

بررسی ساختار تنوع ژنتیکی جمعیت‌های نیای وحشی گندم (*Aegilops crassa*) با استفاده از نشانگرهای بین ریزماهوره ژنومی

طیبه خرمی فرد^{۱*}، علی اشرف مهرابی^۲، علی آرمینیان^۳ و آرش فاضلی^۳

*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، پست الکترونیک: taiebekhoramifard@yahoo.com

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۳- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۲۷

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۱۶ جمعیت از گونه *Aegilops crassa* با استفاده از ۱۰ آغازگر ISSR، در مجموع ۱۰۵ آلل تکثیر شدند که از این تعداد، ۸۶ آلل (۸۱/۹۰ درصد) به عنوان آلل چندشکل تشخیص داده شدند. تعداد آلل‌های تکثیر شده از ۶ تا ۱۵ با میانگین ۱۱ آلل متغیر بود. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۱۷ در آغازگر UBC842 تا ۰/۳۴ برای آغازگر ISSR12 متفاوت بود. همچنین شاخص نشانگر از ۰/۹۸ برای آغازگر UBC842 تا ۲/۷ برای آغازگر ISSR08 متفاوت بود. میانگین شباهت ژنتیکی محاسبه شده برای اطلاعات نشانگرهای بین ریزماهوره‌ای برابر ۰/۸۹ بود و از ۰/۷۶ (بین دو ژنوتیپ از کرمانشاه و تبریز) تا ۰/۹۶ (بین دو ژنوتیپ از ایلام و کرمانشاه) متفاوت بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را در سه گروه جداگانه قرار داد که به وسیله تجزیه واریانس مولکولی تأیید شد. البته روش‌های گروه‌بندی خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی نتوانست جمعیت‌ها را به طور کامل از هم تفکیک کند و عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان داد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این جمعیت‌ها می‌باشد. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که سطح بیشتری از تنوع به درون جمعیت‌ها (۵۳ درصد) تعلق داشت، در حالی که (۴۷ درصد) تنوع در بین جمعیت‌ها مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، تجزیه به مختصات اصلی، تجزیه خوشه‌ای، نشانگر ISSR

مقدمه

جفت شدن کروموزوم‌های میوزی در هیبریدهای بین سیتوتیپ‌های تتراپلوئید و هگزاپلوئید *Ae. crassa* بیانگر آن است که فرم هگزاپلوئید از هیبریداسیون بین فرم تتراپلوئید *Ae. crassa* و *Ae. tauschii* حاصل شده است. اما در حال حاضر منشأ سیتوتیپ تتراپلوئید *Ae. crassa* را نمی‌توان با دقت تعیین کرد (Kihara et al., 1965). مرکز اولیه آرژیلوپس طبق بررسی‌های مختلف در هلال حاصلخیز

گونه *Aegilops crassa* گیاهی یکساله و متعلق به خانواده Poaceae و طایفه Triticeae می‌باشد (Harish et al., 2005; Harish et al., 2009). این گونه دارای دو سیتوتیپ تتراپلوئید و هگزاپلوئید به ترتیب با ژنوم‌های $(2n=2x=28 M^{cr}M^{cr}D^{cr1}D^{cr1})$ و $(2n=6x=42 M^{cr}M^{cr}D^{cr1}D^{cr1} D^{cr2}D^{cr2})$ است (Eig, 1929). تجزیه

است، زیرا مقدار زیادی از گونه‌های آزیلوپس نسبت به مناطق دیگر در این منطقه یافت می‌شوند (Van Slageren, 1994). گونه‌های جنس آزیلوپس از جمله اجداد وحشی گندم بوده و به‌طور عمده در جنوب نواحی مدیترانه تا خاورمیانه و آسیای مرکزی پراکنده‌اند (Karimi, 1992). پراکنش این گونه در ترکیه، فلسطین، سوریه، اردن، ایران، عراق، لبنان، افغانستان، ترکمنستان و پامیر و کوه‌های آلتای گزارش شده است. در ایران دامنه پراکنش بسیار وسیعی داشته و از دامنه‌های البرز در شرق کشور تا شمال‌غرب در آذربایجان غربی و بر روی دامنه‌های رشته‌کوه زاگرس تا سواحل جنوبی در ارتفاعات استان بوشهر و هرمزگان می‌روید (Ciaffi et al., 1993; Reddy et al., 2002).

بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از ذخایر توارثی، حیاتی بوده و اطلاع از سطح تنوع ژنتیکی در گونه گیاهی برای انتخاب والدین برای رسیدن به هیبرید مناسب از اهمیت زیادی برخوردار است (Singh, 2003). برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از نشانگرهای مورفولوژیکی، پروتئینی و نشانگرهای مولکولی استفاده کرد (Rejesus et al., 1996; Tanksley et al., 1997). یکی از نشانگرهایی که در مطالعات تنوع ژنتیکی موجودات زنده و گیاهان کاربرد دارد، نشانگر *ISSR* است که یک روش مبتنی بر *PCR* و شامل تکثیر یک قطعه *DNA* حاضر در فاصله تکثیرپذیر میان دو ناحیه تکراری ریزماهواره منحصر به فرد با جهات مخالف می‌باشد. این تکنیک به طراحی آغازگر نیازی ندارد و میزان چندشکلی بیشتر و آشکارسازی راحت‌تری نسبت به دیگر نشانگرهای مولکولی دارد (Terzopoulos and Bebeli, 2008) و یکی از نشانگرهایی است که در مطالعات تنوع ژنتیکی موجودات زنده و گیاهان، رده‌بندی، نشانمند کردن ژن‌ها، نقشه‌یابی ژنتیکی و زیست‌شناسی تکاملی کاربرد دارد (Plaschke et al., 1995). در یک تحقیق Kazutoshi و همکاران (۱۹۹۸) تنوع ژنتیکی بین ۱۱۲ توده از گونه‌های *Ae. tauschii* (ژنوم DD)، *Ae. cylindrical* (ژنوم CCDD)، *Ae. crassa* (ژنوم DDMM) و *Ae. biuncialis* (ژنوم UUMM) و *Ae. brincialis* (ژنوم UUCC) جمع‌آوری شده از آسیای مرکزی و شمال منطقه قفقاز را به وسیله نشانگر RAPD، بررسی کردند. گونه‌های آزیلوپس به‌طور کلی به دو گروه اصلی، یکی شامل گونه‌های با ژنوم D و دیگری شامل گونه‌های با ژنوم U تقسیم شدند. همچنین Pestsova و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از ریزماهواره‌ها به بررسی تنوع موجود در نمونه‌های *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از منطقه قفقاز تا آسیای مرکزی پرداخته و مشاهده کردند که تعداد نسبتاً کمی از ریزماهواره‌ها برای بررسی ژنتیکی مناسب می‌باشند. همچنین Lelley و همکاران (۲۰۰۰) به منظور مطالعه فیلوژنی *Ae. tauschii* و گندم نان، ۶۰ نمونه از هر دو گونه را با استفاده از ۱۴ آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند و بالاترین سطح تنوع ژنتیکی را در ناحیه قفقاز و جنوب‌شرق دریای خزر مشاهده کردند. در مطالعه دیگری Konstantinos و همکاران (۲۰۱۰) تجزیه و تحلیل‌های RAPD و ISSR را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و نسبت‌های میان گونه‌های آزیلوپس یونانی، مورد استفاده قرار دادند. در تحقیق مذکور ۱۹ پرایمر RAPD و ۱۰ پرایمر ISSR به ترتیب ۳۴۴ و ۱۷۰ باند چند شکل تولید کردند که در ترسیم دندروگرام‌ها استفاده شود. در مطالعه‌ای بر روی کرچک *Gajera* و همکاران (۲۰۱۰) از ۳۰ نشانگر RAPD و ۵ نشانگر ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی این گونه استفاده کردند. حاصل تکثیر *DNA* ژنومی از ۲۲ ژنوتیپ با استفاده از RAPD ۲۵۶ قطعه بود که ۲۰۵ قطعه چندشکل بودند. پنج آغازگر ISSR، ۴۷ باند را در کل ۲۲ ژنوتیپ تولید کردند که ۳۲ باند چندشکل بودند. در تحقیقی Agostini و همکاران (۲۰۰۸) تنوع ژنتیکی میان گونه‌های *Cunila royen ex L.* در شمال آمریکا را بر اساس نشانگر ISSR بررسی کردند. گونه‌های *Cunila* به‌طور معمول در شمال آمریکا به‌عنوان یک گیاه دارویی متداول استفاده می‌شوند. در مطالعه مذکور ۱۱ جنس بررسی شد و از هفت آغازگر که در مجموع ۱۰۷ باند تولید کردند، استفاده شد (Agostini et al., 2008).

بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از ذخایر توارثی، حیاتی بوده و اطلاع از سطح تنوع ژنتیکی در گونه گیاهی برای انتخاب والدین برای رسیدن به هیبرید مناسب از اهمیت زیادی برخوردار است (Singh, 2003). برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از نشانگرهای مورفولوژیکی، پروتئینی و نشانگرهای مولکولی استفاده کرد (Rejesus et al., 1996; Tanksley et al., 1997). یکی از نشانگرهایی که در مطالعات تنوع ژنتیکی موجودات زنده و گیاهان کاربرد دارد، نشانگر *ISSR* است که یک روش مبتنی بر *PCR* و شامل تکثیر یک قطعه *DNA* حاضر در فاصله تکثیرپذیر میان دو ناحیه تکراری ریزماهواره منحصر به فرد با جهات مخالف می‌باشد. این تکنیک به طراحی آغازگر نیازی ندارد و میزان چندشکلی بیشتر و آشکارسازی راحت‌تری نسبت به دیگر نشانگرهای مولکولی دارد (Terzopoulos and Bebeli, 2008) و یکی از نشانگرهایی است که در مطالعات تنوع ژنتیکی موجودات زنده و گیاهان، رده‌بندی، نشانمند کردن ژن‌ها، نقشه‌یابی ژنتیکی و زیست‌شناسی تکاملی کاربرد دارد (Plaschke et al., 1995). در یک تحقیق Kazutoshi و همکاران (۱۹۹۸) تنوع ژنتیکی بین ۱۱۲ توده از گونه‌های *Ae. tauschii* (ژنوم DD)، *Ae. cylindrical* (ژنوم CCDD)، *Ae. crassa* (ژنوم DDMM) و *Ae. biuncialis* (ژنوم UUMM) و *Ae. brincialis* (ژنوم UUCC) جمع‌آوری شده از آسیای مرکزی و شمال منطقه قفقاز را به وسیله نشانگر RAPD، بررسی کردند. گونه‌های آزیلوپس به‌طور کلی به دو گروه اصلی، یکی شامل گونه‌های با ژنوم D و دیگری شامل گونه‌های با ژنوم U تقسیم شدند. همچنین Pestsova و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از ریزماهواره‌ها به بررسی تنوع موجود در نمونه‌های *Ae. tauschii* جمع‌آوری شده از منطقه قفقاز تا آسیای مرکزی پرداخته و مشاهده کردند که تعداد نسبتاً کمی از ریزماهواره‌ها برای بررسی ژنتیکی مناسب می‌باشند. همچنین Lelley و همکاران (۲۰۰۰) به منظور مطالعه فیلوژنی *Ae. tauschii* و گندم نان، ۶۰ نمونه از هر دو گونه را با استفاده از ۱۴ آغازگر ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند و بالاترین سطح تنوع ژنتیکی را در ناحیه قفقاز و جنوب‌شرق دریای خزر مشاهده کردند. در مطالعه دیگری Konstantinos و همکاران (۲۰۱۰) تجزیه و تحلیل‌های RAPD و ISSR را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و نسبت‌های میان گونه‌های آزیلوپس یونانی، مورد استفاده قرار دادند. در تحقیق مذکور ۱۹ پرایمر RAPD و ۱۰ پرایمر ISSR به ترتیب ۳۴۴ و ۱۷۰ باند چند شکل تولید کردند که در ترسیم دندروگرام‌ها استفاده شود. در مطالعه‌ای بر روی کرچک *Gajera* و همکاران (۲۰۱۰) از ۳۰ نشانگر RAPD و ۵ نشانگر ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی این گونه استفاده کردند. حاصل تکثیر *DNA* ژنومی از ۲۲ ژنوتیپ با استفاده از RAPD ۲۵۶ قطعه بود که ۲۰۵ قطعه چندشکل بودند. پنج آغازگر ISSR، ۴۷ باند را در کل ۲۲ ژنوتیپ تولید کردند که ۳۲ باند چندشکل بودند. در تحقیقی Agostini و همکاران (۲۰۰۸) تنوع ژنتیکی میان گونه‌های *Cunila royen ex L.* در شمال آمریکا را بر اساس نشانگر ISSR بررسی کردند. گونه‌های *Cunila* به‌طور معمول در شمال آمریکا به‌عنوان یک گیاه دارویی متداول استفاده می‌شوند. در مطالعه مذکور ۱۱ جنس بررسی شد و از هفت آغازگر که در مجموع ۱۰۷ باند تولید کردند، استفاده شد (Agostini et al., 2008).

