‌های ژنتیکی مرتبط با اهداف اصلاحی مهم برای هر گونه گیاهی شناسایی شوند (Mohammadi and Prasanna 2003). در این رابطه، نشانگرهای مولکولی ابزار مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی فراهم آورده‌اند و گزارش‌های متنوعی از کاربرد انواع نشانگرهای مبتنی بر PCR در ارزیابی ژرم‌پلاسم گندم در اختیار است (Moustafavi et al. 2015; Etminan et al. 2016; Hamidi et al. 2014; Moradkhani et al. 2015). در سال‌های اخیر پیشرفت در ابزارهای مولکولی منجر به توسعه برخی از نشانگری مبتنی بر مناطق شناخته شده ژنوم یا برخی از ژن‌ها فراهم شده است که به‌عنوان نشانگرهای کارکردی (Anderson and Lubberstedt 2003; Gupta et al. 2008)، نشانگرهای مولکولی وابسته به ژن (Varshney et al. 2007) و نشانگرهای مبتنی بر بیان ژن (West et al. 2006) خوانده می‌شوند. نشانگر SCoT به‌عنوان یکی از نشانگرهای نوظهورو مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، جزو نشانگرهای وابسته به ژن (کدون آغاز: ATG) می‌باشند. این نشانگرها بر اساس نواحی کوتاه حفاظت‌شده اطراف رمز آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی شده است. در این سیستم نشانگری از یک آغازگر ۱۸ نوکلئوتیدی استفاده می‌شود و آشکارسازی چندشکلی توالی بین رمزهای آغاز (ATG) در ژن‌های گیاهی را ممکن می‌کند. نشانگرهای SCoT از چندشکلی و تکرارپذیری بالایی برخوردار هستند و در طراحی آغازگرهای این نشانگر به اطلاع از توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست (Collard and Mackill 2009).

در بررسی تنوع ژنتیکی و مطالعه ساختار جمعیت در گونه‌های جنس آژیلوپس از طیف وسیعی از نشانگرهای مولکولی استفاده شده است. به‌عنوان مثال، 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 به‌طوری که متوسط میزان چندشکلی نیز بالا (۰/۶۵) بود.

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

Naghavi et al. (2010) در بررسی ساختار جمعیت گونه‌های *T. aestivum* و *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران با استفاده از نشانگرهای SSR گزارش کردند که میزان هتروزیگوتی مشاهده شده (Ho)، تنوع ژنتیکی (He) و شاخص شانون (I) در توده‌های نمونه‌برداری شده از نواحی شمالی ایران نسبت به سایر مناطق بیشتر بوده و میزان تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های *T. aestivum* به مراتب بسیار کمتر از تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های وحشی *Ae. tauschii* 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 پتاسیل‌های اصلاحی مفید را برای اصلاح گندم فراهم آوردند. در مطالعه Tahernezhad et al. (2010) از نشانگرهای SSR در بررسی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف *Ae. tauschii* استفاده شد. در این مطالعه با استفاده از ۱۹ 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 به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای نشان داده شد که سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های بررسی شده وجود دارد. به‌منظور بررسی روابط فیلوژنتیکی بین گونه‌های وحشی گندم (2018) Pour-Aboughadareh et al. از نشانگرهای SCoT استفاده کردند. با توجه به نتایج این مطالعه میزان چندشکلی بالایی در گونه‌های مورد بررسی گزارش شد. علاوه براین، مشخص شد نشانگرهای SCoT قابلیت بالایی در تفکیک نمونه‌ها بر اساس ساختار ژنومی آن‌ها دارند. همچنین Etminan et al. (2019) با استفاده از نشانگرهای CBDP ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی موجود در مجموعه‌ای از گونه‌های خویشاوندی گندم را مورد بررسی قرار دادند و سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون هر یک از گونه‌های آژیلوپس گزارش کردند.

