

Comparative assessment of SCoT and CBDP markers for investigation of genetic diversity existing in different *aegilops* species

Alireza Pour-Aboughadareh

*Corresponding author: Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Tel: +989183830915, Email: a.poraboghadareh@gmail.com

Alireza Etminan

Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. Tel: +989188316391, Email: alietminan55@yahoo.com

Lia Shooshtari

Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran. Tel: +989183300121, Email: L_shooshtary@yahoo.com

Neda Maleki-Tabrizi

Graduated PhD student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran. Tel: (+98) 912 047 5274, Email: n.malekitabrizi@gmail.com

Abstract

Objective

The main goals of this study were investigation of genetic diversity in 103 *Aegilops* accessions and comparison of the efficiency of start codon targeted (SCoT) and CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers.

Materials and methods

In this study, the genetic diversity in 103 *Aegilops* accessions belonging to seven species including seven samples of *Ae. caudata*, 14 samples of *Ae. crassa*, 19 samples of *Ae. cylindrica*, 11 samples of *Ae. neglecta*, 20 samples of *Ae. tauschii*, 15 samples of *Ae. triuncialis* and 17 samples of *Ae. umbellulata* was evaluated using 15 SCoT and 15 CBDP primers.

Results

In total, 15 SCoT and 15 CBDP primers amplified 164 and 141 polymorphic bands, respectively. SCoT primers showed the highest values for all of the informativeness parameters than CBDP primers. However, both molecular markers indicated the same PIC values. The results of analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that the highest proportion of genetic variance referred to within species. Among all species, *Ae. cylindrica* had the highest values of genetic parameters. Although cluster analysis based on each marker system classified all accessions into two main groups, the grouping pattern obtained from CBDP data indicated a clear phylogenetic relationship among *Aegilops* species compared to SCoT data. Besides, the results of clustering were confirmed by principal coordinates analysis (PCoA) analysis.

Conclusion

On the whole, both molecular markers revealed good capability in depicting of polymorphism among tested accessions. However, CBDP markers provided a vivid grouping pattern for evaluated samples. Hence, the use of this technique individually or in combination with other molecular markers is recommended for phylogenetic assessments.

Keywords: *Aegilops*, genetic diversity, molecular targeted-markers, principal coordinates analysis

Citation: Pour-Aboughadareh A, Etminan A, Shoostari 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 (4), 153-174.

Agricultural Biotechnology Journal 11 (4), 153-174.

DOI: 10.22103/jab.2019.14330.1143

Received: October 3, 2019; Accepted: December 1, 2019

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

ارزیابی مقایسه‌ای نشانگرهای CBDP و SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های

مختلف *Aegilops*

علیرضا پورابوقداره

*نویسنده مسئول: استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران،

تلفن: 09183830915، ایمیل: a.poraboghadareh@gmail.com

علیرضا اطمینان

استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران، تلفن: 09188316391،

ایمیل: alietminan55@yahoo.com

لیا شوشتری

استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران، تلفن: 09183300121،

ایمیل: L.shoostary@yahoo.com

ندا ملکی تبریزی

دانش آموخته دکتری، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، ایران،

تلفن: 09120475274، ایمیل: n.malekitabrizi@gmail.com

تاریخ دریافت: 1398/07/11، تاریخ پذیرش: 1398/09/10

چکیده

هدف: اهداف اصلی این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در 103 توده *Aegilops* و مقایسه کارایی دو نشانگر مولکولی SCoT (Start codon targeted) و CBDP (CAAT box-derived polymorphism) بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تنوع ژنتیکی 103 توده وحشی متعلق به هفت گونه *Aegilops* شامل هفت نمونه از *Ae. caudata*، 14 نمونه از *Ae. crassa*، 19 نمونه از *Ae. cylindrica*، 11 نمونه از *Ae. neglecta*، 20 نمونه از گونه *Ae. tauschii*، 15 نمونه از *Ae. triuncialis* و 17 نمونه از *Ae. umbellulata* استفاده شد با استفاده از 30 آغازگر SCoT و CBDP مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج: در مجموع 15 آغازگر SCoT و 15 آغازگر CBDP به ترتیب 164 و 141 قطعه چند شکل تکثیر کردند. متوسط کلیه شاخص‌های تعیین کننده کارایی نشانگرهای مولکولی برای آغازگرهای SCoT بیشتر از CBDP بود. هر دو سیستم نشانگری از مقدار PIC یکسانی برخوردار بودند. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد بیشترین سهم واریانس ژنتیکی مربوط به درون گونه‌ها می‌باشد. مقایسه پارامترهای ژنتیکی درون جمعیتی نشان داد که در بین گونه‌های مورد ارزیابی، *Ae. cylindrica* نسبت به سایر گونه‌ها از تنوع بیشتری برخوردار بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس هر یک از سیستم‌های نشانگری کلیه توده‌های مورد بررسی را به دو گروه اصلی تفکیک نمود. الگوی گروه‌بندی به وجود آمده بر اساس آغازگرهای CBDP روند فیلوژنتیکی مشخصی را بین برخی از گونه‌های *Aegilops* نشان داد، به طوری که نتایج تجزیه به مختصات اصلی (Principal Coordinates Analysis) گروه‌بندی به دست آمده را تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: هر دو سیستم نشانگری به خوبی قادر به شناسایی چند شکلی موجود در نمونه‌های مورد بررسی بودند، با این حال داده‌های CBDP الگوی گروه‌بندی دقیق‌تری را بر اساس روابط فیلوژنتیکی نشان داد. از اینرو استفاده از این نشانگرها به صورت مجزا و یا در ترکیب با سایر نشانگرها در بررسی روابط فیلوژنتیکی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: *Aegilops*، تنوع ژنتیکی، تجزیه به مختصات اصلی، نشانگرهای مولکولی هدفمند

مقدمه

کاهش تنوع و فرسایش ژنتیکی یکی از پیامدهای منفی استفاده از ارقام اصلاح شده دارای حداکثر عملکرد در سیستم کشاورزی نوین می‌باشد. از سوی دیگر، وقوع تغییرات اقلیمی به دلیل تاثیر مستقیم بر بروز تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، گرما و شوری می‌تواند تولید محصولات کشاورزی را با خطر جدی روبرو نماید و یکی از راه‌های مقابله با شرایط نامطلوبی که بواسطه این تغییرات ایجاد می‌شود بهره‌گیری از پتانسیل آلل‌های جدید در خزانه ژنی گیاهان می‌باشد (Warschefsky et al. 2014). با توجه به تنوع ژنتیکی محدود در گونه‌های زراعی اصلاح شده برای سازگاری به تغییرات اقلیمی و به دنبال آن شانس ضعیف دستیابی به آلل‌های جدید در این مواد گیاهی، استفاده از خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی می‌تواند یک منبع ژنی غنی و متنوع از آلل‌های جدید و ایده‌آل را برای به‌نژادگران فراهم آورد. در زمینه مطالعات صورت گرفته بر روی خویشاوندان وحشی گونه‌های زراعی، بیشترین مطالعات مربوط به اجداد وحشی گندم می‌باشد (Maxted and Kell 2009).

