Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman
Print ISSN : 3060-7965 Online ISSN : 3060-7271

Investigating genetic diversity of diploid wheat (Triticum boeoticum) populations using SRAP marker

Sara Jebalbarezi

MSc Graduate, Department of Biotechnology, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email address: s.jabalbareze@yahoo.com

Mahmood Maleki

*Corresponding Authour: Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email address: maleki.li@gmail.com

Saeid Mirzaei

Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email address: mirzaei56@gmail.com

Hakimeh Oloumi

Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran. Email address: oloumi.ha@gmail.com

Abstract

Objective

Diploid wheat (*Triticum boeoticum*) is a wild relative of cultivated wheat and an important genetic resource. The western provinces of Iran, situated in the eastern part of the Fertile Crescent, are recognized as a key center of diversity for this species. Due to its long-term adaptation to diverse natural environments, *T. boeoticum* likely harbors valuable genes that contribute to tolerance against various environmental stresses. Given the significance of these genetic resources, the present study aimed to investigate the genetic diversity of selected *T. boeoticum* populations using Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP) markers.

Materials and Methods

Ten distinct populations of wild wheat (*T. boeoticum*) collected from the western provinces of Iran were cultivated under greenhouse conditions. Leaf tissues were harvested for genomic DNA extraction, which was performed using the CTAB method. DNA was amplified using the polymerase chain reaction (PCR) with SRAP primers. The resulting PCR products were separated by agarose gel electrophoresis. After staining, the amplified DNA fragments (bands) were visualized and scored. Genetic diversity among the populations was subsequently analyzed based on the banding patterns.

Results

A total of 114 bands were generated using SRAP markers, all exhibiting an acceptable level of polymorphism. The number of amplified fragments varied across primer combinations. The highest number of bands (14) was observed with primer pairs F3R3 and F3R1, while the lowest (3) was produced by F2R4 and F2R5. Cluster analysis based on the UPGMA method grouped the populations into four distinct clusters. The highest polymorphism information content (PIC) was recorded for primer F1R4, whereas primer F2R5 demonstrated superior ability in distinguishing genetic variation among the studied populations.

Conclusion

Overall, the results indicate that SRAP markers are practical tools for assessing genetic diversity in *T. boeoticum*.

Keywords: AA genome, Diploid wheat, Molecular marker.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Jebalbarezi S, Maleki M, Mirzaei S, Oloumi H (2024) genetic diversity of *Triticum boeoticum* wheat populations using SRAP marker. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (3), 109-124.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (3), 109-124. DOI: 10.22103/gpb.2024.4853

Received: June 30, 2024. Received in revised form: September 10, 2024.

Accepted: September 11, 2024. Published online: September 28, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا چاپی: ۳۰۶۰-۷۹۶۵ شاپا الکترونیکی: ۳۰۶۰-۷۲۷۱
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان
پژوهشگاه اصلی پور

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گندم *Triticum boeoticum* با استفاده از نشانگر SRAP

سارا جبالبارزی

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: s.jabalbareze@yahoo.com

محمود ملکی

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: maleki.li@gmail.com

سعید میرزایی

استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: mirzaei56@gmail.com

حکیمه علومی

دانشیار، گروه اکولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران. رایانامه: oloumi.ha@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۰ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۰۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۱

چکیده

هدف: گندم‌های دیپلوئید *Triticum boeoticum* یکی از خویشاوندان وحشی گندم‌های زراعی محسوب می‌گردند و استان‌های غرب ایران یکی از مراکز مهم تنوع این گونه محسوب می‌شوند. با توجه به اینکه این گونه سالیان درازی در محیط طبیعی و با شرایط متفاوت محیطی رشد یافته، می‌تواند حاوی ژن‌های مهمی جهت تحمل شرایط متنوع محیطی باشند. از طرفی، استان‌های غربی ایران که در شرق هلال حاصل خیز قرار گرفته‌اند به‌عنوان یکی از مراکز تنوع این گونه محسوب می‌شوند. لذا، با توجه به اهمیت این ذخایر ژنتیکی، تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های این گونه با استفاده از نشانگرهای SRAP بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ده جمعیت مختلف گندم وحشی *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از استان‌های غربی ایران در گلخانه کشت شدند تا از بافت برگی آن‌ها برای استخراج DNA استفاده گردد. پس از نمونه‌گیری از بافت برگی، DNA به‌روش CTAB استخراج گردید و سپس با استفاده از پرایمرهای نشانگر SRAP، عمل تکثیر به‌وسیله Polymerase Chain Reaction (PCR) انجام گرفت. سپس عمل الکتروفورز محصول حاصل از PCR بر روی ژل آگارز انجام شد. پس از رنگ‌آمیزی قطعات حاصل از تکثیر، باندها نمایان شد و پس از امتیازدهی باندها و آنالیز نهایی، میزان تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گندم وحشی بررسی شد.

نتایج: مجموعاً ۱۱۴ باند توسط نشانگرهای SRAP تولید شد که همگی چندشکلی قابل قبولی داشتند. تعداد قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف، متفاوت بود. بیشترین تعداد قطعه تکثیر شده ۱۴ عدد مربوط به F3R3 و F3R1 و کمترین آن ۳ عدد و مربوط به آغازگر F2R4 و F2R5 بود. تجزیه خوشه‌ای به‌روش UPGMA نمونه‌های مورد مطالعه را در ۴ گروه قرار داد. بیشترین Polymorphism Information Content (PIC) مشاهده شده، مربوط به آغازگر F1R4 بود. این امر مبین این است که این آغازگر نسبت به سایر آغازگرهای استفاده شده، تنوع بین جمعیت مورد مطالعه را بهتر نشان داده است.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از نشانگر مولکولی SRAP کارآیی لازم را برای مطالعه تنوع ژنتیکی دارد.