به‌منظور نشان دادن کارایی نشانگرهای SCoT در مقایسه با دیگر نشانگرها در تجزیه تنوع ژنتیکی، Hamidi et al. (2014) مطالعه‌ای را بر روی ۴۰ رقم بومی گندم با استفاده از نشانگرهای ISSR، CDDP و SCoT انجام دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که نشانگرهای SCoT قابلیت بالایی در تمایز ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام مختلف داشت. همچنین مشخص شد با توجه به کم بودن تعداد قطعات تکثیری میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) در نشانگرهای SCoT به مراتب بیشتر از نشانگرهای ISSR و CDDP است. به‌طور کلی نتایج حاصل از مطالعه این محققان نشان داد که نشانگرهای SCoT می‌توانند در ترکیب با سایر نشانگرها مانند ISSR به‌خوبی در تجزیه‌های ژنتیکی و بررسی روابط صفات به کار گرفته شوند. علاوه بر این، Hajibarat et al. (2015) در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در ارقام بومی نخود ایران از نشانگرهای SCoT، SSR و CDDP استفاده نمودند. این محققان گزارش کردند که اگرچه میزان متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در نشانگرهای SCoT (۰/۴۵) کمتر از نشانگرهای SSR (۰/۴۷) بود با این وجود، الگوی گروه‌بندی ارقام مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای SCoT نسبت SSR از روند مناسب‌تری برخوردار بود. در بررسی Etminan et al. (2016) نیز نشانگرهای SCoT در مقایسه با نشانگرهای ISSR به‌صورت مطلوب‌تری قادر به گروه‌بندی ارقام مختلف بودند به‌طوری که گروه‌بندی به‌دست آمده با استفاده از نشانگرهای SCoT مطابق با ساختار ژنتیکی و منشأ ارقام مورد مطالعه بود. با توجه به اهمیت خویشاوندان وحشی گندم به‌ویژه گونه‌های آژیلوپس این پژوهش با هدف مقایسه سطوح تنوع ژنتیکی موجود در دو گونه *Ae. craasa* (با ساختار ژنومی DDMM) و *Ae. cylindrica* (با ساختار ژنومی DDCC) با استفاده از نشانگرهای SCoT انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق شامل ۶۰ توده آژیلوپس از گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* بود که بذور آن‌ها از بخش تحقیقات ژنتیک و بانک ژن گیاهی ملی ایران تهیه و مشخصات آن در جدول ۱ ذکر شده است. پس از کشت بذور و استقرار گیاهچه‌ها در محیط گلخانه، استخراج DNA ژنومی از برگ‌های جوان بر اساس دستورالعمل CTAB صورت گرفت (Doyle and Doyle 1987). کیفیت DNAهای استخراجی با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد بررسی قرار

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

گرفت. به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های مختلف از ۱۵ آغازگر SCoT استفاده شد (جدول ۲). پس از بهینه سازی شرایط تکثیر و تعیین دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده، اجزای واکنش PCR شامل ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (2x)، ۶ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر آغازگر (غلظت ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه و کلیه واکنش‌های تکثیر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (مدل Biorad-T100) انجام شد. پروفایل دمایی هر واکنش شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت ۵۰ ثانیه در دمای بهینه‌سازی شده برای آغازگر استفاده شده و توسعه آغازگر (پلیمریزاسیون) به مدت ۹۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و توسعه نهایی آغازگر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود.

جدول ۱- مشخصات توده‌های وحشی گندم متعلق به گونه‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica*