خویشاوندان وحشی گندم حاوی ژن‌های مفیدی برای مقاومت به آفات و بیماری‌ها، خشکی، شوری و حتی بهبود عملکرد و همچنین سازگاری به تنش‌های حاصل از تغییر شرایط آب و هوایی هستند و منبع ژنتیکی مهمی برای بهبود صفات مختلف زراعی و میزان پروتئین‌های موثر در کیفیت دانه محسوب می‌شوند (Hajjar and Hodgking 2007). از این‌رو، وجود چنین خویشاوندانی می‌تواند به‌عنوان ژرم پلاسما مفید در برنامه‌های به‌نژادی گندم مورد استفاده به‌نژادگران قرار گیرد (Schneider et

Aegilops و *Triticum* گونه‌های مختلف دو جنس (al. 2008; Nevo et al. 1998; Hajjar and Hodgking 2007) مهم‌ترین خویشاوندان وحشی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند که مستقیم یا غیر مستقیم به عنوان گونه‌های بخشنده ژنوم A، B و D معرفی شده‌اند (Weide et al. 2013; Kilian et al. 2007). پراکنش خویشاوندان وحشی گندم در دنیا به‌طور عمده محدود به تعدادی از کشورهای واقع در حوزه هلال حاصلخیز می‌باشد. مناطق جغرافیایی بین 20 و 40 درجه شرقی و 35 و 45 درجه شمالی شامل کشورهای ترکیه، سوریه، عراق، فلسطین و نواحی شمال غرب تا جنوب غربی ایران واقع در قسمت‌های شرقی هلال حاصلخیز به عنوان مرکز اصلی پراکنش خویشاوندان وحشی گندم از جمله گونه‌های مختلف *Aegilops* به شمار می‌روند (Feldman & Sears 1981). تنوع ژنتیکی، پایه و اساس هر برنامه اصلاحی بوده و مطالعه الگوپذیری تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی و اقلیمی توده‌ها نشان دهنده سازگاری احتمالی آنها با محیط‌های متفاوت می‌باشد. همچنین بررسی تنوع ژنتیکی امکان شناسایی ظرفیت‌های ژنتیکی مرتبط با اهداف اصلاحی مهم را فراهم می‌سازد (Mohammadi & Prasanna 2003). با توجه به وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون منابع ژرم پلاسمی خویشاوندان وحشی گندم در ایران، به نظر می‌رسد ارزیابی و توجه به این منابع ارزشمند طبیعی، مسیر تازه‌ای در بهره‌مندی از آنها در برنامه‌های به‌نژادی گندم ایجاد نماید (Etminan et al. 2018a). در این رابطه، نشانگرهای DNA ابزار مناسبی برای ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی و تجزیه تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم‌های گیاهی فراهم آورده‌اند و گزارش‌های متنوعی نیز از کاربرد انواع نشانگرهای مبتنی بر PCR در ارزیابی ژرم پلاسم گندم در اختیار است (Mousavifard et al. 2015; Etminan et al. 2016; Hamidi et al. 2014; Moradkhani et al. 2010; Naghavi et al. 2012, 2015). نشانگر SCoT به عنوان یکی از نشانگرهای نوظهور مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، بر اساس نواحی کوتاه حفاظت شده اطراف رمز آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی شده است. در این سیستم نشانگری از یک آغازگر 18 نوکلئوتیدی استفاده می‌شود و آشکار سازی چند شکلی توالی بین رمزهای آغاز (ATG) در ژن‌های گیاهی را ممکن می‌کند. نشانگرهای SCoT از چند شکلی و تکرارپذیری بالایی برخوردار هستند و در طراحی آغازگرهای این نشانگر به اطلاعات مربوط به توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست (Collard & Mackill 2009). در سالهای اخیر چندین سیستم نشانگری جدید مبتنی بر PCR توسعه یافته است که نشانگرهای CBDP از جمله آنها می‌باشد. چند شکلی ایجاد شده در این سیستم نشانگری بر اساس نواحی حفاظت شده پروموتور ژن‌ها و با استفاده از یک آغازگر واحد می‌باشد. طول آغازگرهای CBDP به‌طور معمول 18 نوکلئوتید است و هر آغازگر از سه بخش شامل توالی CCAAT به‌عنوان هسته‌ی اصلی و ثابت، یک توالی 10 تا 11 نوکلئوتیدی پیش از این توالی حفاظت شده و دو تا سه نوکلئوتید انتخابی در انتهای 3 آغازگر تشکیل شده است. هزینه مناسب، تکرارپذیری بالا و چند شکلی قابل قبول، این نشانگرها را به گزینه مناسبی برای انجام مطالعات مرتبط با تنوع ژنتیکی، ساختار جمعیت و تهیه نقشه‌های ژنتیکی تبدیل نموده است (Singh et al. 2014). از نشانگرهای CBDP بطور

موفقیت آمیزی در بررسی تنوع ژنتیکی و تجزیه ساختار جمعیت در انواع ژرم پلاسما زراعی و وحشی گندم استفاد شده است (Etminan et al. 2018b).

تاکنون مطالعات فراوانی در رابطه با ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف صورت گرفته است. به عنوان مثال، نتایج استفاده از نشانگرهای SSR به منظور بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف *Ae. tauschii* نشان دهنده تنوع بیشتر در توده‌های نمونه برداری شده از نواحی شمالی ایران نسبت به سایر مناطق بوده است (Naghavi et al. 2010). نتایج یک پژوهش دیگر نشان می‌دهد که جمعیت‌های گندم اینکورن *T. monococcum*، *T. boeoticum* و *T. urartu* مناطق شمال غرب ایران از تنوع بیشتری در مقایسه با جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق غرب کشور برخوردار هستند (Kharestani et al. 2013). در رابطه با بررسی و مقایسه کارایی نشانگرهای مختلف نیز گزارش‌های متعددی موجود است. در مقایسه نشانگرهای AFLP، RAPD و SSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی در توده‌های مختلف *T. boeoticum* مشخص شد که نشانگرهای SSR نسبت به دو سیستم نشانگری دیگر از میزان اطلاعات چندشکلی بالاتری برخوردار می‌باشند (Naghavi et al. 2009). در مطالعه مقایسه‌ای نشانگرهای CBDP، SCOT و ISSR در ارزیابی تنوع گندم *T. durum* گزارش شد که استفاده از نشانگرهای هدفمند ژنی مانند CBDP و SCOT با ایجاد چندشکلی زیاد با قابلیت اعتماد بالا نشانگرهای مناسبی می‌باشند (Heidari et al. 2017). بررسی مقایسه‌ای نشانگرهای CDDP¹، SCOT و ISSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی *T. aestivum* (Hamidi et al. 2014)، مقایسه دو نشانگر CDDP و DAMD² در ارزیابی تنوع ژنتیکی میخک (Saidi et al. 2018)، کاربرد مقایسه‌ای نشانگرهای AFLP، ISSR و RAPD در بررسی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی لاله واژگون (Badfar-Chaleshtari et al. 2012)، مقایسه کارایی نشانگرهای SCOT و ISSR در مطالعه ارقام گندم دوروم (Etminan et al. 2016) و مقایسه دو نشانگر SRAP و ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسما گیاه دارویی *Tetrastigma hemsleyanum* (Peng et al. 2015) نمونه‌های دیگری از بررسی‌های مقایسه‌ای نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسماهای گیاهی می‌باشند. با در نظر داشتن مطالب فوق هدف از اجرای این تحقیق بررسی تنوع درون و بین گونه‌های مختلف *Aegilops* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران و همچنین مقایسه کارایی دو نشانگر CBDP و SCOT در ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق شامل 103 توده *Aegilops* از گونه‌های *Ae. caudata*، *Ae. tauschii*، *Ae. neglecta*، *Ae. cylindrica*، *Ae. triuncialis*، *Ae. umbellulata* و *Ae. crassa* بود که بذور آن‌ها از بانک ژن