به مدت ۳۰ ثانیه برای تک رشته‌ای شدن DNA، دمای توصیه شده آغازگر به علاوه ۵ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه برای اتصال آغازگر و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه برای بسط آغازگر و پس از پایان این مرحله ۳۴ چرخه حرارتی شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای توصیه شده برای هر آغازگر به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه بود. بعد از پایان این مرحله، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه برای تکمیل بسط به کار رفت. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز ۱/۵ درصد واسرشته‌ساز تفکیک و رنگ آمیزی به روش اتیدیوم بروماید انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: باندهای حاصل از تکثیر جمعیت‌ها با استفاده از هر آغازگر به عنوان داده‌های اولیه با اعداد یک (برای وجود باند) و صفر (نبود باند) امتیازدهی شدند. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از فرمول $PIC = 1 - p_{ij}^2$ محاسبه شد که در آن Pij بیانگر فراوانی آلل زام برای نشانگر iام است. همچنین میزان شاخص نشانگر (MI) از فرمول حاصلضرب شاخص EMR در شاخص محتوای چندشکلی محاسبه شد. به طوری که شاخص EMR از حاصلضرب درصد چندشکلی در تعداد باندهای چندشکل به دست آمد (Ciaffi et al., 1993). شاخص‌های عدم تشابه همراه با روش‌های اتصال میانگین (UPGMA) و اتصال مجاور (NJ) با استفاده از نرم‌افزار DARWin 5.0 (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2006) محاسبه و با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT مقایسه شدند. از نرم‌افزار MEGA 3.1 (Kumar et al., 2004) برای تجزیه خوشه‌ای و محاسبه فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها استفاده شد و بعد با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx 6.41، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها، درصد آلل‌های چندشکل، شاخص تصحیح شده هتروژنی و شاخص اطلاعات شانون محاسبه و تجزیه واریانس مولکولی نیز انجام شد.

به طور کلی اهداف اصلی این تحقیق عبارت بودند از:

۱. شناخت ارتباط ژنتیکی بین و درون توده‌های

Ae. crassa

۲. گروه‌بندی آنها و تشکیل یک درخت‌واره براساس

انگشت‌نگاری ژنومی حاصل از نشانگرهای ISSR

۳. مطالعه میزان تنوع و تفرق ژنتیکی جمعیت‌های

شناسایی شده به منظور مدیریت بهتر ژرم پلاسم موجود و

استفاده بهینه از آن در برنامه‌های به‌نژادی

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این تحقیق از ۱۶ جمعیت از گونه *Ae.*

crassa استفاده شد که از هر جمعیت ۴ نمونه به صورت

تک بذر استخراج شد. در مجموع ۶۴ نمونه برگ

جمع‌آوری شد که از ۶ استان شامل آذربایجان شرقی،

کرمانشاه، ایلام، خرم‌آباد، چهارمحال و بختیاری و فارس

که توسط بانک ژن غلات و حبوبات غرب کشور واقع در

دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام جمع‌آوری شده بود

(جدول ۱ و شکل ۱).

استخراج DNA ژنومی: ابتدا DNA ژنومی از بافت

برگ گیاهچه‌های دو تا سه برگی رشد کرده در گلدان (۴

گیاهچه از هر جمعیت)، به روش CTAB استخراج شد.

کمیت و کیفیت DNA نمونه‌ها با استفاده از روش

الکتروفورز DNA روی ژل آگاروز ۰/۸ درصد در بافر

1X، TAE و نیز روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های

۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی شد و DNA نمونه‌ها تا حد

۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شد.

مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: واکنش زنجیره‌ای

پلیمراز در حجم ۱۴ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر آب

دوبار تقطیر، ۷ میکرولیتر کیت PCR (مستر میکس)، ۲

میکرولیتر آغازگر و در نهایت ۲ میکرولیتر DNA ژنومی

انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با برنامه زمانی ۴

دقیقه چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه

سانتی‌گراد، ۹ چرخه حرارتی شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد

جدول ۱- جمعیت‌های *Ae. crassa* مورد استفاده در این تحقیق

کد استفاده شده	کد جمعیت	محل جمع‌آوری
۱	S149	فارس-بردج
۲	S280	کرمانشاه- جاده سنقر به اسلام آباد-روستای زوناف
۳	IUGB-00408	کرمانشاه- هرسین- نورآباد- روستای ده سفید
۴	IUGB-00334	ایلام
۵	IUGB-00817	ایلام- شیروان چرداول- روستای تخمه بلوط
۶	IUGB-00149	فارس- بردج
۷	IUGB-00319	شهرکرد- بروجن- جاده سی سخت
۸	IUGB-00284	کرمانشاه- سنقر به اسلام آباد- غار تپه
۹	IUGB-00881	ایلام- بانگنجا
۱۰	IUGB-00379	کرمانشاه- هرسین- روستای کهریز
۱۱	IUGB-00830	ایلام- شیروان- روستای بردبل
۱۲	IUGB-00280	تبریز- آذرشهر- بناب
۱۳	IUGB-01582	خرم آباد- سنجایی- دلفان
۱۴	IUGB-01564	خرم آباد- بروجرد- دهریز
۱۵	IUGB-00170	۱۰ کیلومتری جاده شیراز-سپیدان
۱۶	IUGB-01267	کرمانشاه- اسلام آباد- حمیل

نتایج

شده در این تحقیق از ۱۹۰ جفت باز (آغازگر UBC840) تا ۱۵۰۰ جفت باز (آغازگر ۱۴، ۱۲) متغیر بود (جدول ۲). محاسبه محتوای اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر: محتوای اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر هر آغازگر، به‌طور جداگانه محاسبه شد که نتایج در جدول ۲ آمده است. آغازگر ISSR12 بیشترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۳۴) و آغازگر ISSR08 بیشترین شاخص نشانگر (۲/۷) را نشان دادند. کمترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۱۷) و شاخص نشانگر (۰/۹۸) برای آغازگر UBC842 به‌دست آمد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۲۵) و میانگین شاخص نشانگر (۱/۷۴) محاسبه شد. همین‌طور Konstantinos و همکاران (۲۰۱۰) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های آزیلوپس میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی را ۰/۲۲ و میانگین شاخص نشانگر ۳/۷۱ گزارش کردند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، آغازگر ISSR08

محاسبه چندشکلی: با استفاده از ۱۰ آغازگر به‌کار رفته در مجموع ۱۰۵ باند (آلل) تکثیر شد که از این تعداد ۸۶ آلل، به‌عبارت دیگر ۸۱/۹۰ درصد آلل‌ها آلل چندشکل تشخیص داده شدند. در مطالعه Farkhari و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی تنوع ژنتیکی گونه *Ae. cylindrica* با استفاده از ۱۴ آغازگر RAPD، درصد چندشکلی ۶۹ درصد گزارش شد. تعداد آلل‌ها در این تحقیق، از ۶ تا ۱۵ متغیر بود و میانگین آلل‌های تولید شده، برای هر آغازگر ۱۱ بود. در بین این آغازگرها، آغازگر UBC836 با ۱۵ آلل بیشترین آلل را در میان آلل‌های تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. آغازگر UBC812 نیز با ۶ آلل کمترین تعداد آلل را به‌خود اختصاص داد (جدول ۲). در ضمن Najaphy و همکاران (۲۰۱۱) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم تعداد آلل‌ها را ۵ تا ۲۰ و میانگین ۸/۶ آلل برای هر آغازگر ISSR به‌دست آوردند. محدوده قطعات تولید

به دست آمده، بین دو الگوریتم UPGMA و NJ، الگوریتم NJ در آزمون مانتل ضریب کوفنتیک بالاتری نشان داد، در نتیجه در گزارش نتایج از این روش استفاده شد.

