

## بررسی روابط بین ژنوم‌های D، S و U جنس گندم‌نیای وحشی (*Aegilops*) با ژنوم A گندم با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR

لیدا فریدونی<sup>۱</sup>، علی اشرف مهربانی<sup>۲\*</sup>، هوشمند صفری<sup>۳</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، اصلاح‌نیات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۲. دانشیار، اصلاح‌نیات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳. دکترای اصلاح نباتات بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۱۲/۱۰)

## Evaluation of relationships of D, S and U genomes of *Aegilops* with A genome of *Triticum* using ISSR molecular marker

Lida Feridooni<sup>1</sup>, Ali Ashraf Mehrabi<sup>2\*</sup>, Houshmand Safari<sup>3</sup>

1. Former M.Sc. Student, Plant Breeding, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran,

2. Associate Professor, Plant Breeding, College of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

3. Ph.D. Department of Forests and Rangelands, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Kermanshah, Iran

(Received: Oct. 6, 2017 - Accepted: Mar. 1, 2018)

### Abstract

The objective of this study was to investigate the relationships between D, S, and U genomes in three diploid species of *Aegilops* genus with genome A in two diploid species of *Triticum* genus, using 15 ISSR primers. The ISSR primers were able to identify 105 locations, that the number of 6 locations were monomorphic and 99 locations were polymorph. The mean number of generated location was 7.00 and the average number of polymorphic location was 6.60. The primers of IS13, IS6 and UBC865 were introduced as superior primers for determining of genetic variation in the studying populations. There was a high genetic diversity based on the used marker among the species of two genera and the high contribution of variance to interspecies than intraspecific showed that the species were completely differentiating according to the studied marker. The results of similarity matrix, cluster analysis and principal coordinate analysis were showed that the two species were separated from together and in the species of *Aegilops* genus, *Ae. umbellulata* (U genome) had the most distance with other species, *Ae. strangulate* and *Ae. tauschii* (D genome) had the lowest distance and falling in one group with *Ae. speltoides* (S genome) in the next stage. Therefore, the D genome showed a lower distance with the S genome and the U genome had the greatest distance with two other genomes based on studied markers. The A genome (*Triticum* genome) had the most distance with three *Aegilops* genome. But the U genome among genomes belonging to the *Aegilops* genus had a lower distance than A genome.

**Keywords:** *Aegilops*, ISSR Marker, Phylogenetic, Genomic relationship.

### چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی روابط بین ژنوم‌های D، S و U در سه گونه‌ی دیپلوئید از جنس گندم‌نیای وحشی (*Aegilops*) با ژنوم A در دو گونه‌ی دیپلوئید از جنس گندم (*Triticum*) با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR می‌باشد. آغازگرهای ISSR توانستند ۱۰۵ مکان را شناسایی کنند، که ۶ مکان یک شکل و ۹۹ مکان چندشکل بودند. میانگین تعداد مکان تولید شده ۷ بود و متوسط تعداد مکان چند شکل ۶/۶۰ بود. آغازگرهای IS13، IS6 و UBC865 به عنوان آغازگرهای برتر در شناسایی تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های مورد بررسی معرفی شدند. در بین گونه‌های هر دو جنس تنوع ژنتیکی بالایی بر اساس نشانگر مورد استفاده وجود داشت و سهم بالای واریانس بین گونه‌های نسبت به واریانس درون گونه‌های نشان داد که گونه‌ها بر اساس نشانگر مورد بررسی کاملاً تفرق داشتند. نتایج ماتریس تشابه، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که دو جنس از هم تفکیک شده‌اند و در گونه‌های جنس گندم‌نیای وحشی گونه *Ae. umbellulata* (ژنوم U) بیشترین فاصله را با دیگر گونه‌ها داشت و دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. strangulate* (ژنوم D) کمترین فاصله را داشتند و در مرحله بعد با گونه *Ae. speltoides* (ژنوم S) هم گروه شدند. بنابراین ژنوم D فاصله کمتری با ژنوم S نشان داد و ژنوم U بیشترین فاصله را با دو ژنوم دیگر بر اساس نشانگر مورد بررسی داشت. ژنوم A متعلق به جنس گندم نیز بیشترین فاصله را با سه ژنوم جنس گندم‌نیای وحشی داشت. اما در بین ژنوم‌های متعلق به جنس گندم‌نیای وحشی، ژنوم U دارای فاصله کمتری با ژنوم A بود.

**واژه‌های کلیدی:** گندم‌نیای وحشی، نشانگر ISSR، فیلوژنتیک، روابط ژنومی.

## مقدمه

علف بز (*Goatgrasses*) برای اولین بار توسط لینه به عنوان جنس *Aegilops* L. طبقه‌بندی شد که تعداد ۱۱ گونه دیپلوئید و ۱۲ گونه پلی‌پلوئید (در مجموع ۲۳ گونه) از این جنس در دنیا شناسایی شده است (Sallares & Brown, 2004)، در ایران نیز تقریباً تعداد ۱۷ گونه از جنس گندمیای وحشی شناسایی و گزارش شده است (Ranjbar *et al.*, 2008). گونه‌های این جنس در شمال‌غربی و مرکز آسیا، در ایران و سرتاسر منطقه‌ی دریای مدیترانه پراکنده شده‌اند (Kazutoshi *et al.*, 1998).

از طرفی جایگزینی ارقام پر محصول منجر به فرسایش ژنتیکی و کاهش تنوع در بسیاری از محصولات زراعی شده است. بروز فرسایش ژنتیکی در ژرم پلاسما گندم‌های زراعی موجب افزایش ضرورت استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در خویشاوندان وحشی گندم شده است (Ranjbar *et al.*, 2010). جنس گندمیای وحشی از خویشاوندان نزدیک گندم است و از اجداد وحشی آن محسوب می‌شود. این جنس منبع ژنتیکی خوبی برای اصلاح گندم می‌باشد (Hosseini *et al.*, 2013) و شامل تاکسون‌های دیپلوئید و پلی‌پلوئید با ژنوم‌های D، S، C، N، U، M و ترکیباتی از آنها می‌باشد (Cabi, 2010). همه حیات روی کره زمین از طریق یک گذشته مشترک به یکدیگر متصل شده است. بازسازی فیلوژنتیکی این تاریخ، یکی از سخت‌ترین چالش‌ها در زیست‌شناسی معاصر است. فیلوژنتیک مولکولی و تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی می‌تواند به روشن شدن وضعیت طبقه‌بندی و روابط تکاملی بین گونه‌های زراعی و خویشاوندان وحشی آنها کمک کند (Poczai *et al.*, 2012). در برنامه اصلاحی، آگاهی از روابط خویشاوندی می‌تواند به برنامه سرعت بیشتری بدهد (Borem & Fritch-neto, 2014)، بنابراین تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی یکی از اساسی‌ترین مراحل در برنامه‌ریزی اصلاحی می‌باشد (Mohammadi & Prasanna, 2003).

نشانگرهای ژنتیکی مولکولی یا نشانگرهای DNA، امکان انجام بررسی‌های گسترده‌ای را فراهم آورده‌اند. مزیت نشانگرهای مولکولی در توان بهره‌گیری از پلی مورفیسم‌های موجود در جوامع، بدون تداخل عواملی مانند اختصاصی بودن بافت‌ها و اثرات محیطی می‌باشد (Naghavi *et al.*, 2002). نشانگرهای ISSR آغازگرهای نیمه اختیاری هستند و مستلزم تکثیر قطعات DNA موجود در یک فاصله قابل بسط در بین دو منطقه تکراری یکسان ریزماهوره می‌باشند. جهش در طول ریزماهوره‌ها، حذف یا اضافه شدن نوکلئوتیدها در فاصله بین دو آغازگر و تغییرات دیگر در اندازه قطعات حاصل مؤثر است. از آنجا که ریزماهوره‌ها در نقاط مختلف ژنوم واقع شده‌اند، بنابراین باندهای مختلفی با اندازه‌های متفاوت بر روی ژل حاصل می‌شود و تمام سطح ژنوم را تحت پوشش قرار می‌دهند (Borem & Fritch-neto, 2014). از مزایای این مارکر می‌توان به تکرارپذیری بسیار بالا، آنالیز هم‌زمان تعداد زیادی جایگاه، دقت و تنوع بالا، هزینه پایین و سرعت و سهولت اجرای آن اشاره کرد (Pradeep *et al.*, 2002).