کلیدواژه‌ها: ژنوم AA، گندم دیپلوئید، نشانگر مولکولی.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: جبالبارزی سارا، ملکی محمود، میرزایی سعید، علومی حکیمه (۱۴۰۳) بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گندم *Triticum boeoticum* با استفاده از نشانگر SRAP. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱(۳)، ۱۲۴-۱۰۹.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

جنس Triticum از چهار گروه متمایز شامل اینکورن (2n=2x=14, AA)، ایمر (emmer) (2n=4x=28, AABB)، تیموفیوی (timopheevi) (2n=4x=28, AAGG) و گندم هگزاپلوئید (2n=6x=42, AABBDD) تشکیل شده است. سه گونه شامل *T. monococcum*، *T. boeoticum* و *T. urartu* به گروه گندم einkorn تعلق دارند (Mizumoto et al. 2002; Maleki et al. 2006). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که *T. monococcum* از طریق گندم *T. boeoticum* اهلی شده

است و *T. urartu* دهنده اصلی ژنوم A برای گونه‌های پلی‌پلویدی گندم است (Takumi et al. 1993). همه این گونه‌ها ژنوم‌های هسته‌ای یکسان دارند که با ژنوم AA گندم پلی پلوئید همولوگ هستند (Kihara 1944).

در خاور نزدیک، زیستگاه‌های اصلی *T. boeoticum* در بخش‌های شمالی و شرقی هلال حاصلخیز وجود دارد (Harlan & Zohary 1996). ایران یکی از مراکز اصلی توزیع گندم وحشی (Kimber & Feldman 1987) است و همچنین ایران به‌عنوان یکی از غنی‌ترین مجموعه ژن گندم برای *T. boeoticum* و *Aegilops spp* معرفی شده است (Fakhre-Tabatabaei & Ramak-Massoumi 2001). زیستگاه گندم وحشی در غرب ایران (شرق هلال حاصلخیز) به منطقه ایده‌آلی برای شناسایی ژرم‌پلاسم حاوی ژن‌های مفید برای معرفی به گندم زراعی شده است (Van Slageren 1994). بنابراین، فرض بر این است که تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *T. boeoticum* در این منطقه بالا است و می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی گندم‌های زراعی به‌کار گرفته شوند (Naghavi et al. 2009).

پیش از این، نشانگرهای متعددی از جمله RFLP، AFLP، RAPD، ISSR و SSR برای مشخص کردن تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم محصولات مختلف مانند گندم، برنج (*Oryza sativa* L.)، ذرت (*Zea mays* L.) و سایر گیاهان زراعی استفاده شدند. همچنین در به‌نژادی گیاهان زراعی در سراسر جهان استفاده زیادی از این نشانگرها شده است (Kesawat & Das Kumar 2009). در مقایسه با سایر سیستم‌های نشانگر مولکولی، نشانگر sequence-related amplified polymorphisms (SRAP) در حال حاضر به‌عنوان یک سیستم نشانگر موثر در نظر گرفته می‌شود که نتایج دقیق و قابل تکرار را ارائه می‌دهد. در مقایسه با نشانگرهای RAPD، عملکرد بهتری دارد و در حال حاضر به‌عنوان یک سیستم نشانگر دقیق و تکرارپذیر در نظر گرفته می‌شود (Almarri et al. 2023). در واقع، نشانگر SRAP برای اولین بار توسط Li & Quiros (2001) طراحی شده است که دارای پرایمرهایی با طول‌های ۱۷ یا ۱۸ bp هستند که شامل ۱۳ یا ۱۴ نوکلئوتید به‌عنوان توالی‌های مرکزی هستند. ۱۰ یا ۱۱ نوکلئوتید از توالی‌های مرکزی، به‌عنوان توالی‌های Filler و ۴ نوکلئوتید با توالی CCGG در پرایمر فوروارد و AATT در پرایمر معکوس، نام‌گذاری شده‌اند. پرایمرهای فوروارد مناطق اگزونی را تکثیر می‌کنند در حالی که پرایمرهای معکوس مناطق اینترونی را تکثیر می‌کنند.

به‌خاطر سادگی و هدف قرار دادن قالب قرائت باز (ORF)، استفاده از سیستم‌های نشانگر SRAP آسان‌تر از تکنیک AFLP است (Li & Quiros 2001). این نشانگر، به‌طور موثری برای تجزیه و تحلیل تنوع در گندم (Kesawat & Das Kumar 2009)، جو (Mariey 2018)، برنج (Moonsap et al. 2019) و خربزه (Ahmed et al. 2021) استفاده شده است.

سیستم‌های نشانگر مولکولی، پایه‌ای محکم برای ارزیابی تغییرات ژنتیکی فراهم می‌کنند (Afzal et al. 2018). نشانگرهای مولکولی قادر به تمایز بین ژنوتیپ‌ها هستند، بنابراین در تحقیقات کاربردهای گسترده‌ای دارند (Hassan et al. 2020). به‌علت اهمیتی که گندم‌های وحشی *T. boeoticum* به‌عنوان ذخایر غنی ژنی دارا هستند، در این مطالعه تنوع ژنتیکی بین ۱۰ جمعیت از این گونه که از مناطق غربی کشور جمع آوری شده‌اند با استفاده از نشانگر SRAP بررسی شد.