محل جمع‌آوری	توده	شماره	محل جمع‌آوری	توده	شماره
اصفهان	*Ae. cylindrica*	۳۱	خراسان	*Ae. crassa*	۱
اصفهان	*Ae. cylindrica*	۳۲	لرستان	*Ae. crassa*	۲
اصفهان	*Ae. cylindrica*	۳۳	هرمزگان	*Ae. crassa*	۳
گلستان	*Ae. cylindrica*	۳۴	فارس	*Ae. crassa*	۴
گلستان	*Ae. cylindrica*	۳۵	فارس	*Ae. crassa*	۵
خراسان	*Ae. cylindrica*	۳۶	زنجان	*Ae. crassa*	۶
خراسان	*Ae. cylindrica*	۳۷	زنجان	*Ae. crassa*	۷
خراسان	*Ae. cylindrica*	۳۸	زنجان	*Ae. crassa*	۸
آذربایجان غربی	*Ae. cylindrica*	۳۹	زنجان	*Ae. crassa*	۹
آذربایجان غربی	*Ae. cylindrica*	۴۰	همدان	*Ae. crassa*	۱۰
آذربایجان غربی	*Ae. cylindrica*	۴۱	همدان	*Ae. crassa*	۱۱
آذربایجان غربی	*Ae. cylindrica*	۴۲	همدان	*Ae. crassa*	۱۲
آذربایجان شرقی	*Ae. cylindrica*	۴۳	مرکزی	*Ae. crassa*	۱۳
آذربایجان شرقی	*Ae. cylindrica*	۴۴	مرکزی	*Ae. crassa*	۱۴
آذربایجان شرقی	*Ae. cylindrica*	۴۵	مرکزی	*Ae. crassa*	۱۵
زنجان	*Ae. cylindrica*	۴۶	کرمانشاه	*Ae. crassa*	۱۶
زنجان	*Ae. cylindrica*	۴۷	کرمانشاه	*Ae. crassa*	۱۷
زنجان	*Ae. cylindrica*	۴۸	کرمانشاه	*Ae. crassa*	۱۸
کردستان	*Ae. cylindrica*	۴۹	فارس	*Ae. crassa*	۱۹
کردستان	*Ae. cylindrica*	۵۰	فارس	*Ae. crassa*	۲۰
همدان	*Ae. cylindrica*	۵۱	ایلام	*Ae. crassa*	۲۱
همدان	*Ae. cylindrica*	۵۲	ایلام	*Ae. crassa*	۲۲
همدان	*Ae. cylindrica*	۵۳	ایلام	*Ae. crassa*	۲۳
تهران	*Ae. cylindrica*	۵۴	ایلام	*Ae. crassa*	۲۴
تهران	*Ae. cylindrica*	۵۵	ایلام	*Ae. crassa*	۲۵
تهران	*Ae. cylindrica*	۵۶	آذربایجان غربی	*Ae. crassa*	۲۶
کرمانشاه	*Ae. cylindrica*	۵۷	آذربایجان غربی	*Ae. crassa*	۲۷
کرمانشاه	*Ae. cylindrica*	۵۸	آذربایجان غربی	*Ae. crassa*	۲۸
کرمانشاه	*Ae. cylindrica*	۵۹	آذربایجان غربی	*Ae. crassa*	۲۹
کرمانشاه	*Ae. cylindrica*	۶۰	آذربایجان غربی	*Ae. crassa*	۳۰

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

جدول ۲- توالی آغازگرهای SCoT استفاده شده در بررسی حاضر به‌همراه اطلاعات مربوط به شاخص‌های تعیین کننده کارایی نشانگر

شماره	آغازگر	توالی	دمای اتصال	TAF	NPF	PIC	Rp	MI
۱	SCoT-1	CAACAATGGCTACCACCA	۵۹	۱۰	۹	۰/۳۰	۱۵/۰۷	۲/۷۰
۲	SCoT-2	CAACAATGGCTACCACCC	۶۰	۱۳	۱۱	۰/۳۳	۱۸/۸۳	۳/۶۱
۳	SCoT-3	CAACAATGGCTACCACCG	۶۰	۱۴	۱۴	۰/۳۶	۱۷/۷۷	۵/۰۵
۴	SCoT-6	CAACAATGGCTACCACGC	۶۰	۱۴	۱۳	۰/۳۲	۲۰/۸۰	۴/۲۰
۵	SCoT-7	CAACAATGGCTACCACGG	۵۸/۵	۱۲	۱۲	۰/۳۰	۱۷/۷۷	۳/۵۸
۶	SCoT-9	CAACAATGGCTACCAGCA	۵۴	۱۱	۱۱	۰/۲۵	۱۴/۱۰	۲/۷۶
۷	SCoT-10	CAACAATGGCTACCAGCC	۴۹	۶	۵	۰/۲۹	۸/۹۰	۱/۴۳
۸	SCoT-12	ACGACATGGCGACCAACG	۵۹	۱۲	۱۱	۰/۲۹	۱۶/۵۳	۳/۱۸
۹	SCoT-13	ACGACATGGCGACCATCG	۵۸	۱۲	۱۱	۰/۲۶	۱۸/۵۳	۲/۸۱
۱۰	SCoT-14	ACGACATGGCGACCACGC	۵۸	۱۲	۹	۰/۲۶	۱۷/۵۰	۲/۳۳
۱۱	SCoT-16	ACCATGGCTACCACCGAC	۵۸	۱۲	۱۱	۰/۲۸	۱۷/۴۷	۳/۰۷
۱۲	SCoT-17	ACCATGGCTACCACCGAG	۵۶	۸	۶	۰/۳۷	۱۰/۲۳	۲/۱۹
۱۳	SCoT-18	ACCATGGCTACCACCGCC	۶۴	۱۱	۱۱	۰/۳۷	۱۵/۶۰	۴/۰۵
۱۴	SCoT-25	ACCATGGCTACCACCGGG	۵۹	۱۱	۱۱	۰/۳۵	۱۳/۸۳	۳/۸۷
۱۵	SCoT-31	CCATGGCTACCACCGCCT	۵۹	۱۳	۱۱	۰/۲۵	۲۱/۱۷	۲/۸۰
		میانگین		۱۱/۴۰	۱۰/۴۰	۰/۳۰	۱۶/۲۷	۳/۱۸