در زمینه بررسی روابط ژنومی بین گونه‌های جنس گندم و گندمیای وحشی (*Aegilops* L.) با روش‌های متعدد و استفاده از نشانگرهای مختلف تحقیقات زیادی در داخل و خارج از کشور انجام شده است. بررسی تلاقی‌پذیری بین شش گونه *Ae. tauschii*، *Ae. triumeialis* (UU)، *Ae. umbellulata* (CCUU)، *Ae. columnaris* (MMUU)، *Ae. crassa*، *Ae. cylindrical* (CCDD) و *Triticum aestivum* با گندم نان (DDMM) (AABBDD) نشان داد که بهترین تلاقی از گونه‌های *Ae. triumeialis*، *Ae. columnaris* و *Ae. umbellulata* با گندم نان حاصل شد و رویان

ژنوم D از گونه *Ae. tauschii* به گندم بیان داشتند که ژنوم D در *Ae. tauschii* تنوع آلی بیشتری نسبت به ژنوم D در گندم دارد. بررسی تنوع آگرو-مورفولوژیکی ۱۸۰ اکسشن از خویشاوندان وحشی گندم نشان داد که سطح بالایی از تنوع ژنتیکی بین گونه‌های جنس گندم‌نیای وحشی و گندم در ایران وجود دارد و بر اساس نتایج گزارش شد که توزیع گونه‌ها درون هر گروه با ساختار ژنومی آنها مطابقت دارد (Pour-Aboughadareh et al., 2017). باتوجه به آنچه بیان شد هدف از اجرای تحقیق حاضر بررسی روابط بین ژنوم‌های D، S، U و A برای چهار گونه دیپلوئید جنس گندم‌نیای وحشی (*Aegilops* L.) به همراه دو گونه دیپلوئید جنس گندم (*Triticum*) با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی روابط بین گونه‌ای برخی از گونه‌های دیپلوئید جنس گندم و جنس گندم‌نیای وحشی با استفاده از نشانگر ISSR، در مجموع ۳۰ جمعیت از ۶ گونه از بانک ژن دانشگاه ایلام انتخاب شد. که مشخصات مواد ژنتیکی شامل: کد بانک ژن، منشاء و کد جمعیت در جدول ۱ نشان داده شده است.

به‌صورت طبیعی تمایز یافت، که این مسئله ناشی از ژنوم U گزارش شد (Aghaei et al., 2002)، همچنین همولوژی کروموزومی بین سه گونه از جنس گندم‌نیای وحشی (*Ae. crassa*، *Ae. tauschii*) و *Ae. cylindrica* حامل ژنوم D با گندم نان مشخص کرد که امکان تهیه هیبریدهای بین این گونه‌ها حداقل با استفاده از روش نجات جنین وجود دارد (Aghaei et al., 2007). در بررسی روابط فیلوژنتیکی بین گندم نان و گندم‌نیای وحشی به منظور یافتن منشاء ژنوم A، B و D در گندم با استفاده از نشانگر مولکولی مشخص شد که منشاء ژنوم D از *Ae. tauschii* و ژنوم B از *Ae. Speltoides* است (Petersen et al., 2006). بررسی روابط فیلوژنتیکی بین گونه‌های جنس گندم و گندم‌نیای وحشی بر اساس DNA کلروپلاستی ارتباط قوی بین گونه‌های دیپلوئید گندم‌نیای وحشی حامل ژنوم B را با گندم نشان داد (Dizkirici et al., 2013). استفاده از تنوع در توالی زیرواحد ۵S rDNA (Baum et al., 2009) و بررسی مورفولوژی دانه کرده (Panajiotidis et al., 2000) در بین گونه‌های گندم‌نیای وحشی نشان داد که این روش‌ها برای بررسی روابط فیلوژنتیکی در جنس گندم‌نیای وحشی کارآمد هستند و اغلب گونه‌ها را از همدیگر تفکیک کردند. Cox et al. (2017) در بررسی دو روش انتقال

جدول ۱. لیست جمعیت‌های مورد بررسی

کد بانک ژن	منشاء	گونه	کد جمعیت	کد بانک ژن	منشاء	گونه	کد جمعیت
IUGB-01057	ایلام	<i>Ae. speltoides</i>	Sp1057	IUGB-00051	آذربایجان	<i>Ae. strangulata</i>	St51
IUGB-00416	ایران	<i>Ae. speltoides</i>	Sp416	IUGB-00213	مازندران	<i>Ae. strangulata</i>	St213
IUGB-00083	کرمانشاه	<i>Ae. speltoides</i>	Sp83	IUGB-00276	بوشهر	<i>Ae. strangulata</i>	St276
IUGB-00025	کرمانشاه	<i>Ae. speltoides</i>	Sp25	IUGB-00306	تاجیکستان	<i>Ae. strangulata</i>	St306
IUGB-00963	ایلام	<i>Ae. speltoides</i>	Sp963	IUGB-00233	گرگان	<i>Ae. strangulata</i>	St233
IUGB-00019	کرمانشاه	<i>T. boeoticum</i>	Bo19	IUGB-01429	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um1429
IUGB-00368	ایلام	<i>T. boeoticum</i>	Bo368	IUGB-00360	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um360
IUGB-00155	خرم آباد	<i>T. boeoticum</i>	Bo155	IUGB-00234	شیراز	<i>Ae. umbellulata</i>	Um234
IUGB-00018	خرم آباد	<i>T. boeoticum</i>	Bo18	IUGB-00887	ایلام	<i>Ae. umbellulata</i>	Um887
IUGB-00010	کردستان	<i>T. boeoticum</i>	Bo10	IUGB-00103	کرمانشاه	<i>Ae. umbellulata</i>	Um103
IUGB-00077	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur77	IUGB-00375	اردبیل	<i>Ae. tauschii</i>	Ta375
IUGB-00154	کهگیلویه	<i>T. urartu</i>	Ur154	IUGB-00374	گیلان	<i>Ae. tauschii</i>	Ta374
IUGB-00165	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur165	IUGB-00108	ایران	<i>Ae. tauschii</i>	Ta108
IUGB-00206	کرمانشاه	<i>T. urartu</i>	Ur206	IUGB-00198	زنجان	<i>Ae. tauschii</i>	Ta198
IUGB-00162	چهارمحال	<i>T. urartu</i>	Ur162	IUGB-00205	اردبیل	<i>Ae. tauschii</i>	Ta205

به منظور استفاده از اطلاعات الکتروفورزی حاصل از نشانگر ISSR در آنالیزهای آماری ابتدا هر جمعیت براساس داشتن (کد یک) یا نداشتن (کد صفر) باند، کدبندی شد. تعداد مکان‌های تکثیر شده، تعداد مکان‌های چندشکل و درصد چندشکلی برای هر آغازگر محاسبه شد. شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)؛ نسبت چندگانه مؤثر (EMR)؛ شاخص نشانگر (MI) و قدرت تفکیک (RP) برای هر آغازگر محاسبه شد. با استفاده از نرم‌افزارهای NTSYS، DARwin 6.0 و GenAlEx 6.41 ماتریس تشابه (از ضریب تشابه جاکارد در بین جمعیت‌ها و از ضریب تشابه دایس در بین گونه‌ها استفاده شد)، تجزیه واریانس مولکولی، تجزیه کلاستر و تجزیه به مختصات اصلی در بین جمعیت‌ها و گونه‌ها محاسبه شد.

## نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها و ارتباط بین ژنوم‌های D، S و U با ژنوم A با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR برای گونه‌های مورد بررسی ارزیابی شد. آغازگرهای ISSR در مجموع ۱۰۵ مکان ISSR را شناسایی کردند، که از این تعداد ۶ مکان یک شکل و ۹۹ مکان چندشکل بودند. میانگین تعداد مکان تولید شده توسط هر آغازگر ۷ مکان بود و متوسط تعداد مکان چند شکل ۶/۶ بود (جدول ۴). آغازگر IS14 بیشترین مکان ISSR (۱۰ مکان) را شناسایی کرد و آغازگر UBC869 کمترین مکان ISSR (۵ مکان) را شناسایی کرد (جدول ۴). بیشترین تعداد مکان تولید شده مربوط به جمعیت Sp963 با تعداد ۷۹ مکان و کمترین تعداد مکان مربوط به جمعیت St51 با ۴۹ مکان تولید شده بود (جدول ارائه نشده است).

بذرهای هر جمعیت داخل گلدان کشت شدند و DNA از برگ گیاهچه‌های دو تا سه هفته‌ای با روش CTAB طبق دستورالعمل تغییر یافته Doyle & Doyle (1987) به صورت بالک استخراج شد. با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد کمیت و کیفیت DNA بررسی شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با دستگاه Bio Rad در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. اجزای واکنش به شرح جدول ۲ بود.

اجزای یک نمونه	جهت تهیه ۲۰ میکرولیتر برای آغازگر ISSR
بافر PCR (۱۰x)	۲ میکرو لیتر
کلرید منیزیم (۵۰ میلی مولار)	۱/۵ میکرو لیتر
مخلوط نوکلئوتیدی (۱۰ میلی مولار)	۰/۴ میکرو لیتر
آغازگر	۱/۲ میکرو لیتر
Taq پلیمرز (۵ واحد در میکرو لیتر)	۰/۳ میکرو لیتر
DNA (۱۰ نانوگرم در میکرو لیتر)	۲ میکرو لیتر
آب دوبار تقطیر	۱۲/۶ میکرو لیتر
جمع	۲۰ میکرو لیتر

در جدول ۳ برای هر آغازگر مورد استفاده کد، توالی و دمای اتصال ارائه شده است. چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل حرارتی بود که در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشت‌سازی به ترتیب ۳۰ ثانیه و ۹۵ درجه سانتی‌گراد، زمان اتصال آغازگر ۳۰ ثانیه و دمای آن برای هر آغازگر متفاوت بود (دماهای اتصال در این تحقیق ۴۷ تا ۶۷/۷۱ درجه سانتی‌گراد بودند) همچنین زمان و دمای توسعه رشته نیز به ترتیب ۶۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. توسعه نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. در مرحله بعد الکتروفورز ژل آگاروز ۱/۵ درصد با بافر واکنش TBE، توسط دستگاه Bio Rad انجام شد و رنگ‌آمیزی با Safe View صورت گرفت. نهایتاً به منظور عکسبرداری از نمونه‌ها از Gel Document (شرکت کیازن) استفاده شد.

1. Polymorphism information content
2. Effective multiplex ratio
3. Marker index
4. Resolving power

جدول ۳. آغازگرهای ISSR مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی

کد آغازگر	توالی آغازگر	دمای آغازگر
IS <sub>05</sub>	5'- AG AG AG AG AG AG AG AGC-3'	53.35 °C
IS <sub>06</sub>	5'- CA CA CA CA CA CA CA CA G-3'	56.19 °C
IS <sub>07</sub>	5'- GT GT GT GT GT GT GT GT C-3'	56.20 °C
IS <sub>09</sub>	5'- CT CT CT CT CT CT CT CT G-3'	51.33 °C
IS <sub>10</sub>	5'- GA GA GA GA GA GA GA GA RC-3'	67.71 °C
IS <sub>11</sub>	5'-AC AC AC AC AC AC AC AC C-3'	57.78 °C
IS <sub>14</sub>	5'- GACA GACA GACA GACA-3'	51.42 °C
IS <sub>16</sub>	5'-DBD AC AC AC AC AC AC AC A-3'	65.25 °C
UBC <sub>844</sub>	5'-CTC TCT CTC TCT CTC TRC-3'	55.00 °C
UBC <sub>848</sub>	5'-CAC ACACAC ACACAC ARG-3'	55.00 °C
UBC <sub>857</sub>	5'-ACA CAC ACA CAC ACA CYG-3'	55.00 °C
UBC <sub>865</sub>	5'-CCG CCG CCG CCG CCG-3'	65.00 °C
UBC <sub>866</sub>	5'-CTC CTC CTC CTC CTC CTC-3'	60.00 °C
UBC <sub>868</sub>	5'-GAA GAA GAA GAA GAA GAA-3'	47.00 °C
UBC <sub>869</sub>	5'-GTT GTT GTT GTT GTT GTT-3'	47.00 °C

بررسی تجزیه واریانس ملکولی انجام شد که بر اساس آماره PhiPT در بین گونه‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود داشت و تنها ۱۸ درصد واریانس موجود به داخل جمعیت‌ها اختصاص یافت و ۸۲ درصد به واریانس بین گونه‌ای اختصاص داشت (جدول ۵).

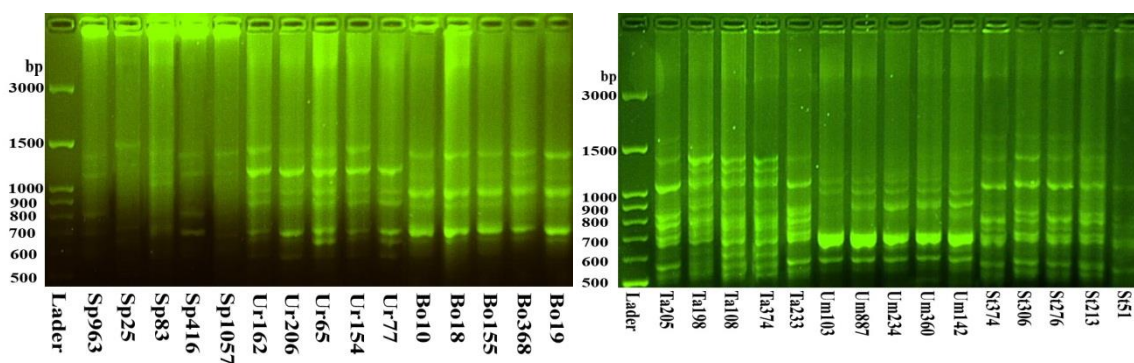
تشابه ژنتیکی جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد در جدول ۶ ارائه شده است. بیشترین تشابه بین جمعیت B<sub>0155</sub> با B<sub>0368</sub> و جمعیت U<sub>r165</sub> با U<sub>r206</sub> به ترتیب با ضرایب ۱/۰۰۰ و ۰/۹۴۰ بود و کمترین تشابه ژنتیکی بین جمعیت U<sub>r154</sub> با S<sub>t213</sub> و جمعیت B<sub>019</sub> با S<sub>t51</sub> به ترتیب با میزان ۰/۱۹۷ و ۰/۱۹۰ بود.