مواد و روش‌ها

۱۰ جمعیت از گندم‌های دیپلوئید وحشی *T. boeoticom* در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱). DNA ژنومی از برگ‌های جوان گیاهانی که در گلخانه کشت داده شده بودند و با استفاده از روش CTAB (Doyle 1991)، استخراج گردید.

جدول ۱. توده‌های گندم دیپلوئید مورد استفاده در این تحقیق

Table 1. Diploid wheat populations used in this study

ردیف No.	کد Code	محل جمع‌آوری collection site	ردیف No.	کد Code	محل جمع‌آوری collection site
1	A1	Lorestan-Doroud	6	C3	Kurdestan-Mouchesh
2	A10	Lorestan- Lorestan	7	C5	Kurdestan- Kurdestan
3	A11	Lorestan-Sefid Dasht	8	C7	Kurdestan -Kamiaran
4	B3	Kermanshah- Kermanshah	9	B1	Kermanshah-Deh Sefid
5	B4	Kermanshah-Paveh	10	E1	Ardebil-Ardebil

کمیت و کیفیت DNA ژنومی به‌ترتیب با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی شد. در این مطالعه، ۱۵ جفت ترکیب پرایمری به‌عنوان نشانگرهای SRAP استفاده شدند (Li & Quiros 2001) (جدول ۲).

سیستم واکنش ۲۵ میکرولیتری PCR حاوی master mix به‌حجم ۱۲ میکرولیتر، پرایمر فوروارد (۱۰Pm/µl) ۱ میکرولیتر، پرایمر معکوس (۱۰Pm/µl) ۱ میکرولیتر و آب دو بار تقطیر ۹ میکرولیتر است. برای انجام PCR، دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه و سپس در ۵ چرخه ابتدایی دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه انجام گرفت. سپس، برای ۳۵ چرخه بعدی، دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال در ۴۸ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و سپس مرحله نهایی گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت (Abedian et al. 2012). سپس، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد جدا شد.

تجزیه و تحلیل داده های حاصل از SRAP: در تمام ژل‌ها حضور یا عدم حضور هر کدام از باندهای مشاهده شده برای ۱۰ آغازگر به‌ترتیب با اعداد یک و صفر امتیازدهی شدند و سپس در نرم‌افزار Excel یک ماتریس از اعداد صفر و یک برای آغازگرهای مورد استفاده تهیه شد. سپس داده‌ها به بخش ورودی نرم‌افزار NTSYS انتقال داده شد تا آنالیزهای مورد نظر انجام

شود. بررسی میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) به‌وسیله نرم‌افزار Power Marker انجام شد و بررسی شاخص شانون و تنوع ژنی نی به‌وسیله نرم‌افزار POPGEN انجام گرفت (Nei 1972; Shannon 1948).

جدول ۲. مشخصات آغازگرهای SRAP مورد استفاده در این مطالعه

Table 2. Characteristics of SRAP primers used in this study

ردیف No.	نام آغازگر Primer name	دمای اتصال آغازگر Annealing temperature of primer	توالی پرایمرها Primer sequences
1	SM-meSRP-F1	50	5′TGAGTCCAAACCGGATA3′
2	SM-meSRP-F2	54	5′TGAGTCCAAACCGGAGC3′
3	SM-meSRP-F3	50	5′GAGTCCAAACCGGAAT3′
4	SM-meSRP-F4	54	5′TGAGTCCAAACCGGACC3′
5	SM-meSRP-F5	52	5′TGAGTCCAAACCGGAAG3′
6	SM-emSRP-R1	49	5′GACTGCCTACGAATTAAT3′
7	SM-emSRP-R2	53	5′GACTGCGTACGAATTTGC3′
8	SM-emSRP-R3	53	5′GACTGCGTACGAATTGAC3′
9	SM-emSRP-R4	51	5′GACTGCGTACGAATTTGA3′
10	SM-emSRP-R5	51	5′GACTGCGTACGAATTAAC3′

نتایج و بحث

تنوع ژنتیکی گندم بوئتیکوم با نشانگر SRAP: در این مطالعه با استفاده از ۱۵ پرایمر تصادفی SRAP تنوع ژنتیکی ۱۰ جمعیت گیاه گندم وحشی تریتیکوم بوئتیکوم که از چند منطقه مختلف استان‌های کردستان، لرستان، کرمانشاه و اردبیل جمع‌آوری شده بودند مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱). قطعات حاصل از تکثیر توسط پرایمرهای SRAP بر روی ژل آگارز مشاهده شدند (شکل ۲). در این پژوهش از ضریب تشابه Simple Matching برای محاسبه ماتریس تشابه و از روش UPGMA برای تجزیه کلاستر استفاده گردید.