TAF، NPF، PIC، Rp و MI به‌ترتیب نشان‌دهنده تعداد کل قطعات تکثیر شده، تعداد قطعات چندشکل، محتوای اطلاعات چندشکل، قدرت تمایز و شاخص نشانگر

پس از اجرای واکنش‌های PCR، کلیه قطعات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و با استفاده از Safeview رنگ‌آمیزی صورت گرفت. سپس الگوهای باندی به‌دست آمده به داده‌های صفر (عدم قطعه تکثیر شده) و یک (قطعه تکثیر شده) تبدیل و ماتریس داده‌های ژنوتیپی تشکیل داده شد. به‌منظور بررسی کارایی آغازگرهای استفاده شده، برخی از شاخص‌های تعیین کننده کارایی نشانگر شامل تعداد قطعات تکثیر شده (NTF)، تعداد قطعات چندشکل (NPF)، اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص نشانگر (MI) و قدرت تمایز (Rp) محاسبه شد. تجزیه واریانس مولکولی با هدف تعیین سهم واریانس ژنتیکی بین و درون گونه‌ها انجام شد. علاوه‌براین، جهت مقایسه میزان تنوع ژنتیکی موجود در هر یک از گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* برخی از شاخص‌های تنوع ژنتیکی شامل شاخص شانون (I)، شاخص تنوع ژنی نی (H)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne) و درصد جایگاه‌های ژنی چندشکل (PPL) برآورد شد. به‌منظور گروه‌بندی توده‌های مورد ارزیابی نیز تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی بر اساس ماتریس ضرایب تشابه ژنتیکی جاکارد صورت گرفت. کلیه تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای GenAlEx ver. 6.5 و MEGA ver. 5.1 انجام شدند.

نتایج و بحث

از مجموع ۱۵ آغازگر SCoT استفاده شده، کلیه آغازگرها دارای تکثیر مناسب و قابل امتیازدهی بودند و خلاصه‌ای از نتایج حاصل از تکثیر نشانگرها در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس آغازگرهای استفاده شده در کل ۱۷۱ قطعه تکثیر یافت که از بین آن‌ها ۱۵۶ قطعه (۹۱/۲۲ درصد) چندشکل بودند. تعداد کل قطعات تکثیری (TAF) از شش (مربوط به آغازگر SCoT-10) تا ۱۴ قطعه (مربوط به آغازگر SCoT-3 و SCoT-6) با میانگین ۱۱/۴۰ قطعه متغیر بود. تعداد قطعات تکثیر شده چندشکل نیز دارای دامنه تغییرات ۱۴ – ۵ با میانگین ۱۰/۴۰ بود و کمترین و بیشترین تعداد قطعات چندشکل مربوط به آغازگرهای SCoT-10 و SCoT-3 بود. به‌منظور بررسی میزان چندشکلی آغازگرهای مورد استفاده از پارامترهای قدرت تفکیک یا تمایز (Rp)، شاخص نشانگری (MI) و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) استفاده شد. متوسط شاخص PIC ۰/۳۰ برآورد شد و آغازگر SCoT-10 با مقدار ۰/۲۵ و آغازگرهای SCoT-17 و SCoT-18 با مقادیر

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

۰/۳۷ به‌ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقادیر PIC بودند. شاخص Rp نیز دارای دامنع تغییرات گسترده‌ای (۲۱/۱۷ – ۸/۹۰) بود و آغازگرهای SCoT-10 و SCoT-31 به‌ترتیب از کمترین و بیشترین قدرت تمایز برخوردار بودند. روند تغییرات شاخص MI در آغازگرهای استفاده شده متنوع بود و این شاخص با میانگین ۳/۱۸ دارای دامنه تغییراتی بین ۱/۴۳ (SCoT-10) و ۵/۰۵ (SCoT-3) بود.