1. Conserved DNA-derived Polymorphism
2. Directed amplification of minisatellite DNA

غلات دانشگاه ایلام (IUGB) تهیه و مشخصات آن در جدول 1 ارایه شده است. پس از کشت بذرها در سینی‌های مخصوص نشاء در گلخانه و تولید گیاهچه، استخراج DNA ژنومی از بافت مزوفیل برگ‌های جوان بر اساس روش CTAB انجام شد (Doyle & Doyle 1987). کیفیت DNA استخراجی توسط الکتروفورز ژل آگارز 0/8 درصد مورد بررسی قرار گرفت. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌های مختلف از تعداد 30 آغازگر مختلف شامل 15 آغازگر SCoT و 15 آغازگر CDBP استفاده شد که تمامی آن‌ها قادر به تولید باندهای چندشکل و قابل امتیازدهی بودند. توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول 2 ارایه شده است. پس از بهینه‌سازی شرایط تکثیر و تعیین دمای اتصال آغازگرهای منتخب، اجزای واکنش PCR شامل دو میکرولیتر DNA ژنومی، دو میکرولیتر آغازگر (غلظت 10 نانوگرم بر میکرولیتر)، شش میکرولیتر آب دیونیزه و 10 میکرولیتر مستر میکس (2x) در حجم نهایی 20 میکرولیتر بود و کلیه واکنش‌های تکثیر در دستگاه ترموسایکلر Biorad (مدل T-100) انجام شد. برنامه دمایی هر واکنش شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به مدت چهار دقیقه و 35 چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی به مدت یک دقیقه در دمای 94 درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت یک دقیقه در دمای بهینه‌سازی شده برای آغازگر مربوطه و توسعه آغازگر (پلیمریزاسیون) به مدت 90 ثانیه در دمای 72 درجه سانتی‌گراد بود. پس از انجام واکنش تکثیر، محصول PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگارز 1/5 درصد تفکیک و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با Safeview انجام و عکس‌برداری از آنها صورت گرفت. پس از امتیازدهی الگوهای باندهای براساس معیار یک (وجود باند) و صفر (عدم وجود باند)، مقادیر هر یک از شاخص‌های تعیین‌کننده کارایی سیستم نشانگری مانند تعداد کل قطعات تکثیر شده (NTB^1)، تعداد قطعات چندشکل (NPB^2)، محتوای چندشکلی (PIC^3)، شاخص نشانگری (MI^4) و قدرت تفکیک (Rp^5) برای هر آغازگر محاسبه شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) و محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx انجام شد (Peakall & Smouse 2006). مقادیر فواصل ژنتیکی بین جفت نمونه‌ها بر اساس ضریب فاصله جاکارد محاسبه و به منظور گروه‌بندی نمونه‌ها، آنالیزهای مربوطه شامل تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) و تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbor-joining با استفاده از نرم‌افزار MEGA ver.5.1 صورت گرفت (Tamura et al. 2011).

نتایج و بحث

شاخص‌های تعیین‌کننده کارایی سیستم نشانگری: اطلاع از میزان توانمندی سیستم‌های نشانگری در نشان دادن سطح چندشکلی موجود در نمونه‌های مورد بررسی یکی از کارهای اولیه جهت انتخاب نوع سیستم نشانگری در برنامه‌های

1. Total amplified bands
2. Number of polymorphic bands
1. Polymorphism information content
4. Marker index
5. Resolving power

مبتنی بر اصلاح مولکولی است. در این راستا شاخص‌های مختلفی همچون محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)، قدرت تفکیک (Rp)، شاخص نشانگر (MI)، تعداد کل قطعات تکثیری (NTB) و تعداد قطعات تکثیری چند شکل (NPB) برای بررسی و مقایسه کارایی انواع نشانگرهای مولکولی و آغازگرها معرفی و ارایه شده است (Anderson et al. 1993; Powell et al. 1996; Altintas et al. 2008; Kumar et al. 2009).

جدول 1. اطلاعات مربوط به 103 توده آزیلوپس ارزیابی شده

Table 1. Relevant information on the 103 tested *Aegilops* accessions

1 IUGB-	22 IUGB-	43 IUGB-	64 IUGB-	85 IUGB-
2 IUGB-	23 IUGB-	44 IUGB-	65 IUGB-	86 IUGB-
3 IUGB-	24 IUGB-	45 IUGB-	66 IUGB-	87 IUGB-
4 IUGB-	25 IUGB-	46 IUGB-	67 IUGB-	88 IUGB-
5 IUGB-	26 IUGB-	47 IUGB-	68 IUGB-	89 IUGB-
6 IUGB-	27 IUGB-	48 IUGB-	69 IUGB-	90 IUGB-
7 IUGB-	28 IUGB-	49 IUGB-	70 IUGB-	91 IUGB-
8 IUGB-	29 IUGB-	50 IUGB-	71 IUGB-	92 IUGB-
9 IUGB-	30 IUGB-	51 IUGB-	72 IUGB-	93 IUGB-
10 IUGB-	31 IUGB-	52 IUGB-	73 IUGB-	94 IUGB-
11 IUGB-	32 IUGB-	53 IUGB-	74 IUGB-	95 IUGB-
12 IUGB-	33 IUGB-	54 IUGB-	75 IUGB-	96 IUGB-
13 IUGB-	34 IUGB-	55 IUGB-	76 IUGB-	97 IUGB-
14 IUGB-	35 IUGB-	56 IUGB-	77 IUGB-	98 IUGB-
15 IUGB-	36 IUGB-	57 IUGB-	78 IUGB-	99 IUGB-
16 IUGB-	37 IUGB-	58 IUGB-	79 IUGB-	100 IUGB-
17 IUGB-	38 IUGB-	59 IUGB-	80 IUGB-	101 IUGB-
18 IUGB-	39 IUGB-	60 IUGB-	81 IUGB-	102 IUGB-
19 IUGB-	40 IUGB-	61 IUGB-	82 IUGB-	103 IUGB-
20 IUGB-	41 IUGB-	62 IUGB-	83 IUGB-	
21 IUGB-	42 IUGB-	63 IUGB-	84 IUGB-	

در مطالعه حاضر نیز جهت بررسی و مقایسه دو سیستم نشانگری SCoT و CBDP، هر یک از شاخص‌های فوق برای آغازگرهای استفاده شده محاسبه شد که نتایج آن در جدول 2 نشان داده شده است. آغازگرهای SCoT استفاده شده در این مطالعه در مجموع 166 قطعه تکثیر کردند که از بین آن‌ها 161 قطعه چندشکل بودند. در مقابل آغازگرهای CBDP نیز 144 قطعه تکثیر کردند که کلیه آن‌ها چندشکل بودند. علاوه بر این، آغازگرهای SCoT نسبت به CBDP از نظر متوسط قطعات تکثیری از چند شکلی بیشتری برخوردار بودند (10/87 در مقابل 9/40). دامنه تغییرات شاخص PIC در هر دو سیستم نشانگری مشابه و متوسط آن در هر دو سیستم SCoT و CBDP برابر با 0/36 بود. از اینرو به نظر می‌رسد این دو سیستم نشانگری دارای قابلیت یکسانی در ارائه میزان چند شکلی موجود در مجموعه ژرم‌پلاسمی مورد ارزیابی بودند. شاخص قدرت تفکیک در هر دو سیستم

نشانگری دارای دامنه تغییرات وسیعی بود، با این حال آغازگرهای SCoT نسبت به CDBP از متوسط Rp بالاتری برخوردار بودند (6/40 در مقابل 5/86). از نظر شاخص MI نیز اگرچه برخی از آغازگرهای CDBP مقادیر بالایی را نشان دادند (مانند CDBP-7) با این حال، متوسط MI برای آغازگرهای SCoT (5/35) بیشتر از آغازگرهای CDBP (4/30) بود. بین دو نمونه نشان می‌دهد (Powell et al. 1996). علاوه بر این، دو شاخص Rp و MI نیز در کنار PIC می‌توانند در تعیین کارایی یک سیستم نشانگری مفید واقع شوند، زیرا این دو شاخص به نحوی به قابلیت یک آغازگر در نشان دادن چند شکلی قطعات و قابل امتیازدهی اشاره دارند (Prevost & Wilkinson 1999). به طور کلی با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که در بین دو سیستم ارزیابی شده، آغازگرهای SCoT نسبت به CDBP قابلیت بالاتری در تولید قطعات تکثیری و چندشکلی بودن دارا می‌باشند که این نتیجه می‌تواند در بکارگیری آن در برنامه‌های مبتنی بر اشیاع نقشه‌های ژنتیکی مؤثر باشد. در این راستا Etminan et al. (2016) نیز کارایی سیستم نشانگری SCoT را در مقایسه با ISSR در ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در مجموعه‌ای از ارقام گندم دوروم مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که آغازگرهای SCoT در شناسایی چندشکلی و تمایز ارقام مختلف از قابلیت بهتری برخوردارند. علاوه بر این، در مطالعه دیگر این محققان کارایی این سیستم نشانگری را در گروه‌بندی توده‌های مختلفی از گیاه مریم گلی بررسی کردند و اظهار داشتند که آغازگرهای SCoT بواسطه اینکه مبتنی بر نواحی حفاظت شده‌ای از ژنوم هستند نسبت به آغازگرهای ISSR قابلیت بالاتری در گروه‌بندی نمونه‌های مختلف مبتنی بر ساختار ژنومی دارند (Etminan et al. 2018c). در یک مطالعه دیگر (Pour-Aboughadareh et al. 2018b) نیز به منظور گروه بندی گونه‌های ژرم‌پلاسمی گندم واجد ژنوم‌های متفاوت از مجموعه‌ای از آغازگرهای SCoT استفاده کردند و نشان دادند این سیستم نشانگری در تمایز نمونه‌های مختلف بر اساس ساختار ژنومی از کارایی بیشتری برخوردار است، به طوری که تمامی نمونه‌های مربوط به هر گونه در یک گروه مجزا قرار گرفتند.