تعداد ۱۳۹ باند توسط ۱۵ پرایمر SRAP تکثیر شدند که شامل ۱۱۴ باند چندشکلی و تعداد ۲۵ باند یک‌شکل بودند. بیشترین باند تولیدشده مربوط به پرایمرهای F3R3 و F3R1 با تعداد هر کدام ۱۴ باند و کمترین میزان باند تولیدشده مربوط به پرایمرهای

F2R4 و F2R5 با تعداد هر کدام ۳ باند بود. بیشترین باند چندشکلی تولیدشده مربوط به پرایمر F3R1 با تعداد ۱۳ باند و کمترین باند چندشکلی تولیدشده مربوط به پرایمرهای F2R4 و F2R5 با تعداد هر کدام ۳ باند تولید شده بودند (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج حاصل از نشانگرهای SRAP

Table 3. Results from SRAP markers

درصد قطعات چندشکل Percentage of polymorphic fragments	باند چند شکل Polymorphic band	تعداد کل باند Total number of bands	پرایمر Primer
100	9	9	F1R1
81.8	9	11	F1R4
100	9	9	F2R3
100	3	3	F2R4
100	3	3	F2R5
92.8	13	14	F3R1
81.8	9	11	F3R2
78.5	11	14	F3R3
72.7	8	11	F3R4
59.9	6	11	F4R2
100	8	8	F4R3
90	9	10	F4R5
62.5	5	8	F5R1
66.6	6	9	F5R2
75	6	8	F5R3
84.10			میانگین mean

تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی و شاخص شانون: در این تحقیق میانگین تعداد آلل موثر مربوط به پرایمرهای SRAP برابر ۱/۶۰۰۸ بود و از ۱/۳۵۸۵ تا ۱/۹۰۷۳ متغیر بود. بیشترین و کمترین تعداد آلل موثر به‌ترتیب مربوط به آغازگر F2R5 با ۱/۹۰۷۳ و F1R1 با ۱/۳۵۸۵ بود (جدول ۴). با توجه به اینکه تعداد آلل موثر یکی از معیارهای مهم در انتخاب آغازگر مناسب و سودمند است، می‌توان از پرایمرهایی که تعداد آلل موثر بیشتر را به خود اختصاص داده‌اند، برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف گندم وحشی بوئتیکوم استفاده کرد.

میزان شاخص تنوع ژنی نی از ۰/۲۳۹۶ تا ۰/۴۷۴۱ متغییر بود. آغازگرهای F2R4 و F2R5 به‌ترتیب کمترین و بیشترین میزان تنوع ژنی نی را دارا بودند. میانگین تنوع ژنی نی در این بررسی برابر ۰/۳۴۴۵ بود. ضریب شانون بیانگر میزان تنوع در بین

جمعیت‌ها است. در این مطالعه میانگین ضریب شانون ۰/۵۱۲۲ بود. آغازگرهای F2R4 با ۰/۳۸۷۸کمترین میزان شاخص شانون و آغازگر F2R5 با ۰/۶۶۶۷ بیشترین میزان را دارا بود.

محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC): میزان اطلاعات چند شکلی در این تحقیق بین ۰/۱۹۸۸ تا ۰/۳۹۴۰ متغییر بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۲۵۳۲ بود (جدول ۴). بالاترین PIC مربوط به پرایمر F1R4 و به‌میزان ۰/۳۹۴۰ بود که نشان‌دهنده کارایی بالای این پرایمر در تمایز جمعیت‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد و کمترین PIC نیز به پرایمر F2R4 با میزان ۰/۱۹۸۸ اختصاص یافت.

جدول ٤. تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی، شاخص شانون پرایمر SRAP

Table 4. Number of effective alleles, Nei gene diversity, Shannon index of SRAP primers

نام آغازگر Primer name	تعداد آلل موثر Number of effective alleles	تنوع ژنی نی Nei's gene diversity	شاخص شانون Shannon index	محتوی اطلاعات چند شکل PIC
F1R1	1.3585	0.3305	0.3895	0.3252
F1R4	1.6559	0.3374	0.5162	0.3940
F2R3	1.5526	0.3138	0.4547	0.2594
F2R4	1.3975	0.2396	0.3878	0.1988
F2R5	1.9073	0.4741	0.6667	0.2548
F3R1	1.5648	0.3388	0.5127	0.3252
F3R2	1.7725	0.4225	0.6099	0.3028
F3R3	1.6667	0.3744	0.5545	0.3275
F3R4	1.7522	0.3572	0.6072	0.3074
F4R2	1.6081	0.3387	0.5017	0.2550
F4R3	1.5613	0.3396	0.5138	0.2871
F4R5	1.5059	0.2995	0.4582	0.2943
F5R1	1.637	0.3606	0.5356	0.3198
F5R2	1.6531	0.3800	0.5624	0.3098
F5R3	1.4118	0.2611	0.4134	0.2725
میانگین mean	1.6008	0.3445	0.5122	0.2532

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر SRAP: محدوده تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها بین ۰/۴۱ تا ۰/۷۹ به‌دست آمد. کمترین میزان تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های E1 (اردبیل) و A1 (لرستان – دورود) به‌میزان ۰/۴۱۲۲ بود. بیشترین تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های C5 (کردستان) و C7 (کردستان- کامیاران) به‌میزان ۰/۷۸۰۷ بود (جدول ۵).