در بین شاخص‌های تعیین کننده کارایی نشانگرهای مولکولی، PIC و MI اهمیت فراوانی دارند. پیش از این Milbourne et al. (1997) گزارش کردند مقادیر بالای شاخص‌های Rp و MI نشان دهنده تکثیر تعداد بیشتری قطعات چندشکل و فراهم کردن اطلاعات بیشتری از ژنوم است. علاوه بر این، شاخص Rp نیز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین کننده سودمندی نشانگرهای مولکولی بیانگر توانایی یک آغازگر در تمایز افراد مورد بررسی می‌باشد. این شاخص نیز با تعداد آلل‌های مشاهده در الگوی باندی رابطه مستقیمی دارد (Prevost and Wilkinson 1999). همانگونه که در این پژوهش مشخص شد آغازگرهای SCoT کارایی مناسبی جهت تشخیص چندشکلی موجود در نمونه‌های مورد ارزیابی دارند. پیش از این در برخی از مطالعات انجام شده با استفاده از انواعی از نشانگرهای مولکولی به قابلیت بالای آغازگرهای SCoT در تشخیص چندشکلی موجود در جمعیت‌های گیاهی اشاره شده است. به‌عنوان نمونه، در مطالعه انجام شده توسط Qaderi et al. (2019) نشانگرهای SCoT نسبت به ISSR از کارایی بالاتری در ارائه چندشکلی نمونه‌های خشخاش وحشی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران نسبت به نشانگرهای ISSR داشتند. همچنین در مطالعه Pour-Aboughadareh et al. (2019) نشانگرهای SCoT نسبت به CBDP تعداد قطعات تکثیری بیشتری تولید کردند. علاوه براین، این محققان اظهار داشتند متوسط کلیه شاخص‌های تعیین کننده سودمندی در نشانگرهای SCoT نسبت به CBDP بیشتر بود. با این وجود، Pour-Aboughadareh et al. (2022) در بررسی تنوع ژنتیکی مجموعه‌ای متشکل از ۱۰۰ توده وحشی گندم با استفاده از دو سیستم نشانگری SCoT و CBDP نشان دادند متوسط مقادیر شاخص‌های تعیین کننده سودمندی نشانگرها برای آغازگرهای CBDP بیشتر از SCoT بود که در این رابطه با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش مطابقت نداشت.

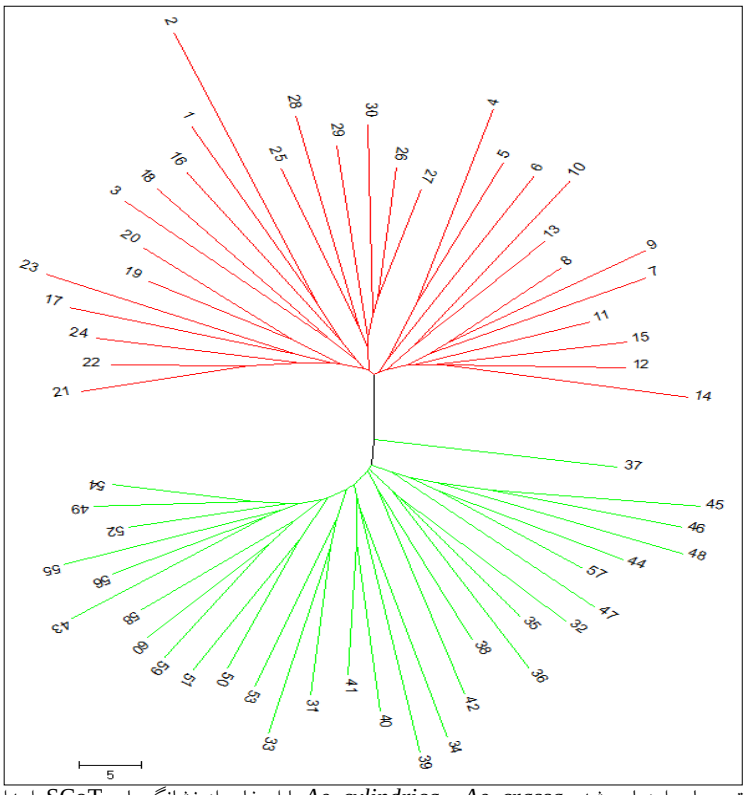
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی بر اساس داده‌های به‌دست آمده از آغازگرهای SCoT برای دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان واریانس درون گونه‌ای برآورد شده (۷۹ درصد) بیشتر از واریانس بین گونه‌ای (۲۱ درصد) بود. بررسی نتایج به دست آمده از شاخص‌های تنوع ژنتیکی به تفکیک هر گونه نشان داد تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) با میانگین ۱/۸۲ بین ۱/۸۰ و ۱/۸۳ آلل متغیر بود و دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* دارای مقادیر یکسانی از نظر این شاخص بودند. از نظر تعداد آلل‌های مؤثر (Ne) گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* دارای مقدار بالاتری بود (به‌ترتیب ۱/۶۰ و ۱/۵۳) و متوسط این شاخص ۱/۵۶ برآورد شد. متوسط شاخص‌های شانون (I) و تنوع ژنی نی (H) نیز به‌ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۳۲ برآورد شد و از نظر هر دو شاخص بیشترین مقدار مربوط به گونه *Ae. crassa* بود.