بر اساس ضرایب تشابه جاکارد برای جمعیت‌ها متوسط ضریب تشابه بین گونه‌ای، درون‌گونه‌ای و متوسط ضریب تشابه برای هر گونه محاسبه شد (جدول ۶) و بر این اساس متوسط تشابه بین جمعیت‌ها ۰/۴۲۳ بود. متوسط تشابه بین گونه‌ای ۰/۳۵۶ و متوسط تشابه درون گونه‌ای ۰/۸۴۱ بود. همچنین در بین ۶ گونه مورد مطالعه جمعیت‌های گونه *Ae. strangulate* دارای کمترین متوسط ضریب تشابه درون گونه‌ای نسبت به جمعیت‌های سایر گونه‌ها با میزان ۰/۷۹۱ بودند و در مرحله بعد جمعیت‌های گونه‌های *Ae. speltoides* و *Ae. tauschii* به ترتیب با متوسط ضریب تشابه ۰/۸۱۱ و ۰/۸۲۳ نسبت

همچنین شاخص‌های تنوع برای آغازگرهای مورد بررسی محاسبه شده و در جدول ۴ ارائه شده است. آغازگرهای UBC<sub>857</sub>، UBC<sub>868</sub>، IS<sub>5</sub>، IS<sub>6</sub> و IS<sub>16</sub> دارای درصد چندشکلی کمتر از صددرصد بودند و در دیگر آغازگرها میزان درصد چندشکلی برابر صددرصد داشتند. کمترین درصد چندشکلی به آغازگر UBC<sub>868</sub> (۶۶/۷ درصد) اختصاص داشت. متوسط درصد چندشکلی نیز ۹۴/۲۱ درصد بود، که می‌توان بیان داشت آغازگرها در بین جمعیت‌های مورد بررسی دارای چندشکلی بالایی بودند. متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۳۶۹ بود. آغازگرهای IS<sub>14</sub>، IS<sub>11</sub>، IS<sub>10</sub>، IS<sub>6</sub>، UBC<sub>866</sub>، UBC<sub>844</sub> و UBC<sub>865</sub> با میزان PIC بیشتر یا مساوی ۰/۴۰۰ نسبت به دیگر آغازگرها در نشان دادن تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی برتر بودند. از طرف دیگر آغازگر IS<sub>14</sub> و UBC<sub>865</sub> با داشتن بیشترین میزان شاخص نشانگر (MI) برتر بودند. برای شاخص قدرت تفکیک (RP) نیز ملاحظه شد که آغازگرهای IS<sub>5</sub>، IS<sub>14</sub>، IS<sub>6</sub> و IS<sub>16</sub> دارای بیشترین مقادیر بودند. برای شاخص EMR نیز بیشترین مقدار به آغازگرهای IS<sub>14</sub> و IS<sub>7</sub> اختصاص یافت. شکل ۱ الگوی بانندی جمعیت‌های مورد بررسی برای آغازگر IS<sub>5</sub> را نشان می‌دهد. به منظور تعیین تفاوت ژنتیکی بین شش گونه مورد

بین دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. strangulate* وجود داشت (۰/۹۲۸) و در مرحله بعد دو گونه *T. boeiticum* و *T. urartu* دارای تشابه بالایی (۰/۸۲۴) بودند. کمترین تشابه بین گونه‌های *T. boeiticum* و *Ae. umbellulata* با ضریب ۰/۴۴۹ وجود داشت. در مجموع سه گونه *Ae. umbellulata*، *Ae. tauschii* و *Ae. strangulate* با گونه *T. boeiticum* دارای کمترین میزان تشابه به ترتیب با مقادیر ۰/۴۴۹، ۰/۴۶۸ و ۰/۴۷۸ بودند.

به دیگر گونه‌ها ضریب تشابه کمتری داشتند. از طرف دیگر جمعیت‌های گونه *Ae. umbellulata* و *T. boeiticum* به ترتیب با متوسط ضریب تشابه ۰/۸۸۸ و ۰/۸۸۷ دارای کمترین تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای بر اساس نشانگر ISSR (با توجه به آغازگرهای مورد استفاده) در بین گونه‌های مورد مطالعه بودند. نتایج تشابه ژنتیکی بین گونه‌های مورد بررسی با ضریب تشابه دایس در جدول ۷ ارائه شده است. همچنان‌که ملاحظه می‌گردد، بیشترین تشابه ژنتیکی



شکل ۱. الگوی بانندی جمعیت‌های مورد بررسی با استفاده از آغازگر IS5

جدول ۴. تعداد کل باند و باند چند شکل، درصد چندشکلی و شاخص‌های PIC، MI، RP و EMR در آغازگرها

کد آغازگر	مکان‌های تکثیر شده	مکان‌های چند شکل	درصد چند شکلی	PIC	MI	RP	EMR
IS <sub>7</sub>	8	8	100%	0.122	0.97	6	8
UBC <sub>844</sub>	7	7	100%	0.404	2.83	5	7
UBC <sub>848</sub>	6	6	100%	0.361	2.17	4.3	6
UBC <sub>857</sub>	8	7	87.50%	0.361	2.22	7	6.1
UBC <sub>866</sub>	7	7	100%	0.400	2.80	6.2	7
UBC <sub>868</sub>	6	4	66.7%	0.244	0.65	6.8	4
UBC <sub>869</sub>	5	5	100%	0.374	1.87	5.5	5
IS <sub>5</sub>	8	7	87.50%	0.367	2.25	10.7	7
IS <sub>6</sub>	7	6	85.70%	0.403	2.08	7.3	6
IS <sub>9</sub>	7	7	100%	0.399	2.80	6.8	7
IS <sub>10</sub>	7	6	100%	0.400	2.40	4.1	6
IS <sub>11</sub>	6	6	100%	0.411	2.47	4.9	6
IS <sub>14</sub>	10	10	100%	0.453	4.53	7.7	10
IS <sub>16</sub>	7	6	85.70%	0.395	2.04	7.2	6
UBC <sub>865</sub>	7	7	100%	0.442	3.10	6.3	7
میانگین	7.00	6.60	94.21%	0.369	2.35	6.38	6.54

جدول ۵. تجزیه واریانس مولکولی برای گونه‌های مورد بررسی با استفاده از آغازگرهای ISSR

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	واریانس اجزا	درصد واریانس کل	$\Phi$
بین جمعیت‌ها	5	102.83	19.71	82%	0.821**
داخل جمعیت‌ها	24	4.30	4.30	18%	
کل	29	24.01	24.01	100%	