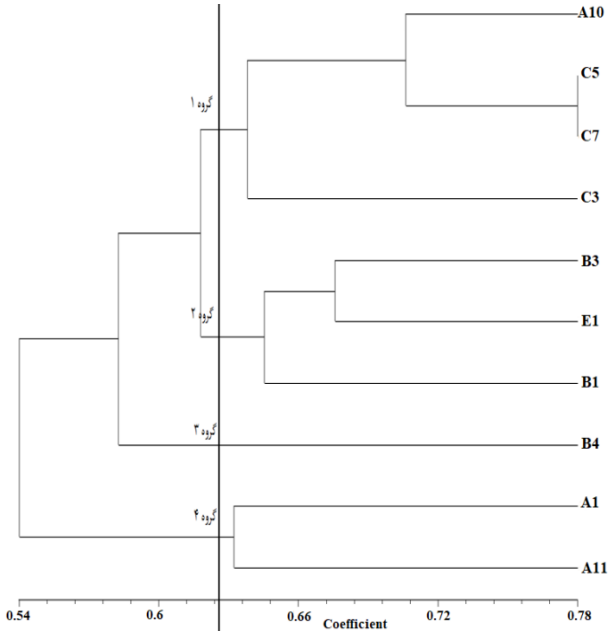
گروه‌بندی بر اساس روش UPGMA انجام گرفت. بر اساس تجزیه خوشه‌ای به‌دست آمده (شکل ۱)، ۱۰ نمونه مورد مطالعه در فاصله ۰/۶۲ در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند. گروه اول، شامل جمعیت‌ها C5 (کردستان- کردستان)، C7 (کردستان- کامیاران)، C3 (کردستان- موچش) و A10 (لرستان- لرستان) هستند. در گروه دوم جمعیت‌های E1 (اردبیل- اردبیل)، B1 (کرمانشاه- ده سفید) و B3 (کرمانشاه- کرمانشاه) جای گرفتند. در گروه سوم جمعیت B4 (کرمانشاه- پاوه) قرار گرفت و در گروه چهارم جمعیت‌های A1 (لرستان- دورود-) و A11 (لرستان- سفید دشت) دسته‌بندی شدند. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که همه جمعیت‌های جمع‌آوری شده از استان‌های کرمانشاه و لرستان در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند و جمعیت‌های استان کردستان در یک گروه قرار گرفتند. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت‌های مربوط به هر استانی که در گروه‌های مختلفی قرار گرفته‌اند از تنوع درون جمعیتی بالایی برخوردار هستند که نشانگر SRAP این تفاوت را به خوبی نشان داده است.

جدول ۵. مقایسه تشابه جمعیت‌های گندم بوئتیکوم

Table 5. Comparison of similarity of populations of *T. boeoticum*

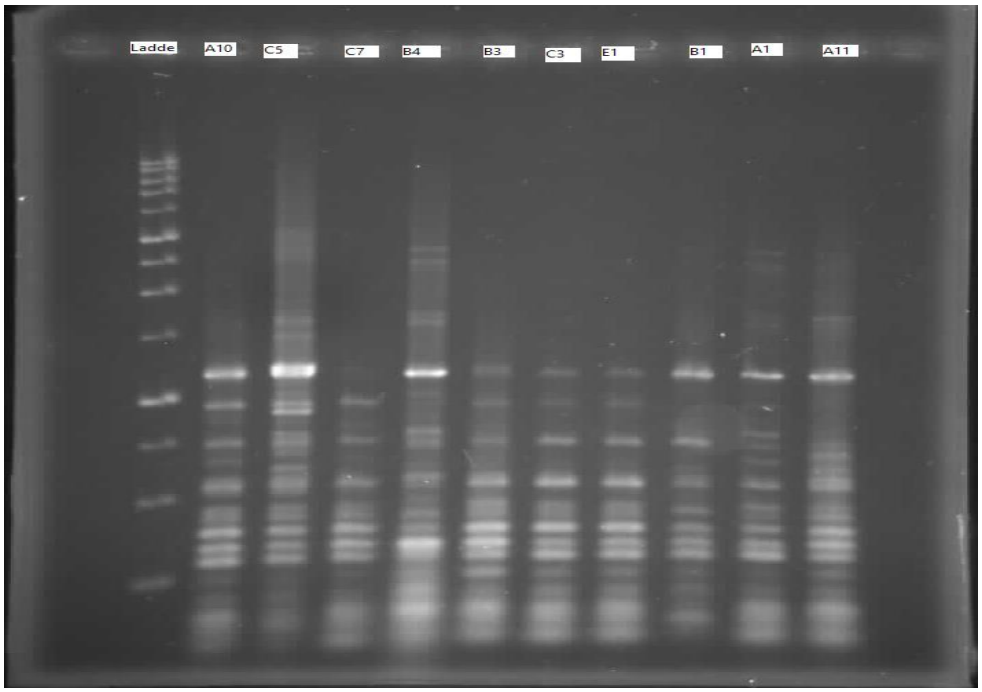
	A10	C5	C7	B4	B3	C3	E1	B1	A1	A11
A10	1									
C5	0.7456	1								
C7	0.6666	0.7807	1							
B4	0.535	0.5964	0.6228	1						
B3	0.6052	0.7192	0.6928	0.614	1					
C3	0.6403	0.6315	0.6403	0.5087	0.614	1				
E1	0.5964	0.6052	0.5964	0.6578	0.6754	0.6578	1			
B1	0.5438	0.6052	0.614	0.535	0.6403	0.5526	0.6491	1		
A1	0.5175	0.5789	0.5701	0.4912	0.4385	0.5263	0.4122	0.6228	1	
A11	0.6403	0.6666	0.5877	0.4736	0.5087	0.5964	0.4473	0.535	0.6315	1

نتایج حاصل از تجزیه به مؤ لفه‌های اصلی: تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با ماتریس به‌دست آمده به‌روش Simple Matching انجام گرفت. از تجزیه به مؤلفه بر روی داده‌های حاصل از SRAP یک پلات دو بعدی حاصل شد. مؤلفه اول و دوم به‌ترتیب ۲۲/۰۵ و ۱۶/۶۰ درصد تغییرات را در بر گرفتند (شکل ۳). بنابراین، دو مؤلفه اول ۳۸/۶۵ درصد از کل تغییرات را توضیح دادند. نتایج نمودار پراکندگی (شکل ۳) با استفاده از دو مؤلفه اول نشان داد که تنوع ژنتیکی با توزیع جغرافیایی مطابقت ندارد، که این موضوع با تجزیه خوشه‌ای نیز تأیید شد. توزیع جمعیت‌ها در این شکل متفاوت با توزیع جمعیت‌ها در گروه‌های تجزیه خوشه‌ای حاصل در این مطالعه می‌باشد که این امر می تواند بیانگر این مطلب باشد که برای بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گندم بوئتیکوم نیاز به نشانگرهای بیشتری است.