تنوع ژنتیکی و شاخص‌های مرتبط با آن: بر اساس تجزیه واریانس ملکولی تنوع ژنتیکی مشاهده شده در مجموعه مورد ارزیابی به دو بخش تنوع بین و درون گونه‌های تفکیک شد که نتایج آن در شکل 1 نشان داده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌های *Aegilops* با استفاده از 30 آغازگر SCoT و CDBP مشاهده شد. همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌شود میزان تنوع بین و درون گونه‌ای برآورد شده بر اساس هر یک نشانگرها متفاوت است.

جدول 2. مشخصات آغازگرهای SCoT و CDBP استفاده شده در این مطالعه به همراه شاخص‌های

آگاهی بخش محاسبه شده آن‌ها

Table 2. Characteristics of SCoT and CDBP primers used in this study along with their calculated informativeness parameters for them

آغازگر	توالی آغازگر	TAB	NPB	PIC	MI	Rp
Primer	Primer sequence					
SCoT-2	CAACAATGGCTACCACCC	8	8	0.362	3.97	4.43
SCoT-3	CAACAATGGCTACCACCG	10	10	0.362	4.84	4.43
SCoT-5	CAACAATGGCTACCACGA	8	8	0.341	3.80	5.69
SCoT-6	CAACAATGGCTACCACGC	11	11	0.375	5.21	5.75
SCoT-7	CAACAATGGCTACCACGC	12	12	0.373	5.79	6.56
SCoT-12	ACGACATGGCGACCAACG	13	13	0.355	6.40	6.93
SCoT-13	ACGACATGGCGACCATCG	11	11	0.367	5.34	8.19
SCoT-14	ACGACATGGCGACCAACG	11	11	0.366	5.35	6.04
SCoT-15	ACGACGTGGCGACCGCGA	13	12	0.375	5.92	8.04
SCoT-16	CCATGGCTACCACCGGCC	12	12	0.366	5.69	7.47
SCoT-17	CATGGCTACCACCGGCC	11	11	0.372	5.30	6.69
SCoT-18	ACCATGGCTACCACCGCC	11	11	0.371	5.39	6.95
SCoT-19	GCAACAATGGCTACCACC	13	13	0.361	6.34	5.69
SCoT-20	AACCATGGCTACCAACGC	12	11	0.370	5.99	7.32
SCoT-21	CACCATGGCTACCACCAT	10	9	0.345	4.96	5.81
	Mean	11.067	10.867	0.364	5.35	6.40
CDBP-1	TGAGCACGATCCAATAGC	10	10	0.349	4.97	6.04
CDBP-2	TGAGCACGATCCAATAAT	9	9	0.343	4.49	4.69
CDBP-3	TGAGCACGATCCAATACC	9	9	0.372	4.49	6.78
CDBP-4	TGAGCACGATCCAATAAG	10	10	0.370	4.98	6.83
CDBP-5	TGAGCACGATCCAATCTA	9	9	0.356	4.41	5.34
CDBP-6	TGAGCACGATCCAATCAG	9	9	0.357	4.46	6.27
CDBP-7	TGAGCACGATCCAATCGA	12	12	0.358	5.78	8.62
CDBP-8	TGAGCACGATCCAATCGG	9	9	0.357	4.44	5.53
CDBP-9	TGAGCACGATCCAATGAT	9	9	0.364	4.15	6.25
CDBP-10	TGAGCACGATCCAATGTT	10	10	0.365	4.94	4.29
CDBP-11	TGAGCACGATCCAATTGC	8	8	0.375	3.15	3.88
CDBP-12	TGAGCACGATCCAATATA	11	11	0.370	4.20	6.15
CDBP-13	TGAGCACGATCCAATGAG	9	9	0.374	3.31	5.28
CDBP-14	TGAGCACGATCCAATGCG	9	9	0.371	3.55	6.77
CDBP-15	TGAGCACGATCCAATTGA	8	8	0.362	3.21	5.15
	Mean	9.40	9.40	0.363	4.30	5.86

TAB، NPB، PIC، MI و Rp به ترتیب بیانگر تعداد کل قطعات تکثیری، تعداد قطعات تکثیری چندشکل، محتوای چندشکلی،

شاخص نشانگری و قدرت تفکیک می‌باشند.

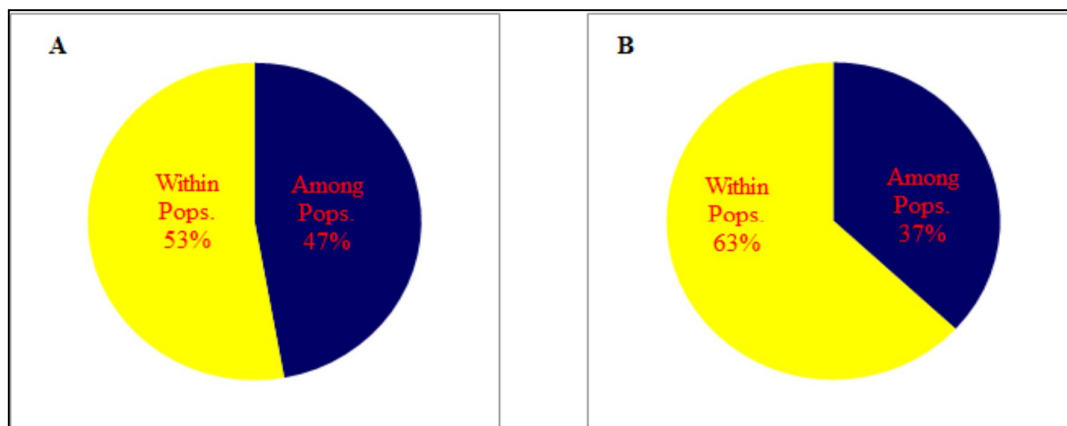
اگرچه هر یک از دو نشانگر استفاده شده سهم بالایی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای را نشان دادند، با این حال آغازگرهای

SCoT موفق به ارائه میزان تنوع درون گونه‌ای بیشتری بودند (63 درصد در مقابل 53 درصد). در این راستا این نتایج با یافته‌های

(2016) Tiwari et al. مطابقت داشت. در واقع این محققان کارایی چهار سیستم نشانگری RAPD، ISSR، SCoT و

CBDP را در ارزیابی ساختار جمعیت، گروه‌بندی و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های از گیاه نایب *Andrographis*

آغازگرهای SCoT نسبت به دیگر نشانگرها بیشتر استمقادیر میانگین هر یک از شاخص‌های ژنتیکی همچون تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na^1)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne^2)، شاخص شانون (I^3) و تنوع ژنی نی (He^4)، بر اساس الگوی قطعات به دست آمده از هر یک سیستم‌های نشانگری محاسبه و در شکل 3 نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، آغازگرهای CBDP در مجموع مقادیر بالاتری از هر یک از شاخص‌های ژنتیکی را در مقایسه با آغازگرهای SCoT نشان دادند. علاوه بر این در صد مکان‌های چندشکل (PPL^5) بدست آمده توسط آغازگرهای CBDP بالاتر از SCoT بود. مقادیر هر یک از شاخص‌های ژنتیکی برای گونه‌های مختلف *Aegilops* محاسبه و نتایج آن در شکل 4 ارائه شده است. بر اساس آغازگرهای SCoT، گونه‌های *Ae. umbellulata* و *cylindrica* از نظر تمامی پارامترهای ژنتیکی نسبت به دیگر گونه‌های آزیلوپس از مقادیر بالاتری برخوردار بودند (شکل 4).