\*\* معنی‌دار در سطح ۱٪

جدول ۶. تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس نشانگر ISSR

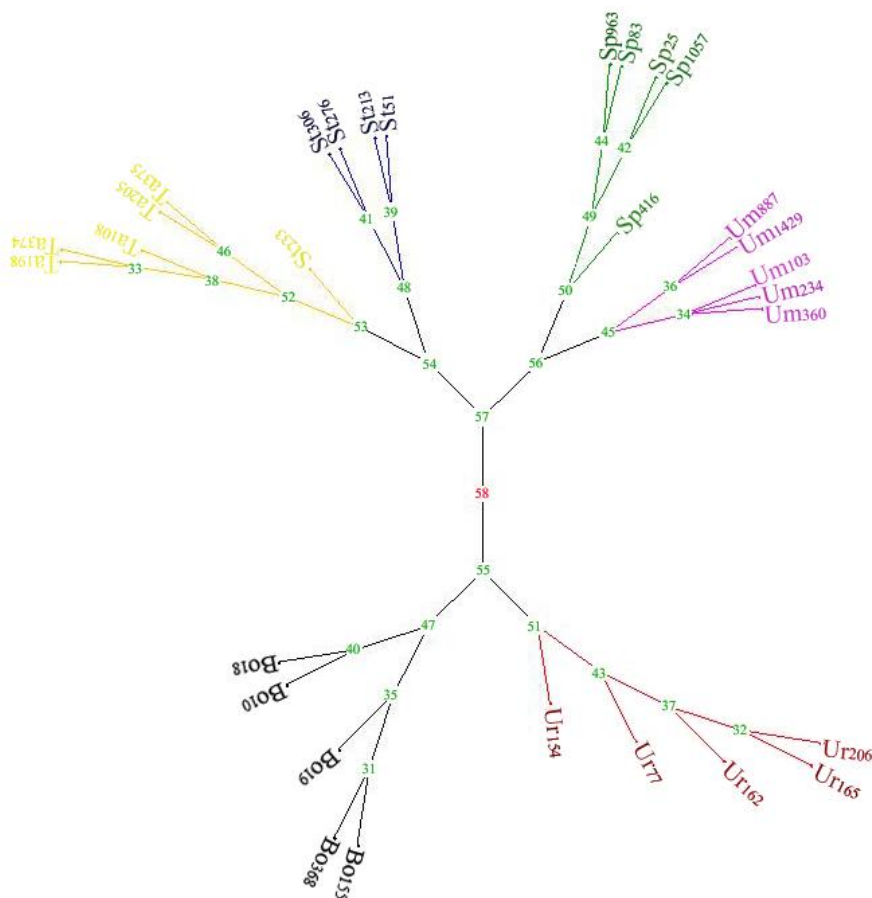
جمعیت	St <sub>51</sub>	St <sub>213</sub>	St <sub>276</sub>	St <sub>306</sub>	St <sub>233</sub>	Um <sub>1429</sub>	Um <sub>360</sub>	Um <sub>234</sub>	Um <sub>887</sub>	Um <sub>103</sub>	Ta <sub>375</sub>	Ta <sub>374</sub>	Ta <sub>108</sub>	Ta <sub>198</sub>	Ta <sub>205</sub>	
St <sub>213</sub>	0.885															متوسط تشابه بین جمعیت‌ها ۰/۴۲۳
St <sub>276</sub>	0.839	0.842														متوسط تشابه بین گونه‌های ۰/۳۵۶
St <sub>306</sub>	0.793	0.860	0.881													متوسط تشابه درون گونه‌های ۰/۸۴۱
St <sub>233</sub>	0.709	0.684	0.712	0.700												متوسط تشابه گونه‌ی <i>Ae. strangulate</i> ۰/۷۹۱
Um <sub>1429</sub>	0.414	0.443	0.413	0.446	0.406											متوسط تشابه گونه‌ی <i>Ae. umbellulata</i> ۰/۸۸۸
Um <sub>360</sub>	0.420	0.408	0.438	0.413	0.433	0.870										متوسط تشابه گونه‌ی <i>Ae. tauschii</i> ۰/۸۲۳
Um <sub>234</sub>	0.420	0.429	0.419	0.432	0.455	0.870	0.923									متوسط تشابه گونه‌ی <i>T. boeiticum</i> ۰/۸۸۷
Um <sub>887</sub>	0.429	0.437	0.446	0.459	0.441	0.907	0.889	0.889								متوسط تشابه گونه‌ی <i>T. urartu</i> ۰/۸۴۶
Um <sub>103</sub>	0.441	0.389	0.438	0.395	0.433	0.836	0.923	0.887	0.889							متوسط تشابه گونه‌ی <i>Ae. speltoides</i> ۰/۸۱۱
Ta <sub>375</sub>	0.754	0.789	0.783	0.770	0.690	0.431	0.397	0.417	0.405	0.378						
Ta <sub>374</sub>	0.672	0.705	0.730	0.692	0.695	0.458	0.405	0.405	0.452	0.405	0.828					
Ta <sub>108</sub>	0.651	0.683	0.734	0.697	0.700	0.427	0.413	0.413	0.421	0.413	0.800	0.897				
Ta <sub>198</sub>	0.705	0.683	0.762	0.723	0.672	0.446	0.413	0.413	0.459	0.413	0.831	0.930	0.898			
Ta <sub>205</sub>	0.684	0.750	0.746	0.733	0.741	0.375	0.361	0.400	0.389	0.342	0.818	0.729	0.733	0.763		
Bo <sub>19</sub>	0.190	0.200	0.202	0.229	0.278	0.213	0.231	0.247	0.241	0.215	0.210	0.235	0.259	0.244	0.237	
Bo <sub>368</sub>	0.210	0.220	0.221	0.247	0.263	0.232	0.235	0.250	0.259	0.235	0.244	0.268	0.293	0.277	0.225	
Bo <sub>155</sub>	0.210	0.220	0.221	0.247	0.263	0.232	0.235	0.250	0.259	0.235	0.244	0.268	0.293	0.277	0.225	
Bo <sub>18</sub>	0.208	0.218	0.220	0.232	0.247	0.231	0.218	0.234	0.260	0.218	0.244	0.269	0.263	0.278	0.224	
Bo <sub>10</sub>	0.238	0.247	0.247	0.259	0.260	0.244	0.232	0.247	0.272	0.232	0.272	0.280	0.274	0.289	0.253	
Ur <sub>77</sub>	0.215	0.225	0.272	0.253	0.253	0.238	0.241	0.241	0.266	0.241	0.299	0.291	0.284	0.300	0.297	
Ur <sub>154</sub>	0.219	0.197	0.215	0.213	0.279	0.211	0.230	0.230	0.224	0.230	0.257	0.250	0.244	0.260	0.271	
Ur <sub>165</sub>	0.231	0.225	0.272	0.253	0.270	0.238	0.241	0.241	0.266	0.256	0.299	0.308	0.300	0.316	0.297	
Ur <sub>206</sub>	0.228	0.238	0.284	0.265	0.267	0.235	0.238	0.238	0.263	0.238	0.312	0.304	0.296	0.313	0.311	
Ur <sub>162</sub>	0.218	0.228	0.275	0.256	0.274	0.225	0.228	0.228	0.253	0.228	0.303	0.312	0.304	0.321	0.301	
Sp <sub>1057</sub>	0.362	0.352	0.384	0.417	0.394	0.347	0.352	0.371	0.361	0.371	0.380	0.370	0.437	0.397	0.403	
Sp <sub>416</sub>	0.348	0.338	0.391	0.386	0.381	0.333	0.379	0.379	0.348	0.379	0.368	0.357	0.406	0.386	0.413	
Sp <sub>83</sub>	0.362	0.371	0.384	0.417	0.353	0.386	0.333	0.352	0.380	0.352	0.380	0.408	0.417	0.417	0.382	
Sp <sub>25</sub>	0.391	0.380	0.411	0.444	0.403	0.375	0.380	0.380	0.389	0.400	0.408	0.417	0.444	0.425	0.391	
Sp <sub>963</sub>	0.426	0.435	0.444	0.479	0.418	0.370	0.338	0.356	0.365	0.356	0.443	0.451	0.479	0.458	0.448	
جمعیت	Bo <sub>19</sub>	Bo <sub>368</sub>	Bo <sub>155</sub>	Bo <sub>18</sub>	Bo <sub>10</sub>	Ur <sub>77</sub>	Ur <sub>154</sub>	Ur <sub>165</sub>	Ur <sub>206</sub>	Ur <sub>162</sub>	Sp <sub>1057</sub>	Sp <sub>416</sub>	Sp <sub>83</sub>	Sp <sub>25</sub>		
Bo <sub>368</sub>	0.920															
Bo <sub>155</sub>	0.920	1.000														
Bo <sub>18</sub>	0.784	0.863	0.863													
Bo <sub>10</sub>	0.830	0.906	0.906	0.882												
Ur <sub>77</sub>	0.567	0.581	0.581	0.576	0.623											
Ur <sub>154</sub>	0.582	0.542	0.542	0.564	0.533	0.745										
Ur <sub>165</sub>	0.621	0.633	0.633	0.576	0.623	0.846	0.816									
Ur <sub>206</sub>	0.610	0.623	0.623	0.567	0.639	0.902	0.765	0.940								
Ur <sub>162</sub>	0.576	0.590	0.590	0.559	0.607	0.900	0.725	0.900	0.920							
Sp <sub>1057</sub>	0.243	0.263	0.263	0.247	0.244	0.270	0.225	0.253	0.250	0.240						
Sp <sub>416</sub>	0.225	0.230	0.230	0.211	0.227	0.309	0.262	0.290	0.286	0.275	0.813					
Sp <sub>83</sub>	0.227	0.263	0.263	0.264	0.276	0.288	0.225	0.270	0.267	0.257	0.840	0.776				
Sp <sub>25</sub>	0.237	0.273	0.273	0.257	0.253	0.280	0.254	0.280	0.260	0.250	0.880	0.780	0.808			
Sp <sub>963</sub>	0.267	0.286	0.286	0.253	0.282	0.276	0.250	0.293	0.273	0.263	0.792	0.731	0.863	0.830		