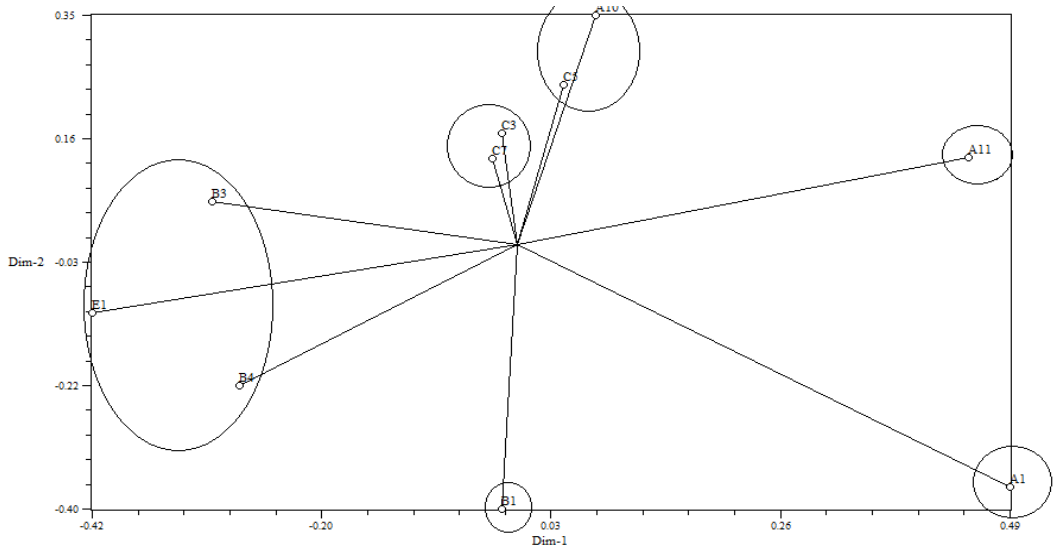
شکل ۱. آنالیز خوشه‌ای حاصل از داده‌های SRAP برای جمعیت‌های گندم مورد مطالعه

Figure 1. Cluster analysis from SRAP data for the studied wheat populations



شکل ۲. الگوی باندی آغازگر F1R4

Figure 2. F1R4 primer band pattern



شکل ۳. نمودار دو بعدی حاصل از داده‌های SRAP برای جمعیت‌های گندم مورد مطالعه

Figure 3. Two-dimensional plot of SRAP data for the studied wheat populations

فرسایش ژنتیکی در گندم زراعی، لزوم ارزیابی تنوع ژنتیکی در خویشاوندان وحشی آن را نشان می‌دهد. ارزیابی تنوع ژنتیکی برای به حداکثر رساندن کارایی برنامه‌های اصلاحی بسیار مهم است (Pour-Aboughadareh, et al. 2017). نشانگرهای مولکولی به‌علت اینکه تفاوت‌های ژنتیکی را با جزئیات بیشتری و بدون دخالت عوامل محیطی نشان می‌دهند، اطلاعات ارزشمندی را به‌ویژه در مطالعات مربوط به تنوع ژنتیکی و روابط ژنتیکی بین گونه‌های مختلف گیاهی ارائه می‌دهند (Ghahremani-Majd & Dashti 2014). آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی ضمن حفاظت ذخایر ژنتیکی، قابلیت استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی را ممکن می‌سازد (McPherson et al. 2004). از بین رفتن توده‌های بومی و تولید ارقام یکنواخت، باعث کاهش تنوع ژنتیکی و افزایش فرسایش ژنتیکی می‌شود. بنابراین ارزیابی تنوع گونه‌های گیاهی برای نگهداری منابع ژنتیکی و کاربرد علمی و عملی این مواد در برنامه‌های به‌نژادی برای اصلاحگران امری حیاتی است. تخمین تنوع ژنتیکی لاین‌های مناطق مختلف جغرافیایی اطلاعات با ارزشی را درباره نگهداری و استفاده از ژرم‌پلاسم دست‌نخورده موجود در هر منطقه در اختیار اصلاح‌گران قرار می‌دهد تا از این تنوع جهت بهبود صفات کیفی و کمی و افزایش عملکرد استفاده کنند (Knowles 1969).

در این پژوهش از ۱۵ نشانگر SRAP برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۰ جمعیت گندم وحشی تریتیکوم بوئیتیکوم استفاده شد. ضریب تشابه ژنتیکی بین تمام جمعیت‌ها در بازه ۰/۴۱ تا ۰/۷۹ بود که حاکی از وجود تنوع بین آن‌ها است. همچنین بر اساس تجزیه خوشه‌ای، ۱۰ ژنوتیپ در ۴ گروه قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که نمونه‌های استان‌های مختلف در داخل گروه‌های مختلف جای گرفتند. این امر نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در این استان‌ها است. پیش از این، چندین محقق تنوع ژنتیکی گونه‌های ایرانی *T. boeoticum* را بررسی کردند. Naghavi et al. (2009) با استفاده از نشانگرهای RAPD، AFLP

و SSR نشان دادند که تنوع گسترده‌ای در گونه *T. boeoticum* غرب ایران وجود دارد. همچنین، با استفاده از نشانگرهای AFLP سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *T. boeoticum* جمع‌آوری شده از استان‌های کرمانشاه و لرستان یافت شد (Maleki et al. 2006).