تجزیه خوشه‌ای: برای بررسی میزان شباهت بین جمعیت‌های مختلف و گروه‌بندی آنها، با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریس شاخص Nei با الگوریتم NJ دندروگرام جمعیت‌های مختلف ترسیم شد. دندروگرام به دست آمده (شکل ۱) جمعیت‌ها را در سه گروه و زیرگروه‌های متعددی قرار داد. به طوری که در گروه اول ۶ جمعیت از استان‌های فارس، کرمانشاه، ایلام، در گروه دوم ۵ جمعیت از استان‌های شهرکرد، کرمانشاه، خرم‌آباد، شیراز و در گروه سوم نیز ۵ جمعیت از استان‌های ایلام، کرمانشاه و تبریز قرار گرفت. نتایج گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای تا حد زیادی عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان می‌دهد. به طوری که نمونه‌های جمع‌آوری شده در یک استان یا شهر در بسیاری از موارد در گروه‌ها یا زیرگروه‌های جداگانه قرار گرفتند که بیانگر تفاوت ژنتیکی بالای این نمونه‌ها بود. از طرف دیگر بسیاری از نمونه‌هایی که در یک گروه قرار گرفتند از مناطق جغرافیایی متفاوت بودند که می‌تواند به دلیل تشابه شرایط میکروکلیمایی و تبادل فیزیکی مواد بین این مناطق باشد.

آغازگر ۱۲ با داشتن بیشترین شاخص نشانگر، قدرت تفکیک بالاتری در مقایسه با سایر آغازگرها داشتند، بنابراین می‌توان استفاده از این آغازگرها را برای بررسی تنوع ژنتیکی سایر گونه‌های آژیلوپس و گندم با ژنوم نزدیک به *Ae. crassa* در اولویت قرار داد.

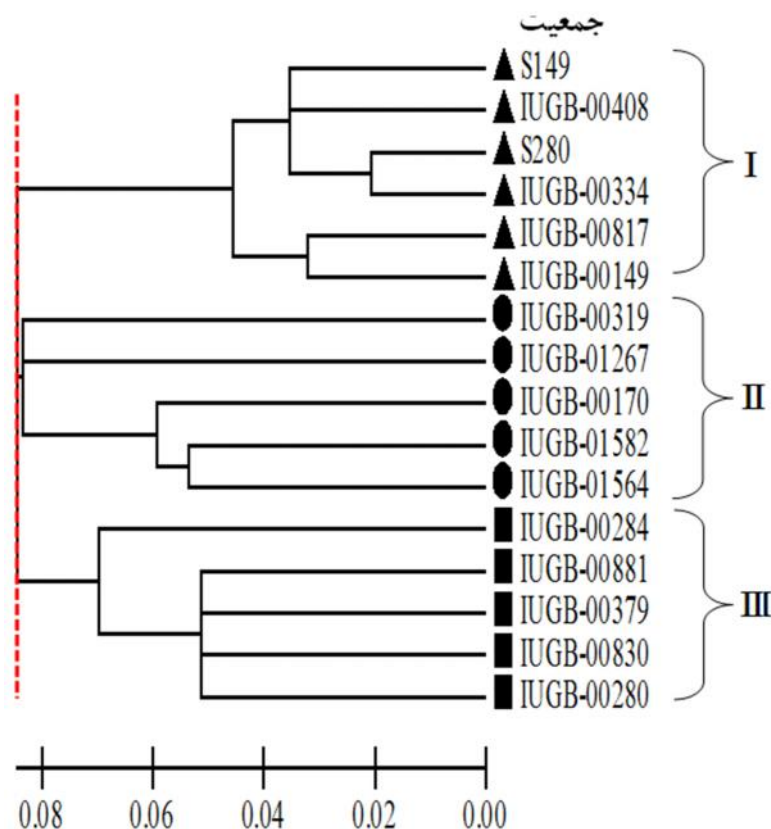
محاسبه ضرایب همبستگی کوفنتیک: در این تحقیق برای مشخص کردن بهترین شاخص عدم تشابه و تشخیص بهترین الگوریتم برای ترسیم مناسب‌ترین دندروگرام برای گزارش نتایج، شاخص‌های عدم تشابه شامل دایس (Dice) و جاکارد با روش‌های اتصال میانگین (UPGMA) و اتصال مجاور (NJ) محاسبه و براساس ضریب کوفنتیک حاصل از آزمون مانتل مقایسه شدند. ضرایب همبستگی بسیار بالا و معنی‌دار (جدول ۳) نشان‌دهنده تطابق ماتریس‌های به دست آمده از این شاخص‌هاست. از این رو به هنگام استفاده از تعداد زیاد نشانگر، نتایج حاصل از هر یک از این روش‌ها مشابه خواهد بود. البته تشابه شاخص‌های دایس و جاکارد نیز در مطالعات بررسی تنوع ژنتیکی گندم‌های وحشی قبلاً گزارش شده است (Kharestani, 2010). به دلیل گزارش‌های متعدد و عمومیت بیشتر شاخص دایس، از این شاخص در محاسبه فواصل ژنتیکی بین و درون جمعیت‌ها استفاده شد. با توجه به نتایج