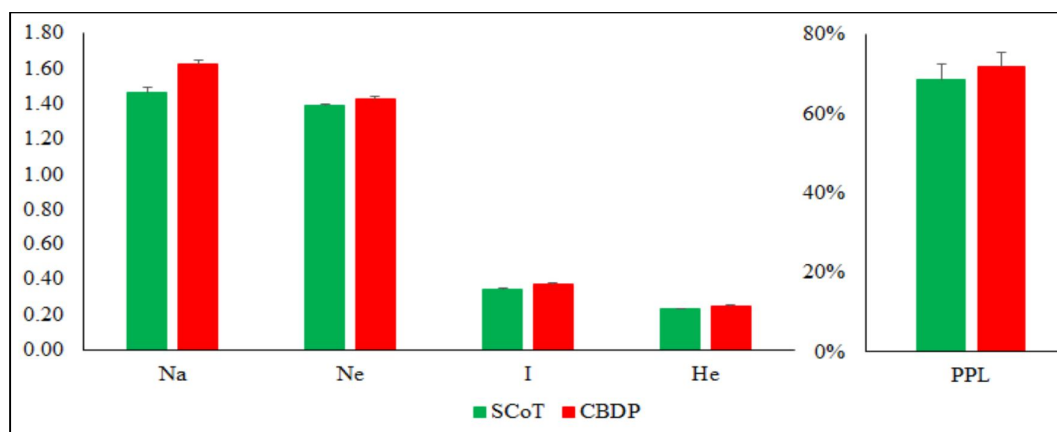
شکل 1. برآورد نسبت واریانس ژنتیکی در بین و درون گونه‌های مختلف *Aegilops* بر اساس نشانگرهای

SCoT (B) و CBDP (A)

Figure 1. Estimated of the genetic variance within and among of different *Aegilops* species based on (CBDP (A) and SCoT (B) markers.

1. The observed number of alleles
2. Effective number of alleles
3. Shannon's information index
4. Nei's gene diversity
5. Percentage of polymorphic loci

بر اساس داده‌های حاصل از آغازگرهای CBDP نیز دو گونه *Ae. neglecta* و *Ae. cylindrica* نسبت به دیگر گونه‌های دارای بالاترین مقادیر مربوط به هر یک از پارمترهای ژنتیکی بودند. از این رو با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که سه گونه *Ae. neglecta*، *Ae. cylindrica* و *Ae. umbellulata* دارای سطح بالایی از تنوع درون گونه‌ای بوده که این تنوع ممکن است بواسطه حضور برخی از آلل‌ها و ژن‌های مختلف در زمینه ژنتیکی آن‌ها باشد. پیش از این، مطالعات متعددی در رابطه با ارزیابی تنوع موجود در گونه‌های خویشاوندی گندم و قابلیت آن‌ها در مقابله با انواعی از تنش‌های محیطی صورت گرفته است که در هر یک از آن‌ها به پتانسیل اصلاحی این منابع ژرمپلاسمی اشاره شده است. به عنوان مثال، در مطالعاتی که توسط Ahmadi et al. (2018 a, b) در رابطه با غربال منابع ژرمپلاسمی گندم در شرایط تنش خشکی و شوری شدید بر روی گونه‌های مختلف *Aegilops* و *Triticum* صورت گرفت، مشخص شده است که گونه *Ae. cylindrica* یکی از متحمل‌ترین منابع ژرمپلاسمی در پاسخ به تنش‌ها می‌باشد. علاوه بر این ظرفیت بالای فتوسنتزی این گونه در شرایط تنش خشکی منجر به این شده است که *Ae. cylindrica* به عنوان یک خویشاوند ایده‌آل گندم برای یافتن ژن‌ها و حتی آلل‌های مرتبط با القای تنش خشکی و شوری در نظر گرفته شود (Pour-Aboughadareh et al. 2017a). از این رو نتایج به دست آمده در این پژوهش به خوبی مؤید این است که *Ae. cylindrica* یک منبع ژنی بسیار متنوع است که تلاش برای یافتن ژن‌های مفید در این گونه دور از انتظار نیست.



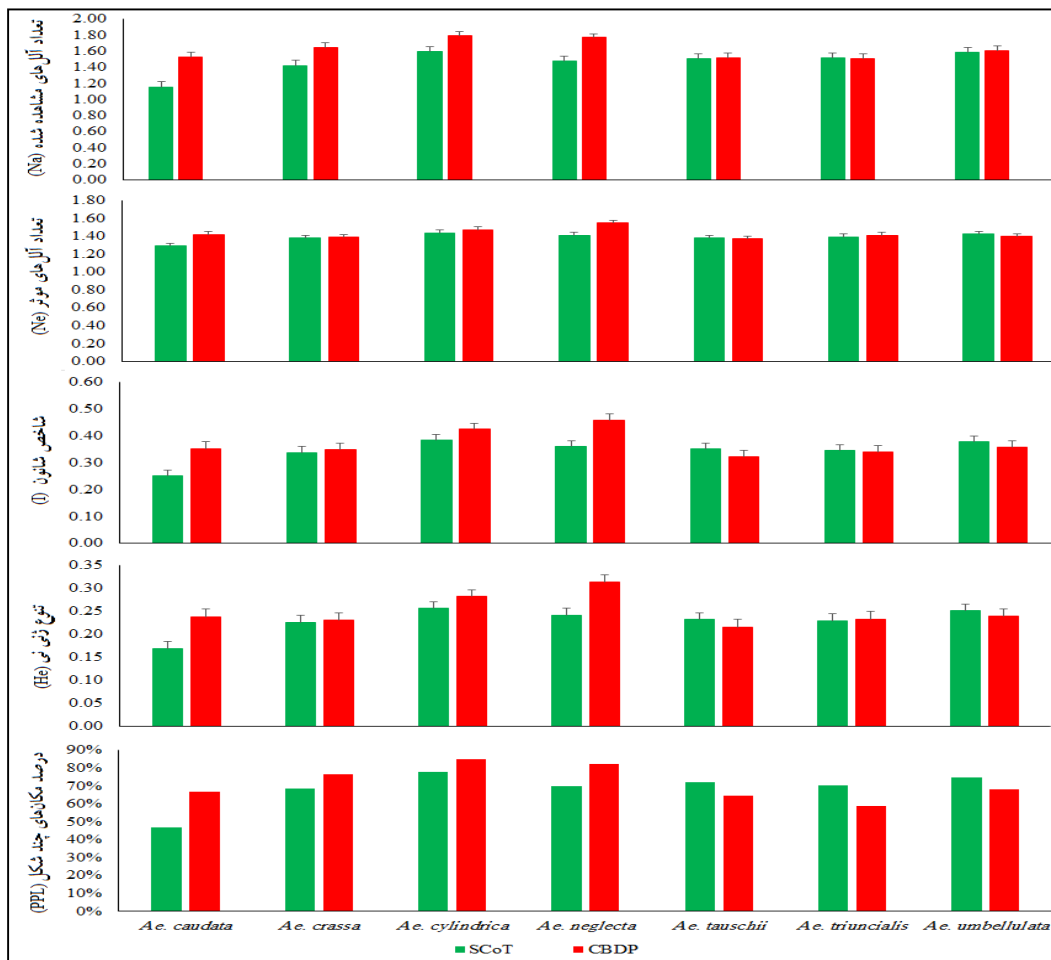
شکل 2. مقادیر میانگین شاخص‌های ژنتیکی برآورد شده بر اساس نشانگرهای SCoT و CBDP در 103 توده *Aegilops*. Na، Ne، I، He و PPL به ترتیب نشان‌دهنده تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های مؤثر، شاخص شانون، تنوع ژنی و درصد مکان‌های چندشکلی می‌باشند.