تاکنون از نشانگر SRAP برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف استفاده شده است. چندشکلی بالایی با استفاده از این نشانگر در بین ارقام گیلاس (Abedian et al. 2012)، پسته (Talebi et al. 2012)، درخت کنار (Yang et al. 2012) و جمعیت‌های *Pogostemon cablin* (Wu et al. 2010) مشاهده شد. همچنین در مطالعه‌ای دیگر، تنوع ژنتیکی تربچه را با استفاده از نشانگرهای SRAP، ISSR، RAPD ارزیابی کردند و درصد چندشکلی نشانگر SRAP حدود ۸۵ درصد بود که مقدار قابل توجهی است (Liu et al. 2008). در تحقیقی از نشانگر SRAP برای بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰ ژنوتیپ گندم نان محلی با استفاده از سیزده آغازگر استفاده کردند و ۹۵۴ قطعه را با میانگین چندشکلی ۹۹/۶۷ درصد، تکثیر کردند (Abdelkhalik et al. 2016). در آزمایشی ۳۰ ژنوتیپ گندم روسی جمع‌آوری‌شده توسط CIMMYT (مرکز بین‌المللی به‌نژادی ذرت و گندم) را با استفاده از ۲۳ ترکیب آغازگر SRAP غربالگری کردند. در این مطالعه، به‌طور مؤثر ۶۸۶ باند DNA با میزان چند شکلی ۹۰ درصد را تکثیر کردند (Filiz 2012). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر از ۸ ترکیب پرایمری SRAP برای گروه‌بندی ۲۲ رقم گندم دوروم استفاده گردید. نتایج نشان داد که هشت ترکیب آغازگر با موفقیت ۴۸۲ باند تولید کردند. در مجموع ۳۴ جایگاه چندشکلی وجود داشت که از ۲ (حداقل) تا ۷ (حداکثر) متغیر بود و میانگین جایگاه‌های چندشکلی ۴/۲۵ بود. مقادیر محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) بین ۰/۱۹ تا ۰/۳۳ متغیر بود و میانگین آن ۰/۲۷ بود (Almarri et al. 2023). در مطالعه حاضر، ۱۵ ترکیب پرایمری SRAP تعداد ۱۳۹ باند تکثیر کردند که شامل ۱۱۴ باند چندشکل بود. همچنین، میزان اطلاعات چندشکلی در این تحقیق بین ۰/۱۹۸۸ تا ۰/۳۹۴۰ متغییر بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۲۵۳۲ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به ضرائب تشابه بین جمعیت‌های مختلف گندم وحشی بوئتیکوم و نیز با توجه به گروه‌بندی جمعیت‌ها در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای می‌توان نتیجه گرفت که تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی در بین جمعیت‌های مورد بررسی وجود دارد. همچنین، بالا بودن معیارهای تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی، شاخص شانون و میزان PIC برای آغازگرهای F1R4 و F2R5 کارآیی بالای این آغازگرها در ایجاد تمایز بین جمعیت‌های مورد بررسی در این تحقیق را نشان می‌دهد.

References

Abedian, M., Talebi, M., Golmohammdi, H. R., & Sayed-Tabatabaei, B. E. (2012). Genetic diversity and population structure of mahaleb cherry (*Prunus mahaleb* L.) and sweet cherry (*Prunus avium* L.) using SRAP markers. *Biochemical systematics and Ecology*, *40*, 112-117. https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.10.005

Abdelkhalik, S. M., Salem, A. K. M., Abdelaziz, A. R., & Ammar, M. H. (2016). Morphological and sequence-related amplified polymorphism-based molecular diversity of local and exotic wheat genotypes. *Genetics and Molecular Research*, *15*(2), 1-9. http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15027484

Afzal, M., Alghamdi, S. S., Migdadi, H. M., Khan, M. A., & Farooq, M. (2018). Morphological and molecular genetic diversity analysis of chickpea genotypes. *International Journal of Agriculture and Biology*, *20*, 1062-1070. http://dx.doi.org/10.17957/IJAB/15.0605

Ahmed, D. A., Tahir, N. A. R., Salih, S. H., & Talebi, R. (2021). Genome diversity and population structure analysis of Iranian landrace and improved barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using arbitrary functional gene-based molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *68*(3), 1045-1060. https://doi.org/10.1007/s10722-020-01047-7

Almarri, N. B., Alghamdi, S. S., ElShal, M. H., & Afzal, M. (2023). Estimating genetic diversity among durum wheat (*Triticum durum* desf.) landraces using morphological and SRAP markers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *22*(5), 273-282. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2023.01.002

Doyle, J. (1991). DNA Protocols for Plants. In: Hewitt, G.M., Johnston, A.W.B., Young, J.P.W. (eds) Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series, vol 57. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7_18

Filiz, E. (2012). Genetic diversity analysis of CIMMYT bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines by SRAP markers. *Electronic Journal of Plant Breeding*, *3*(4), 956-963.