جدول ۳- مقادیر برآورده شده پارامترهای ژنتیکی در دو گونه *Ae. cylindrica* و *Ae. crassa* بر اساس آغازگرهای SCoT

پارامتر ژنتیکی	*Ae. cylindrica* (n = 30)	*Ae. crassa* (n = 30)
تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)	۱/۸۰ ± ۰/۰۳	۱/۸۳ ± ۰/۰۳
تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)	۱/۵۳ ± ۰/۰۲	۱/۶۰ ± ۰/۰۲
شاخص اطلاعات شانون (I)	۰/۴۵ ± ۰/۰۲	۰/۴۹ ± ۰/۰۲
شاخص تنوع ژنی نی (H)	۰/۳۱ ± ۰/۰۱	۰/۳۴ ± ۰/۰۱
درصد چندشکلی مکان‌های ژنی (PPL)	۸۰/۱۲	۸۳/۶۳
واریانس ژنتیکی بین گونه‌ها	٪ ۲۱	
واریانس ژنتیکی درون گونه‌ها	٪ ۷۹	

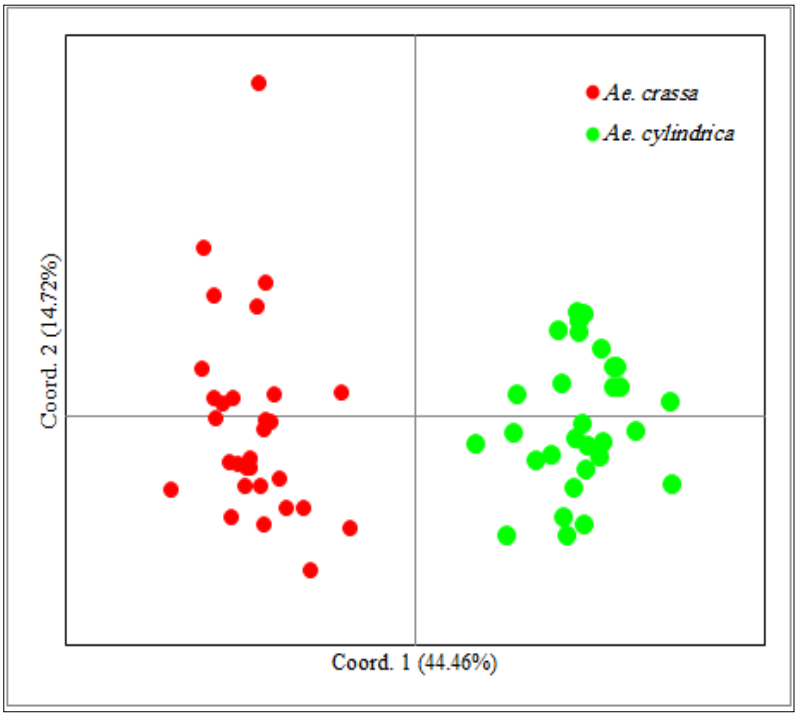
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