Figure 2. The mean values of estimated genetic parameters base on SCoT and CBDP markers in 103 *Aegilops* accession. Na, Ne, I, He and PPL indicate the observed number of alleles, effective number of alleles, Shannon's information index, Nei's genetic diversity, and percentage of polymorphic loci, respectively

علاوه بر این، بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که آغازگرهای SCoT قادر به تشخیص شش قطعه تکثیر شده اختصاصی در گونه‌های *Ae. umbellulata* و *Ae. neglecta* *Ae. cylindrica* *Ae. crassa* *Ae. caudata* (به ترتیب 1، 1، 1 و 1 قطعه) بود، در حالی که آغازگرهای CBDP هیچگونه قطعه تکثیری اختصاصی را در گونه‌های بررسی شده نشان ندادند. بنابراین این نتیجه بیانگر این است که سیستم SCoT علاوه بر تشخیصی سطح بالایی از چندشکلی و تنوع درون گونه‌ای قابلیت ویژه‌ای در یافتن قطعات اختصاصی دارد.

گروه‌بندی توده‌های ارزیابی شده: بر اساس داده‌های مربوط به آغازگرهای SCoT این ضریب بین 0/12 و 0/83

با میانگین 0/63 متغیر بود. کمترین فاصله ژنتیکی بین دو نمونه از گونه *Ae. cylindrica* (0/12) و بیشترین میزان آن بین دو نمونه از گونه‌های *Ae. tauschii* و *Ae. crassa* مشاهده شد (0/83). بر اساس داده‌های به دست آمده از آغازگرهای CBDP ضریب فاصله ژنتیکی بین نمونه‌های مورد مطالعه بین 0/02 و 0/82 با میانگین 0/50 متغیر بود. دو نمونه مربوط به گونه *Ae. tauschii* و *Ae. crassa* بیشترین فاصله ژنتیکی (0/82) و دو نمونه مربوط به *Ae. umbellulata* کمترین میزان فاصله ژنتیکی (0/02) را نسبت به یکدیگر نشان دادند (جدول ضرایب فواصل ژنتیکی نشان داده نشده است). گروه‌بندی نمونه‌های بررسی شده با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbor-joining و بر اساس ماتریس ضرایب انجام و دندروگرام حاصل از آن برای هر یک از سیستم‌های نشانگری به صورت مجزا در شکل‌های 4 و 5 نشان داده شده است. بر اساس آغازگرهای SCoT کلیه نمونه‌های ارزیابی شده در دو گروه اصلی قرار گرفتند (شکل 4). گروه اول (GI) شامل نمونه‌های مربوط به گونه‌های *Ae. neglecta* *Ae. tauschii* *Ae. caudata* *Ae. crassa* و چهار نمونه از گونه *Ae. cylindrica* بود. سایر نمونه‌های مربوط به گونه *Ae. cylindrica* به همراه نمونه‌های مربوط به *Ae. triuncialis* و *Ae. umbellulata* نیز در گروه دوم (GII) قرار گرفتند. به‌طور مشابه بر اساس داده‌های به دست آمده از آغازگرهای CBDP نیز نمونه‌های مختلف *Aegilops* را در دو گروه مختلف قرار گرفتند با این تفاوت که گروه اول تنها برگیرنده نمونه‌های *Ae. tauschii* بود و گروه دوم سایر نمونه‌های مربوط به دیگر گونه‌های *Aegilops* را در برداشت (شکل 5). با توجه به الگوی گروه‌بندی به دست آمده از دو سیستم نشانگری استفاده شده واضح است که الگوی حاصل از سیستم CBDP نسبت به SCoT به طور مطلوب‌تری گونه‌های مختلف را گروه‌بندی کرده است. در گروه دوم دندروگرام مبتنی بر داده‌های CBDP نمونه‌های مربوط به دو گونه *Ae. cylindrica* و *Ae. caudata* در یک زیر گروه قرار داشتند که این بیانگر وجود یک رابطه فیلوژنتیکی بین این دو گونه است زیرا *Ae. caudata* والد دهنده ژنوم C به *Ae. cylindrica* می‌باشد (Badaeva et al. 2004). از طرف دیگر قرارگیری دو گونه *Ae. umbellulata* و *Ae. triuncialis* در کنار یکدیگر نیز بیانگر وجود چنین رابطه‌ای بین این دو گونه می‌باشد به‌طوری که *Ae. Umbellulata* تنها والد دهنده ژنوم U به *Ae. triuncialis* می‌باشد (Badaeva et al. 2004).

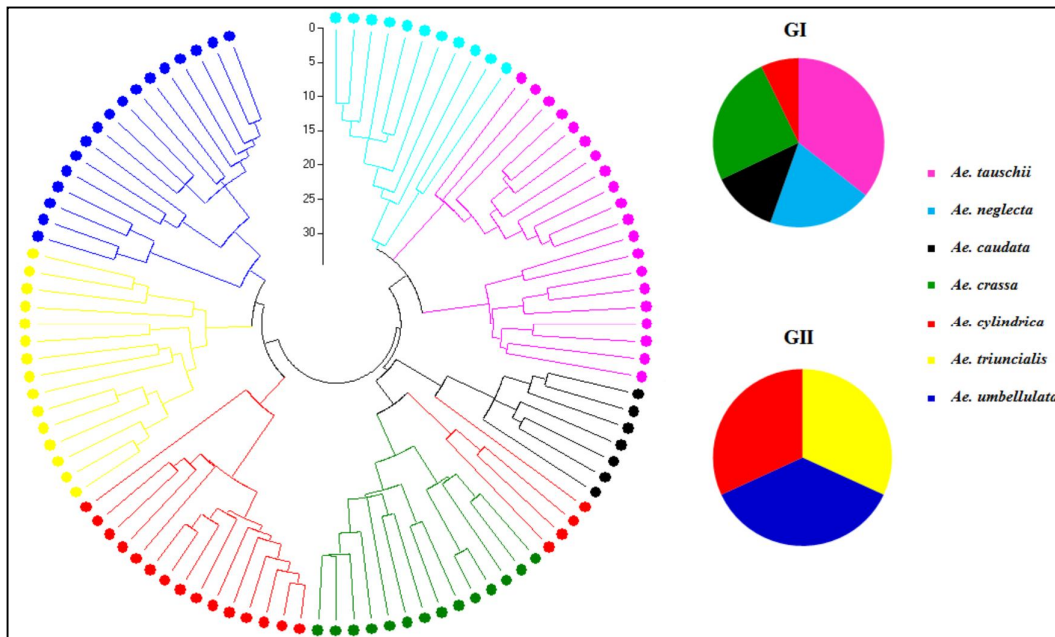


شکل 3. مقادیر شاخص های ژنتیکی محاسبه شده در گونه های مختلف *Aegilops* بر اساس نشانگرهای SCoT و CBDP

Figure 3. The estimated genetic parameters in different *Aegilops* species based on SCoT and CBDP marker

علاوه براین، قرارگیری دو گونه *Ae. neglecta* و *Ae. crassa* در کنار هم می تواند بواسطه حضور ژنوم M در این گونه باشد. به منظور تأیید الگوی گروه بندی به دست آمده از تجزیه خوشه ای، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) صورت گرفت. بر اساس داده های حاصل از آغازگرهای CBDP دو مؤلفه نخست 42/11 درصد از تنوع ژنتیکی موجود در نمونه های ارزیابی شده را توجیه کردند (شکل A-6) در حالی که بر اساس داده های به دست آمده از آغازگرهای SCoT مشخص شد دو مؤلفه نخست تماماً قادر به توجیه 25/73 درصد از کل تنوع ژنتیکی موجود در 103 نمونه ژرم پلاسمی *Aegilops* بودند (شکل B-6). اگرچه بر اساس هر یک از دو سیستم نشانگری روند پراکنش کاملاً مشخصی از نمونه ها در نمودار بای پلات ترسیم شده بر اساس دو مؤلفه نخست

مشاهده نشد، با این حال، الگوی پراکنش به دست آمده از آغازگرهای CDBP تا حدودی واضح تر بود و با نتایج به دست آمده از تجزیه تجزیه خوشه‌ای مطابقت نشان داد.