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده به همراه محتوای اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر آنها

نام آغازگر	دمای اتصال	تعداد آلل‌ها	تعداد آلل‌های چندشکل	درصد چندشکلی	PIC	MI	اندازه قطعات تکثیری (جفت باز)
UBC812	۵۰	۶	۵	۸۳/۳۳	۰/۳۳	۱/۳۷	۳۰۰-۸۰۰
UBC836	۵۳	۱۵	۱۲	۸۰	۰/۲۰	۱/۹۲	۲۰۰-۱۳۰۰
UBC840	۵۳	۱۳	۱۱	۸۴/۶۱	۰/۲۰	۱/۸۶	۱۹۰-۱۰۰۰
UBC841	۵۵	۱۴	۱۲	۸۵/۷۱	۰/۱۹	۱/۹۵	۲۰۰-۱۴۰۰
UBC842	۵۵	۱۴	۹	۶۴/۲۸	۰/۱۷	۰/۹۸	۲۱۰-۱۰۰۰
ISSR08	۵۰	۹	۹	۱۰۰	۰/۲۸	۲/۷۰	۲۰۰-۸۰۰
ISSR12	۵۲	۱۰	۸	۸۰	۰/۳۴	۲/۱۸	۲۶۰-۱۵۰۰
ISSR15	۵۴	۷	۶	۸۵/۷۱	۰/۲۷	۱/۳۹	۳۰۰-۱۰۰۰
ISSR134	۵۲	۱۱	۸	۷۲/۷۲	۰/۲۰	۱/۱۶	۳۰۰-۱۴۸۰
ISSR144	۵۴	۶	۶	۱۰۰	۰/۳۲	۱/۹۲	۳۰۰-۱۵۰۰

جدول ۳- الگوریتم‌های ترسیم دندروگرام و ضرایب همبستگی کوفنتیک

تابع محاسبه ماتریس فاصله	UPGMA	NJ
Dice	۰/۸۸۴	۰/۹۰۵
Jaccard	۰/۸۳۴	۰/۹۰۷

شکل ۱- گروه‌بندی جمعیت‌های *Ae. crassa* با استفاده شاخص Nei و الگوریتم NJ

حاصل از تجزیه به مختصات اصلی تا حدود زیادی با دندروگرام ترسیم شده همخوانی داشت.

محاسبه فاصله ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها: برای آگاهی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مورد بررسی، فواصل ژنتیکی درون جمعیت‌ها براساس ماتریس عدم تشابه جاکارد و نیز ماتریس فاصله و تشابه بین جمعیت‌ها از طریق شاخص تصحیح شده Nei محاسبه شد. براساس اطلاعات به‌دست آمده (جدول ۴) فاصله ژنتیکی

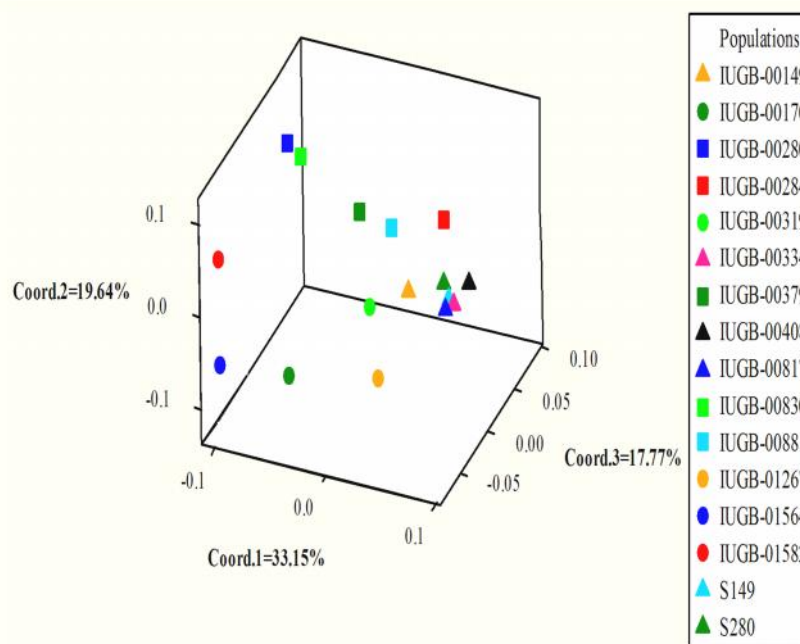
تجزیه به مختصات اصلی جمعیت‌ها: اطلاعات حاصل از آلل‌های نمره‌دهی شده با روش تجزیه به مختصات اصلی بررسی تکمیلی شد (شکل ۲). نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که بعد اول، دوم و سوم به ترتیب ۳۳/۱۵، ۱۹/۶۴ و ۱۷/۷۷ و در مجموع ۷۰/۵۶ درصد از اطلاعات را دربر داشتند و این به‌نوبه خود می‌تواند نشان‌دهنده پراکنش گسترده آغازگرهای مختلف بر روی سطح ژنوم *Ae. crassa* و همه کروموزوم‌های آن باشد. نتایج