جدول ۷. تشابه ژنتیکی بر اساس نشانگر ISSR در بین گونه‌ها با استفاده از ضریب تشابه دایس

گونه	<i>Ae. strangulata</i>	<i>Ae. umbellulata</i>	<i>Ae. tauschii</i>	<i>T. boeiticum</i>	<i>T. urartu</i>
<i>Ae. umbellulata</i>	0.670				
<i>Ae. tauschii</i>	0.928	0.650			
<i>T. boeiticum</i>	0.468	0.449	0.478		
<i>T. urartu</i>	0.507	0.468	0.541	0.824	
<i>Ae. speltoides</i>	0.678	0.620	0.672	0.504	0.553

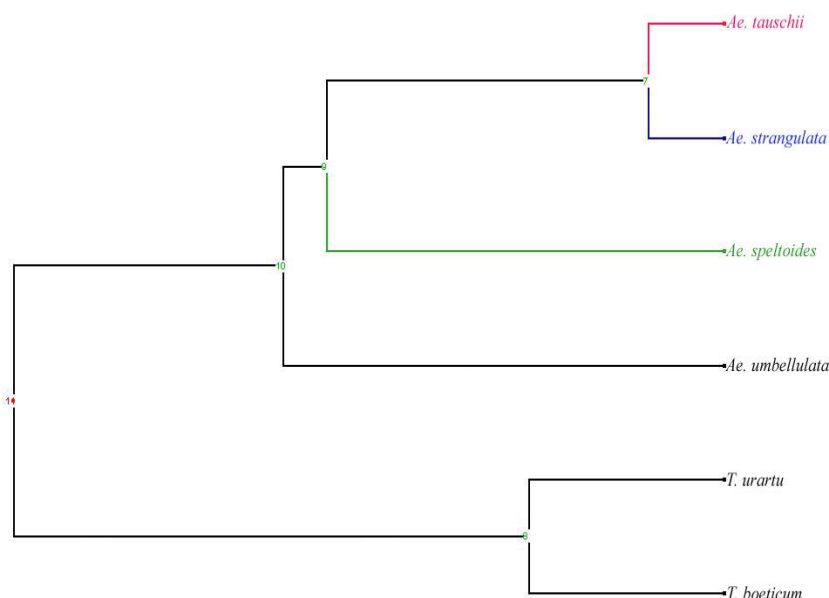
دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها با روش UPGMA و بر اساس ضریب فاصله دایس در شکل ۳ ارائه شده است. همچنان‌که ملاحظه می‌گردد گونه‌های ۲ جنس کاملاً از هم تفکیک شدند و در دو گروه جدا قرار گرفتند. گونه‌های *Ae. stranguata* و *Ae. tuoschii* شباهت قبل دو گونه دیگر در یک گروه قرار گرفتند و در مرحله بعد گونه *Ae. speltiodes* با فاصله نسبتاً متوسطی که با دو گونه قبلی داشت با آنها هم گروه شد. گونه *Ae. umbellulata* در بین چهار گونه مورد مطالعه جنس گندم‌نیای وحشی بیشترین فاصله را با دیگر گونه‌ها با توجه به نمودار تهیه شده بر اساس نشانگر ISSR نشان داد.

نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA براساس ضریب فاصله جاکارد برای جمعیت‌های مورد بررسی در شکل ۲ ارائه شده است. همچنان‌که ملاحظه می‌گردد، جمعیت‌ها در ۶ گروه قرار گرفتند و همچنین جمعیت‌های مربوط به گونه‌های ۲ جنس از همدیگر کاملاً تفکیک شدند. دو گونه *Ae. stranguate* و *Ae. tuoschii* تفکیک کاملی از همدیگر نداشتند، بطوریکه جمعیت St233 در گروه جمعیت‌های مرتبط با گونه مربوط به خود قرار نگرفت و با جمعیت‌های گونه *Ae. tuoschii* هم‌گروه شد. اما برای دیگر گونه‌ها تفکیک جمعیت‌ها کاملاً انجام شد و نتایج حاصل از گروه بندی با نتایج بدست آمده از ماتریس تشابه کاملاً مطابقت داشت.



شکل ۲. نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر ISSR در ۳۰ جمعیت به روش UPGMA





شکل ۳. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها بر اساس نشانگر ISSR به روش UPGMA

جنس از همدیگر تفکیک شدند و دو گونه *Ae. tauschii* و *Ae. strangulata* با داشتن شباهت بالا بر اساس نشانگر ISSR در یک منطقه نمودار قرار داشتند و گونه‌های *Ae. umbellulata* و *Ae. speltioides* نیز شباهت نسبتاً بالایی داشتند و در یک منطقه از نمودار قرار گرفتند. دو گونه‌ی حاوی ژنوم A نیز در یک منطقه از نمودار قرار داشتند. نتایج حاصل از تجزیه‌ی تابع تشخیص مطابقت کاملی با نتایج تجزیه کلاستر و ماتریس تشابه بین گونه‌ها داشت.

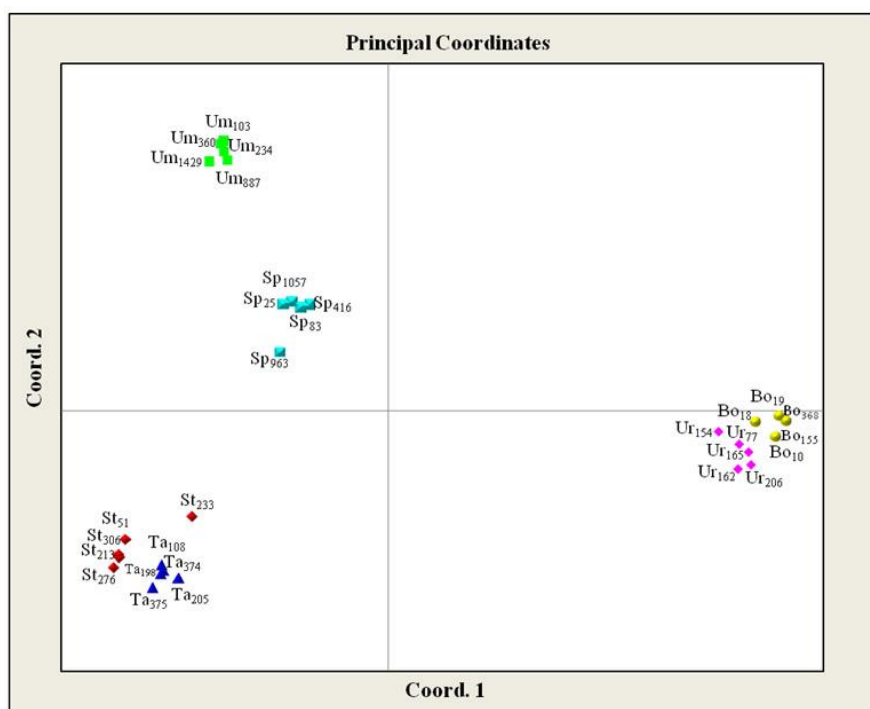
به خوبی مشخص شد که در بین گونه‌ها تنوع ژنتیکی بالایی بر اساس نشانگر مورد استفاده وجود داشت و سهم بالای واریانس بین گونه‌ای نسبت به واریانس درون گونه‌ای نشان داد که گونه‌ها بر اساس نشانگر مورد بررسی کاملاً تفرق داشتند. وجود تنوع ژنتیکی بالا بر اساس نشانگر ISSR در بین جمعیت‌های گونه *Ae. Crassa* (Khoramifard et al., 2017) و گونه‌ی *Ae. Cylindrical* (Mohammadi et al., 2014) گزارش شده است.