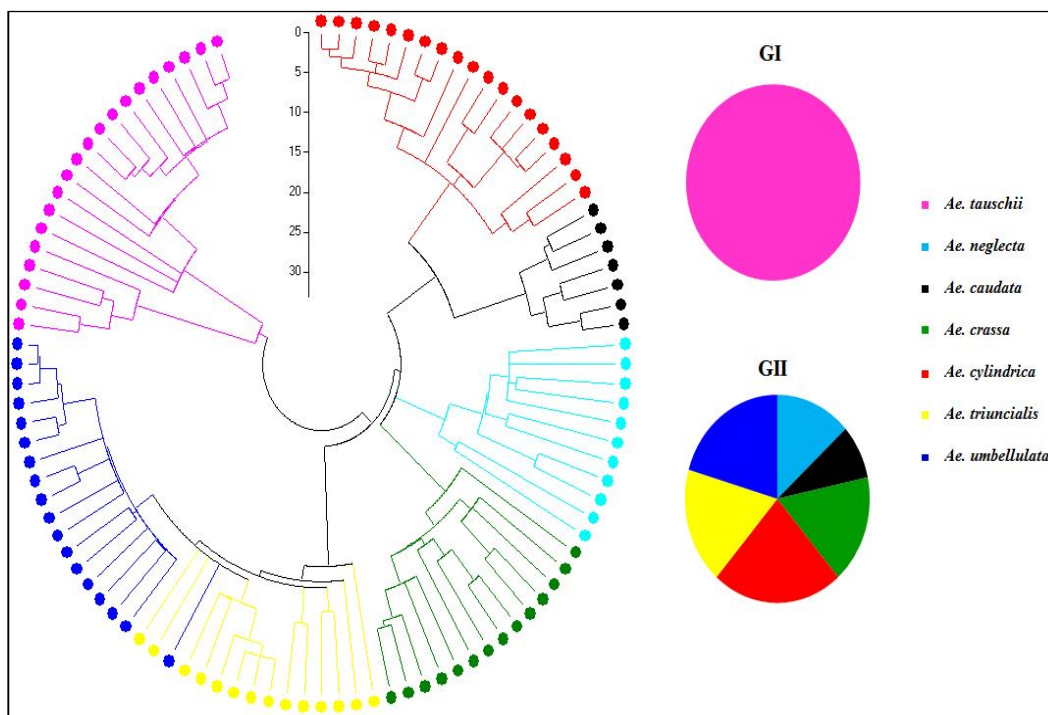


شکل 4. نمودار دندروگرام ترسیم شده با استفاده از ضرایب جاکارد و روش Neighbor-joining بر اساس

آغازگرهای SCoT

Figure 4. Dendrogram rendered using Jaccard's coefficients and Neighbor-joining method based on SCoT primers

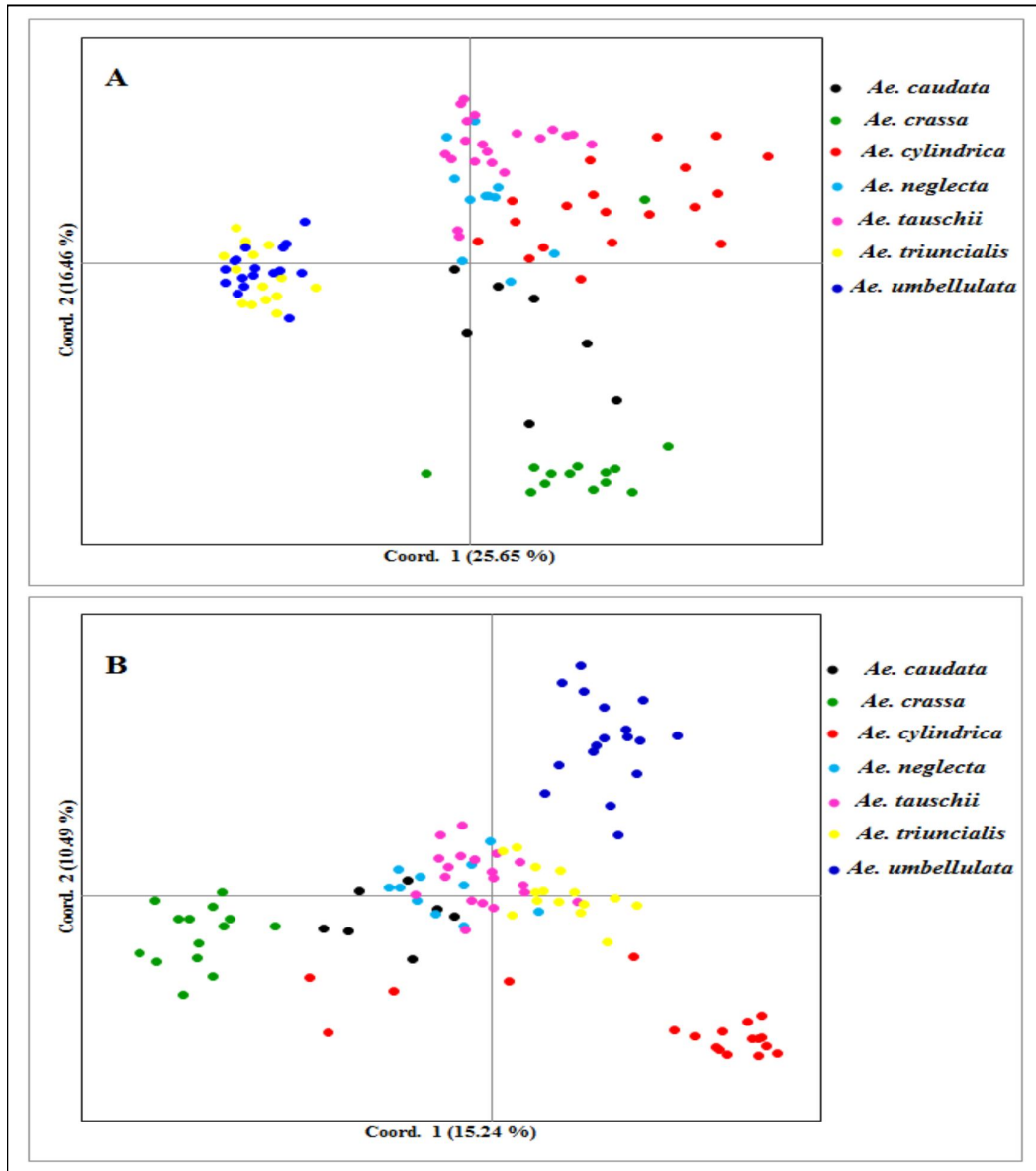
در سال‌های اخیر پیشرفت در ابزارهای مولکولی منجر به توسعه بسیاری از سیستم‌های نشانگری جدید و مبتنی بر ژن مانند SCoT، CDBP، AADs، CDDP و غیره شده است (Poczai et al. 2013). اگرچه استفاده از این نوع نشانگرها به طور کامل در دامنه گسترده‌ای از گیاهان فراگیر نشده است، با این حال تاکنون مطالعات متعددی در زمینه بکارگیری از این سیستم‌های نشانگری برای تجزیه و تحلیل‌های تنوع ژنتیکی صورت گرفته است (Naghavi et al. 2009; Badfar-Chaleshtari et al. 2012; Peng et al. 2015; Tiwari et al. 2016; Saidi et al. 2018; Qaderi et al. 2019). با این وجود، در مورد کارایی و مقایسه نشانگرهای جدید با سایر نشانگرهای موجود اطلاعات محدودی موجود می‌باشد. در این پژوهش سعی شد که کارایی دو سیستم نشانگری SCoT و CDBP با یکدیگر مورد مقایسه قرار گیرند تا علاوه بر اطلاع از سطح تنوع ژنتیکی موجود در برخی از گونه‌های ژرمپلاسمی گندم مقایسه نسبی بین دو نشانگر استفاده شده نیز صورت گیرد. زیرا در صورت وجود چنین اطلاعاتی زمینه استفاده از نشانگرهای مبتنی بر ژن در سایر مطالعات ژنتیکی مانند تجزیه ارتباطی، نقشه‌یابی‌های ژنتیکی و اشباع نقشه‌های ژنتیکی فراهم آید.