درصد جایگاه‌های ژنی چندشکل نیز دارای میانگین ۸۱/۸۷ درصد بود و بیشترین مقدار مربوط به جمعیت‌های *Ae. crassa* بود. از این‌رو با توجه به نتایج به‌دست آمده مشخص شد سطح تنوع ژنتیکی در گونه *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* بیشتر بود. مطابق با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش Etminan et al. (2019) نیز سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* با استفاده از نشانگرهای CBDP گزارش کردند. با این‌حال، نتایج مطالعه Ghobadi et al. (2021) و Pour-Aboughadareh et al. (2022) نشان داد سطح تنوع ژنتیکی در گونه *Ae. cylindrica* نسبت به *Ae. crassa* بیشتر بود. به‌طور کلی عدم تطابق بالا بین نتایج به‌دست آمده از این مطالعه با سایر مطالعات صورت گرفته با استفاده از نشانگرهای SCoT و دیگر نشانگرهای مولکولی می‌تواند به تعداد آغازگرهای استفاده شده و حتی تعداد نمونه‌های مورد بررسی در هر گونه باشد. به‌منظور توصیف دقیق‌تر روابط بین توده‌های *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* ارزیابی شده، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ماتریس تشابه ژنتیکی جاکارد و به روش Neighbor-joining انجام شد. با توجه به دندروگرام به‌دست آمده مشخص شد کلیه توده‌ها در دو گروه اصلی (GI و GII) گروه‌بندی شدند و روند گروه‌بندی بر اساس ساختار ژنومی گونه‌ها بود. همان‌گونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تمامی توده‌های مربوط گونه *Ae. crassa* در گروه نخست و توده‌های مربوط به گونه *Ae. cylindrica* در گروه دوم قرار گرفتند.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های ارزیابی شده *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* با استفاده از نشانگرهای SCoT. اعداد مشاهده شده در دندروگرام بیانگر شماره توده‌های موجود در جدول ۱ می‌باشند.

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



شکل ۲- بای‌پلات ترسیم شده بر اساس دو مؤلفه نخست حاصل از تجزیه PCoA با استفاده از داده‌های به‌دست آمده از نشانگرهای SCoT

همچنین نتایج به‌دست آمده از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نیز تأیید کننده گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بود. در تجزیه PCoA دو مؤلفه نخست به‌ترتیب با ۴۴/۴۶ و ۱۴/۷۲ درصد مجموعاً ۵۹/۱۸ درصد از کل تغییرات ژنتیکی موجود در توده‌های مورد بررسی را توجیه نمودند. بر اساس بای‌پلات ترسیم شده مبتنی بر دو مؤلفه نخست تمامی توده‌ها در دو گروه کاملاً مجزا از یکدیگر متمایز شدند (شکل ۲). در واقع این نتایج به‌خوبی بیانگر قابلیت بالای نشانگرهای SCoT در تفکیک توده‌های برررسی شده بر اساس ساختار ژنومی آن‌ها می‌باشد که این نتیجه خود دلالت بر پتانسیل این نشانگرها در مطالعات فیلوژنتیکی دارد. پیش از این در بسیاری از مطالعات به قابلیت نشانگرهای SCoT در تفکیک گونه‌ها و و حتی توده‌های مربوط به یک گونه اشاره شده است. در مطالعه Qaderi et al. (2019) مشخص شد نشانگرهای SCoT توانایی بالاتری نسبت به نشانگرهای ISSR در تفکیک توده‌های خشاش جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران دارند به‌طوری که در الگوی گروه‌بندی به‌دست آمده با استفاده از نشانگرهای SCoT توده‌های مربوط به نواحی مختلف به‌خوبی از یکدیگر متمایز شدند. در بررسی انجام شده توسط Etminan et al. (2016) نیز گزارش شده است که نشانگرهای SCoT به‌دلیل ماهیت آن‌ها که مبتنی بر جایگاه هدف هستند به‌خوبی توانستند که گونه‌های مختلف مریم گلی را از یکدگیر متمایز کنند. علاوه براین، در مطالعه انجام شده توسط Pour-Aboughadareh et al. (2017) مشخص شد نشانگرهای SCoT به‌خوبی قادر به تمایز گونه‌های مختلف جنس تریتیکوم از یکدیگر بودند و این محققان اظهار داشتند این نشانگرها می‌توانند در شناسایی روابط فیلوژنیکی در گونه‌های ژرم‌پلاسمی ایفای نقش کنند.

نتیجه‌گیری کلی

ارزیابی میزان تنوع ژنتیکی موجود در ذخایر ژنتیکی یکی از گام‌های اولیه در برنامه‌های به‌نژادی گندم محسوب می‌شود و اطلاع از سطح تنوع موجود در ژرم‌پلاسم‌ها و خزانه‌های ژنتیکی می‌تواند جهت تشخیص تکرارها در بانک‌های ژنی، غنی‌سازی ذخایر ژنتیکی از طریق انتقال ژن‌های مطلوب و شناسایی ژن‌های مناسب به‌کار رود. در این مطالعه تنوع ژنتیکی موجود در ۶۰ توده وحشی متعلق به دو گونه *Ae. crassa* و *Ae. cylindrica* با