شش مولفه بر اساس تجزیه به مختصات اصلی برای جمعیت‌ها استخراج شد که در مجموع ۱۰۰ درصد واریانس را توضیح دادند و مختصات اول و دوم ۶۵/۸۷ درصد از واریانس را توضیح دادند (جدول ارائه نشد). نمودار دو بعدی مختصات اول و دوم نیز در شکل ۴ ارائه شد. همچنان که ملاحظه می‌گردد پراکنش جمعیت‌ها بر روی دیاگرام با نتایج تجزیه کلاستر کاملاً مطابقت داشت و جمعیت‌های هر گونه کاملاً از همدیگر تفکیک شدند. تنها St<sub>233</sub> بود که از گروه جمعیت‌های گونه *Ae. strangulata* فاصله گرفته و با گروه جمعیت‌های گونه *Ae. tauschii* نزدیک‌تر بود، که این نتیجه در تجزیه کلاستر نیز مشاهده شد.

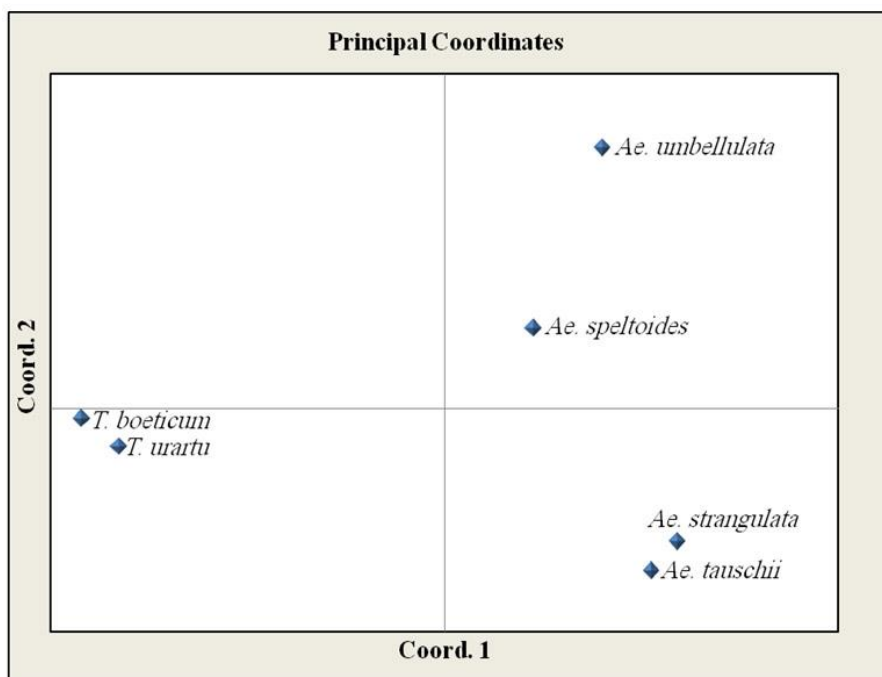
بر اساس نتایج تجزیه به مختصات اصلی برای ۶ گونه به منظور ارزیابی روابط بین ژنوم‌ها سه محور مختصات اول در مجموع ۸۸/۲۶ درصد واریانس را توضیح دادند (جدول ارائه نشد). نمودار دو بعدی مختصات اول و دوم در شکل ۵ ارائه شد. با توجه به نمودار مشاهده شد که گونه‌های متعلق به دو

گونه از جنس شیدر توسط Aryanegad *et al.* (2013) با استفاده از نشانگر ISSR ارائه شده است و جمعیت‌های سه گونه از همدیگر کاملاً تفکیک شدند.

در هر حال به خوبی می‌توان دریافت که نشانگر مورد استفاده توانایی بالایی در تفکیک گونه‌های مورد بررسی داشت و جمعیت‌های مورد مطالعه را به خوبی در زیرگروه خود قرار داد. گزارش مشابه برای سه



شکل ۴. نمودار پراکنش مختصات اول و دوم تجزیه به مختصات ۳۰ جمعیت مورد بررسی بر اساس نشانگر ISSR



شکل ۵. نمودار پراکنش حاصل از تجزیه به مختصات ۳۰ جمعیت مورد بررسی بر اساس نشانگر ISSR

بین گونه‌ای در ژنوتیپ‌های دیپلوئید و تتراپلوئید جنس تربیتیکوم را بر اساس الگوی بانندی حاصل از نشانگرهای RAPD مورد بررسی قرار داد و بیان داشت که *T. boeiticum* با *T. monococcum* بر اساس ماتریس تشابه فاصله ژنتیکی بالایی دارند. Petersen *et al.* (2006) در بررسی روابط فیلوژنتیکی جنس‌های گندمیای وحشی و گندم به منظور یافتن منشاء ژنوم‌های A، B و D با استفاده از ۱۱ آغازگر DMCI و ۱۰ آغازگر EFG گزارش کردند که از نظر فیلوژنتیکی جنس‌های گندمیای وحشی، گندم و تلاقی‌های بین آنها مونوفیلیک یا یک شکل هستند. اما Cenkci *et al.* (2008) متوسط ضرایب فاصله نسبتاً بالایی (بین ۰/۴۲۰ تا ۱/۰۰۰ با استفاده از ضریب جا‌کارد) بر اساس نشانگر RAPD در بین گونه‌های دو جنس گندمیای وحشی و گندم گزارش کردند و همچنین نتایج این تحقیق نیز متوسط تشابه بین گونه‌ای نسبتاً پایینی (۰/۳۵۶) نشان داد. مشاهده شد که ژنوم D فاصله کمتری با ژنوم S دارد و ژنوم U بیشترین فاصله را با دو ژنوم دیگر براساس نشانگر مورد بررسی نشان داد و از طرف دیگر ژنوم A متعلق به جنس گندم نیز بیشترین فاصله را با سه ژنوم جنس گندمیای وحشی داشت. همچنین در بین ژنوم‌های متعلق به جنس گندمیای وحشی، ژنوم U دارای فاصله کمتری با ژنوم A بود که این نتیجه با گزارش Cenkci *et al.* (2008) مطابقت دارد. همچنین نتایج بدست آمده برای روابط بین گونه‌ای با نتایج گزارش شده توسط Sallares & Brown (2004) که با استفاده از نشانگر EST روابط بین گونه‌ای دیپلوئید گندمیای وحشی و خویشاوندان آنها را بررسی کردند، مطابقت دارد.

در مجموع نشانگر مورد استفاده به خوبی تنوع ژنتیکی موجود در ساختار جمعیت‌ها و روابط بین گونه‌ای را نشان داد و نتایج به‌دست آمده با گزارشات ارائه شده (Cenkci *et al.*, 2008; Sallares & Brown, 2004) مطابقت داشت. بنابراین باتوجه به

با توجه به پارامترهای نشانگری در مجموع آغازگرهای IS14، IS6 و UBC865 به‌عنوان آغازگرهای برتر در شناسایی تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های مورد بررسی معرفی شدند. هر چند دیگر آغازگرها نیز سطح مناسبی از چند شکلی را نشان دادند. استفاده از پارامترهای نشانگری PIC، RP، EMR و MI در انتخاب آغازگرهای مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه‌ی چچم یکساله (Safari *et al.*, 2014) و گونه‌های مختلف جنس نعنای (Zinodini *et al.*, 2013) گزارش شده است.