Ghahremani-Majd, H., & Dashti, F. (2014). Genetic diversity of Persian shallot (*Allium hirtifolium* Boiss.) populations based on morphological traits and RAPD markers. *Plant systematics and Evolution*, *300*, 1021-1030. https://doi.org/10.1007/s00606-013-0940-5

Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, *106*(949), 283-292. https://doi.org/10.1086/282771

Fakhre Tabatabaei, S. M., & Ramak Maassoumi, T. (2001). *Triticum boeoticum* ssp thaoudar "exists" in Iran!. *Cereal Research Communications*, *29*, 121-126. https://doi.org/10.1007/BF03543651

Harlan, J. R., & Zohary, D. (1996). Cultivated einkorn=. *Triticum monococcum*, 1074-1080.

Hassan, R., Waheed, M. Q., Shokat, S., Rehman-Arif, M. A., Tariq, R., Arif, M., & Arif, A. (2020). Estimation of genomic diversity using sequence related amplified polymorphism (SRAP) markers in a mini core collection of wheat germplasm from Pakistan. *Cereal Research Communications*, *48*, 33-40. https://doi.org/10.1007/s42976-019-00006-y

Kesawat, M. S., & Das Kumar, B. (2009). Molecular markers: it's application in crop improvement. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, *12*, 169-181. https://doi.org/10.1007/s12892-009-0124-6

Kihara, H. (1944). Die Entdeckung des DD-Analysators beim Weizen. *Agriculture & Horticulture*, *19*, 889-890.

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

Knowles, P. F. (1969). Centers of plant diversity and conservation of crop germ plasm: Safflower. *Economic Botany*, *23*(4), 324-329.

Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theoretical and Applied Genetics*, *103*, 455-461. https://doi.org/10.1007/s001220100570

Liu, L. W., Zhao, L. P., Gong, Y. Q., Wang, M. X., Chen, L. M., Yang, J. L., ... & Wang, L. Z. (2008). DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of late-bolting radish cultivars with RAPD, ISSR and SRAP markers. *Scientia Horticulturae*, *116*(3), 240-247. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.12.011

Mariey, S. (2018). Genetic diversity study of Egyptian barley cultivars using sequence-related amplified polymorphism (SRAP) Analysis for water stress tolerance. *Journal of Sustainable Agricultural Sciences*, *44* (1), 21–37. https://doi.org/10.21608/jsas.2018.2604.1051.

McPherson, M. A., Good, A. G., Keith C. Topinka, A., & Hall, L. M. (2004). Theoretical hybridization potential of transgenic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) with weedy relatives in the New World. *Canadian Journal of Plant Science*, *84*(3), 923-934. https://doi.org/10.4141/P03-150.

Maleki, M., Naghavi, M. R., Alizadeh, H., Potki, P., Kazemi, M., Pirseyedi, S. M., ... & FAKHR, T. (2006). Study of genetic variation in wild diploid wheat (*Triticum boeoticum*) from Iran using AFLP markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, *4*, 4, 269-274. [In Persian]

Mizumoto, K., Hirosawa, S., Nakamura, C., & Takumi, S. (2002). Nuclear and chloroplast genome genetic diversity in the wild einkorn wheat, *Triticum urartu*, revealed by AFLP and SSLP analyses. *Hereditas*, *137*, 208-214. https://doi.org/10.1034/j.1601-5223.2002.01654.x

Moonsap, P., Laksanavilat, N., Sinumporn, S., Tasanasuwan, P., Kate-Ngam, S., & Jantasuriyarat, C. (2019). Genetic diversity of Indo-China rice varieties using ISSR, SRAP

and InDel markers. *Journal of Genetics*, *98*, 1-11. https://doi.org/10.1007/s12041-019-1123-0

Naghavi, M. R., Malaki, M., Alizadeh, H., Pirseyedi, S., & Mardi, M. (2009). An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat *Triticum boeoticum* from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *11* (5), 85-598. 20.1001.1.16807073.2009.11.5.9.6

Pour-Aboughadareh, A., Mahmoudi, M., Moghaddam, M., Ahmadi, J., Mehrabi, A. A., & Alavikia, S. S. (2017). Agro-morphological and molecular variability in *Triticum boeoticum* accessions from Zagros Mountains, Iran. *Genetic Resources and Crop Evolution*, *64*, 545-556. https://doi.org/10.1007/s10722-016-0381-4

Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, *27*(3), 379-423. https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x

Takumi, S., Nasuda, S., Liu, Y. G., & Tsunewaki, K. (1993). Wheat phytogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA. 1. Einkorn wheat. *The Japanese Journal of Genetics*, *68*(1), 73-79. https://doi.org/10.1266/jjg.68.73

Talebi, M., Kazemi, M., & Sayed-Tabatabaei, B. E. (2012). Molecular diversity and phylogenetic relationships of *Pistacia vera*, *Pistacia atlantica* subsp. mutica and *Pistacia khinjuk* using SRAP markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, *44*, 179-185. https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.05.013

Van Slageren, M. W. (1994). Wild wheats: A monograph of *Aegilops* L. And amblyopyrum (jaub. & spach) eig (poaceae) (pp. 1-512). Wageningen: Agricultural University.

Wu, Y. G., Guo, Q. S., He, J. C., Lin, Y. F., Luo, L. J., & Liu, G. D. (2010). Genetic diversity analysis among and within populations of *Pogostemon cablin* from China with ISSR and SRAP markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, *38*(1), 63-72. https://doi.org/10.1016/j.bse.2009.12.006

Yang, M., Han, Y., Xu, L., Zhao, J., & Liu, Y. (2012). Comparative analysis of genetic diversity of lotus (Nelumbo) using SSR and SRAP markers. *Scientia Horticulturae*, *142*, 185-195. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.05.021