شکل 5. نمودار دندروگرام ترسیم شده با استفاده از ضرایب جاکارد و روش Neighbor-joining بر اساس آغازگرهای CBDP

Figure 5. Dendrogram rendered using Jaccard's coefficients and Neighbor-joining method based on CBDP primers

نتیجه گیری: به طور کلی نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که اگرچه آغازگرهای SCoT نسبت به CBDP در مجموع از نظر شاخص‌های آگاهی بخش سیستم نشانگری دارای نمود بهتری بودند، با این حال متوسط شاخص PIC در هر دو سیستم برابر بود. همچنین هر دو سیستم نشانگری به خوبی قادر به نشان دادن سطح بالایی از تنوع درون گونه‌ای بودند. مقادیر برخی از پارامترهای ژنتیکی محاسبه شده برای هر یک از گونه‌های مورد بررسی با استفاده از آغازگرهای CBDP بیشتر از SCoT بود، با این وجود آغازگرهای SCoT به خوبی قادر بودند چند قطعه اختصاصی را در برخی از گونه‌های *Aegilops* به خوبی شناسایی کنند. علاوه بر این، پراکنش نمونه‌های مختلف و الگوی گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از آغازگرهای CBDP نسبت به SCoT دارای روند واضح‌تری بود به طوری که گونه‌های موجود در هر زیر گروه از روند فیلوژنتیکی صحیحی برخوردار بودند. از نظر تنوع درون گونه‌ای نیز گونه *Ae. cylindrica* نسبت به سایر گونه‌ها از میزان تنوع بالاتری برخوردار بود. از این رو بررسی ساختار جمعیت و انجام سایر مطالعات تکمیلی بر روی این گونه ژرمپلاسمی می‌تواند چشم‌انداز تازه‌ای در بکارگیری آن در برنامه‌های اصلاحی را فراهم آورد.



شکل 6. بای پلات حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) برای 103 توده *Aegilops* بر اساس

نشانگرهای (A) CDBP و (B) SCoT

Figure 6. Biplot derived from the PCoA for 103 *Aegilops* accessions based on CDBP (A) and SCoT (B) markers

References

- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Fabriki-Ourang S et al. (2018a) Screening wild progenitors of wheat for salinity stress at early stages of plant growth: insight into potential sources of variability for salinity adaptation in wheat. *Crop Pasture Sci* 69, 649–58.
- Ahmadi J, Pour-Aboughadareh A, Ourang SF et al. (2018b) Wild relatives of wheat: *Aegilops-Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. *Acta Physiol Plant* 40, 90e.
- Altintas S, Toklu F, Kafkas S et al. (2008) Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. *Plant Breed* 127, 9–14.
- Anderson JA, Churchill GA, Autrique JE et al. (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36, 181–186.
- Badaeva E, Amosova A, Samatadze T et al. (2004) Genome differentiation in *Aegilops*. 4. Evolution of the U-genome cluster. *Plant Syst Evol* 246, 45–76.
- Badfar-Chaleshtori S, Shiran B, Kohgard M et al. (2012) Assessment of genetic diversity and structure of Imperial Crown (*Fritillaria imperialis* L.) populations in the Zagros region of Iran using AFLP, ISSR and RAPD markers and implications for its conservation. *Biochem Syst Ecol* 42, 35–48.
- Collard BCY, Mackill DJ (2009) Start codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol Biol Rep* 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, Mehrabi AA, Shooshtari L, Moradkhani H (2018a) Applicability of CBDP markers to study of genetic diversity among some of the cultivated wheat accessions and their ancestral species. *Mod. Genet* 52, 79–89. (In Persian).
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R et al. (2016) Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnol Biotechnol Equi* 30, 1075–1081.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Mohammadi R et al. (2018b) Applicability of CAAT box-derived polymorphism (CBDP) markers for analysis of genetic diversity in durum wheat. *Cereal Res Commun* 46, 1–9.
- Etminan A, Pour-Aboughadareh A, Noori A et al. (2018c) Genetic relationships and diversity among wild *Salvia* accessions revealed by ISSR and SCoT markers. *Biotech Biotechnol Equi* 32, 610–617.
- Feldman M, Sears ER (1981) The wild gene resources of wheat. *Sci Am* 244, 98–109.

- Hajjar R, Hodgking T (2007) The use of wild relatives in crop improvement: A survey of developments over the last 20 years. *Euphytica* 156, 1–13.
- 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 Res Commun* 42, 558–567.
- Heidari P, Etminan A, Azizinezhad R, Khosroshahli M (2017) Genomic variation studies in durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. durum) using CBDP, SCoT and ISSR markers. *Indian J Genet Pl Br* 77, 379–386.
- 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 Persian).
- Kilian B, Ozkan H, Deusch O et al. (2007) Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes. *Mol Biol Evol* 24, 217–227.
- Kumar M, Mishra GP, Singh R et al. (2009) Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different apricot genotypes from cold arid deserts of trans- Himalayas. *Physiol Mol Biol Plants* 15, 225–236.
- Maxted N, Kell S (2009) CWR in crop improvement: To what extent are they used? *Crop Wild Relative Newsletter* 7, 7–8.
- Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Sci* 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 AR, Mehrabi AA, Etminan A (2012) Evaluation of genetic relationships of *Triticum-Aegilops* species possessing D genome in different ploidy levels using microsatellites. *Int J Agri Crop Sci* 23, 1746–1751.
- Mousavifard SS, Saeidi H, Rahiminejad MR, Shamsadini M (2015) Molecular analysis of diversity of diploid *Triticum* species in Iran using ISSR markers. *Genet Resour Crop Evol* 62, 387–394.
- Naghavi MR, Hajikram M, Taleei AR, Aghaei MJ (2010) Microsatellite analysis of genetic diversity and population genetic structure of *Aegilops tauschii* Coss. in northern Iran. *Genet Resour Crop Ev* 57, 423–430.

- Naghavi MR, Maleki M, Alizadeh H et al. (2009) An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat *Triticum boeoticum* from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. *J Agr Sci Tech* 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. *Genet Resour Crop Ev* 45, 355–370.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol* 6, 288–295.
- Peng X, JiQ, Fan S et al. (2015) Genetic diversity in populations of the endangered medicinal plant *Tetrastigma hemsleyanum* revealed by ISSR and SRAP markers: implications for conservation. *Genet Resour Crop Ev* 62, 1069–1078
- Poczai P, Varga I, Laos M et al. (2013) Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods* 9, 6.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA et al. (2017a) Physiological responses to drought stress in wild relatives of wheat: implications for wheat improvement. *Acta Physiol Plant* 39, 49
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA et al. (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 Biosys* 152, 694–703.
- Powell W, Morgante M, Andre C et al. (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2, 225–238.
- Prevost A, Wilkinson MJ (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor Appl Genet* 98, 107–112.
- Qaderi A, Omid M, Pour-Aboughadareh A et al. (2019) Molecular diversity and phytochemical variability in the Iranian poppy (*Papaver bracteatum* Lindl.): A baseline for conservation and utilization in future breeding programmes. *Ind Crop Prod* 130, 237–247.
- Saidi A, Jabalameli Z, Ghalamboran M (2018) Evaluation of genetic diversity of carnation cultivars using CDDP and DAMD markers and morphological traits. *The Nucleus* 61, 129–135
- 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 et al. (2014) CAAT box-derived polymorphism (CBDP): a novel promoter-targeted molecular marker for plants. *J Plant Biochem Biot* 23, 175–183.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N et al. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28, 2731–2739.

- Tiwari G, Singg R, Singh N et al. (2016) Study of arbitrarily amplified (RAPD and ISSR) and gene targeted (SCoT and CBDP) markers for genetic diversity and population structure in Kalmegh [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees]. *Ind Crops Prod* 86, 1–11.
- Warschefsky E, Penmetsa RV, Cook DR, von Wettberg EJB (2014) Back to the wilds: tapping evolutionary adaptations for resilient crops through systematic hybridization with crop wild relatives. *Am J Bot* 101, 1791–1800.
- 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). *J Archaeol Sci* 57, 109–118.