بالا بودن متوسط ضریب تشابه بین گونه‌ای و پایین بودن ضریب تشابه درون گونه‌ای بیانگر این مطلب بود که نشانگر مورد بررسی تنوع بیشتری در بین گونه‌ها نشان دادند و درون جمعیت‌های هر گونه تنوع کمتری وجود داشت و همین مسئله باعث تفکیک گونه‌های مورد بررسی شد و تأییدی بر تجزیه واریانس مولکولی بود. ژنوم D برای آغازگرهای مورد استفاده تنوع بالاتری درون جمعیت‌های خود نشان داد و به عبارتی در مناطق تکثیر شده توسط آغازگرهای مورد استفاده در بین جمعیت‌های دارای ژنوم D تغییرات بیشتری مشاهده شد. اما برای ژنوم U مشاهده شد که جمعیت‌ها شباهت بیشتری براساس آغازگرهای مورد استفاده داشتند و می‌توان بیان داشت که مکان‌های تکثیری توسط آغازگرهای مورد بررسی در جمعیت‌های ژنوم U تغییرات کمتری داشتند. دو گونه *Ae. strangulate* و *Ae. tauschii* هر دو دارای ژنوم D هستند و وجود تشابه بالا در بین آنها طبیعی است و همچنین برای دو گونه *T. boeiticum* و *T. urartu* باتوجه به اینکه دارای ژنوم A هستند نتیجه بدست آمده با ساختار ژنتیکی آنها مطابقت داشت. Aliyev *et al.* (2007) با استفاده از ماتریس تشابه نی و لی، روابط

همچنین با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان ارتباط بیشتر ژنوم U به ژنوم A را نسبت به دو ژنوم S و D در برنامه‌های اصلاحی مد نظر قرار داد.

کارایی بالای نشانگر مولکولی مورد استفاده در بررسی روابط بین گونه‌ای پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات فیلوژنتیکی از این نشانگر استفاده شود.

## REFERENCES

- Aghaei MJ, Naghavi MR, Taleei AR, Omidi M, Mozafari J (2007) A study of chromosome homology between three Iranian *Aegilops* species with D genome and bread wheat (*T. aestivum*). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 15 (2): 95-112.
- Aghaei MJ, Pendinen G, Chernov VE, Bozorgipur F (2002) Cross breedability between some *Aegilops* Species and Bread Wheat. Iranian Journal of Agriculture Science 33 (3): 367-374.
- Aliyev RT, Abbasov MA, Mammadov AC (2007) Genetic identification of diploid and tetraploid Wheat species with RAPD markers. Turk. J. Biol. 31: 173-180.
- Aryanegad P, Farshadfar E, Safari H, Shirvani H (2013) Application of ISSR molecular markers in genetic diversity of three *Trifolium* species. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 3 (12): 78-84.
- Baum BR, Edwards T, Johnson DA (2009) Phylogenetic relationships among diploid *Aegilops* species inferred from 5S rDNA units. Molecular Phylogenetics and Evolution 53: 34-44.
- Borem A, Fritch-neto R (2014) Biotechnology and plant breeding. Academic Press is an imprint of Elsevier Pp19-45.
- Cabi E (2010) Taxonomic revision of the tribe *Triticeae* Dumortier (Poaceae) in Turkey. Doctor of Philosophy in Biological Sciences Thesis, Middle East Technical University, Turkey. 387 p.
- Cankeci S, Yildiz M, Konuk M, Eren Y (2008) Rapd analyses of some wild *Triticum* L. and *Aegilops* L. species and Wheat cultivars in Turkey. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 50 (1): 35-42.
- Cox TS, Wu J, Wang Sh, Cai J, Zhong Q, Fu B (2017) Comparing two approaches for introgression of germplasm from *Aegilops tauschii* into common wheat. Crop Journal 5: 355-362
- Dizkirici A, Kansu C, Onde S, Birsin B, Özgen M, Kaya Z (2013) Phylogenetic relationships among *Triticum* L. and *Aegilops* L. species as genome progenitors of bread wheat based on sequence diversity in *trnT-F* region of chloroplast DNA. Genetic Resources and Crop Evolution 60: 2227-2240.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem bull. 19: 11-15.
- Hosseini F, Aghaei MJ, Vaezi Sh, Khosroshahli M (2013) Karyotypic diversity in *Aegilops umbellulata* collection of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 21 (1): 140-149.
- Kazutoshi O, Kaoru E, Bayarsukh N, Hisashi Y (1998) Genetic diversity of central Asian and north Caucasian *Aegilops* species as revealed by RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 4: 389-394.
- Khoramifard T, Mehrabi AA, Arminian A, Fazeli A (2017) Genetic diversity structure of *Aegilops crassa* accessions revealed by genomic ISSR markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 25 (1): 111-122.
- Mohammadi S, Mehrabi AA, Arminian A, Fazeli A (2014) Genetic diversity structure of *Aegilops cylindrical*

- accessions revealed by genomic ISSR markers. *Journal of Plant Genetic Research*, 1 (1): 13-26.
- Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *Crop Science* 43: 1235-1248.
- Naghavi MR, Gharayazi B, Hosseini Salkadeh Gh (2002) *Molecular Markers*. 3th edition, Tehran university, Tehran, Iran, 334 P.
- Panajiotidis S, Athanasiadis N, Symeonidis L, Karataglis S (2000) Pollen morphology in relation to the taxonomy and phylogeny of some native Greek *Aegilops* species polyploids sharing a common genome (C) and their diploid donors. *Grana* 39: 126-132.
- Petersen G, Seberg O, Yde M, Berthelsen K (2006) Phylogenetic relationships of *Triticum* and *Aegilops* and evidence for the origin of the A, B, and D genomes of common wheat (*Triticum aestivum*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 70-82.
- Poczai P, Varga I, Bell NE, Hyvonen J (2012) Genomics Meets Biodiversity: Advances in Molecular Marker Development and Their Applications in Plant Genetic Diversity Assessment, *The Molecular Basis of Plant Genetic Diversity*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), ISBN: 978-953-51-0157-4, InTech, 374 P.
- Pour-Aboughadareh A, Ahmadi J, Mehrabi AA, Moghaddam M, Etminan A (2017) Evaluation of Agro-Morphological Diversity in Wild Relatives of Wheat Collected in Iran. *J. Agr. Sci. Tech.* 19: 943-956.
- Pradeep R, Sahara N, Sidiip EA (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
- Ranjbar M, Naghavi MR, Zali AA, Aghaei MJ, Pirsayedi SM, Mardi M (2008). Genetic variation of *Aegilops crassa* Iran samples using SSR markers. *Modern Genetics*. 3(1): 29-38.
- Ranjbar M, Naghavi MR, Zali AA, Aghaei MJ, Zarifi E (2010) Identification of *Aegilops crassa* cytotypes from Iran and determination of distinguishable morphological characters among them. *Iranian journal of Field Crop Science* 41 (2): 225-234.
- Safari H, Shirvani H, Jafari AA, Mahdavi S (2014) The study of genetic variation for *Lolium perenne* using ISSR molecular markers. *International Journal of Biosciences* 4 (1): 75-81.
- Sallares R, Brown TA (2004) Phylogenetic analysis of complete 59 external transcribed spacers of the 18S ribosomal RNA genes of diploid *Aegilops* and related species (Triticeae, Poaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 701-712.
- Zinodini A, Farshadfar M, Safari H, Moradi F, Shirvani H (2013) Study of genetic relationships of some Mint species using ISSR markers. *Crop Biotech.* 5: 11-21.