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

استفاده از ۱۵ آغازگر SCoT مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به‌دست آمده بیانگر وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در مجموعه مورد ارزیابی بود. با توجه به مقادیر پارامترهای ژنتیکی برآورد شده مشخص شد توده‌های مربوط به *Ae. crassa* نسبت به *Ae. cylindrica* دارای میزان تنوع بالاتری بودند که این نتیجه بیانگر توجه هرچه بیشتر به این گونه و انجام مطالعات بیشتر در جهت شناسایی ژن‌ها و یا آلل‌های مفید در جمعیت مربوط به این گونه می‌باشد. علاوه براین، با توجه به نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) مشخص شد نشانگرهای SCoT دارای قابلیت بالایی در نشان دادن چندشکلی موجود در گونه‌های ژرم‌پلاسمی بوده و می‌توانند به‌عنوان ابزار مولکولی سودمندی در مطالعات ژنتیکی و بررسی روابط فیلوژیکی مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

Anderson JR, Lubberstedt T (2003) Functional markers in plants. Trends in Plant Science 8:554-560.

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.

Collard BCY, Mackill DJ (2009) Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. Plant Molecular Biology Report 27:86-93.

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

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 -An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 153:398-405.

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.

Ghobadi G, Etminan A, Mehrabi AM, Shooshtari L (2021) Molecular diversity analysis in hexaploid wheat (Triticum aestivum L.) and two Aegilops species (Aegilops crassa and Aegilops cylindrica) using CBDP and SCoT markers. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 19:1-11.

Gupta PK, Rustgi S, Mir PR (2008) Array-based high throughput DNA markers for crop improvement. Heredity 101:5-18.

Hajibarat Z, Saidi A, Hajibarat Z, Talebi R (2015) Characterization of genetic diversity in chickpea using SSR markers, Start Codon Targeted Polymorphism (SCoT) and Conserved DNA-Derived Polymorphism (CDDP). Physiology and Molecular Biology of Plants 21:365-373.

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.

Kimber G, Feldman M (1987) Wild wheat: An introduction. Special Report No. 353, University of Missouri, Columbia.

Milbourne D, Meyer R, Bradshaw JE, Baird E, Bonar N, Provan J, Powell W, Waugh R (1997) Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. Molecular Breeding 3:127-136.

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.

Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Etminan A, Moghaddam M (2017) Assessment of genetic diversity among Iranian Triticum germplasm using agro-morphological traits and start codon targeted (SCoT) markers. Cereal Research Communications 45:574-586.

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 Biosystems -An

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

International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology 152:694-703.
Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shooshtari L, Maleki-Tabrizi N (2019) Comparative Assessment of SCoT and CBDP Markers for Investigation of Genetic Diversity Existing in Different Aegilops Species. Agricultural Biotechnology Journal 11:153-174. (In Persian)
Pour-Aboughadareh A, Kianersi F, Poczai P, Moradkhani H (2021) Potential of wild relatives of wheat: ideal genetic resources for future breeding programs. Agronomy 11:1656.
Pour-Aboughadareh A, Poczai P, Etminan A, Jadidi O, Kianersi F, Shooshtari L (2022) An analysis of genetic variability and population structure in wheat germplasm using microsatellite and gene-based markers. Plants 11:1205.
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.
Qaderi A, Omidi M, Pour-Aboughadareh A, Poczai P, Shaghaghi S, Mehrafarin A, Nohooji M, Etminan A (2019) Molecular diversity and phytochemical variability in the Iranian poppy (Papaver bracteatum Lindl.): A baseline for conservation and utilization in future breeding programmes. Industrial Crop and Products 130:237-247.
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.
Tahernezhad Z, Zamani MJ, Solouki M, Zahravi M, Imamjomeh AA, Jafaraghaei M, Bihamta MR (2010) Genetic diversity of Iranian Aegilops tauschii Coss. using microsatellite molecular markers and morphological traits. Molecular Biology Reports 37:3413-3420.
Varshney RK, Mahender T, Aggrawal RK, Borner A (2007) Genomics-assisted crop improvement: Genomics Approaches and Platforms (Vol: I). Springer, Chapter 1.
West MAL, vanLeeuwen H, Kozil A, Kliebenstein DJ, Doerge RW, Clair DA, Michelmore RW (2006) Highdensity haplotyping with microarray-based expression and single feature polymorphism markers in Arabidopsis. Genome Research 16:787-795.

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