(۱۰/۴۸)، شاخص تصحیح شده هتروژنی (۰/۵۱) و شاخص شانون (۰/۶۴) نیز مربوط به جمعیت‌های IUGB-01564 بود.

تجزیه واریانس مولکولی: از آنجایی که یکی از مهمترین جنبه‌های تجزیه‌ی خوشه‌ای، تعیین تعداد مطلوب خوشه است، به منظور تعیین تعداد مطلوب خوشه و تعیین بهترین نقطه برش دندروگرام، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) درون و بین جمعیت‌ها انجام شد. در تجزیه واریانس مولکولی این امکان نیز وجود دارد تا اجزاء واریانس محاسبه و سهم هر یک از آنها در تنوع کل تعیین شود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (جدول ۶) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۰/۰۱ بین جمعیت‌ها وجود داشت که طبق این اطلاعات ۵۳٪ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و نیز ۴۷٪ درصد آن مربوط به تنوع بین جمعیت‌هاست.

درون جمعیت‌ها دامنه‌ای از ۰/۲۳۳ تا ۰/۶۶۲ داشت که کمترین فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها (۰/۲۳۳) مربوط به جمعیت IUGB-00280 و بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۶۶۲) مربوط به جمعیت IUGB-01267 بود. بیشترین فاصله ژنتیکی شاخص Nei میان دو جمعیت IUGB-01267 و IUGB-00280 و کمترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های IUGB-00334 و S-280 وجود داشت، به عبارت دیگر این دو جمعیت بیشترین شباهت ژنتیکی را با یکدیگر داشتند.

محاسبه شاخص‌های ژنتیکی: میزان آلل‌های چندشکل، شاخص تصحیح شده هتروژنی و شاخص اطلاعات شانون برای هر جمعیت و میانگین کل آنها به دست آمد (جدول ۵). جمعیت IUGB-00319 با بالاترین درصد آلل‌های چندشکل (۳۹/۰۵)، شاخص تصحیح شده هتروژنی (۰/۱۶۵) و شاخص شانون (۰/۲۱۵) تنوع آلی و هتروژنی بیشتری نشان داد. کمترین درصد آلل‌های چندشکل



شکل ۲- نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ۱۶ جمعیت از گونه *Ae. crassa* بر روی سه مختصات اول، دوم و سوم

ه ژنتیکی درون جمعیت‌ها، فاصله ژنتیکی (پایین قطر) و همسانی ژنتیکی (بالای قطر) بین جمعیت‌هایی از گونه *Ae. crassa*

جمعیت‌ها	درون جمعیت‌ها	بین جمعیت‌ها										
		S149	S280	IUGB-00408	IUGB-00334	IUGB-00817	IUGB-00149	IUGB-00319	IUGB-00284	IUGB-00881	IUGB-00379	IUGB-00830
S149	۰/۲۷	***	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۹۰	۰/۸۳	۰/۸۸	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۱
S280	۰/۴۹	۰/۰۸	***	۰/۹۳	۰/۹۶	۰/۸۹	۰/۹۲	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۰	۰/۸۹	۰/۸۴
IUGB-00408	۰/۴۴	۰/۰۷	۰/۰۷	***	۰/۹۵	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۸۸	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۸۵	۰/۸۰
IUGB-00334	۰/۳۹	۰/۰۸	۰/۰۴	۰/۰۵	***	۰/۹۱	۰/۹۴	۰/۸۷	۰/۸۶	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۰
IUGB-00817	۰/۲۴	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۹	***	۰/۹۴	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۸۶	۰/۸۳	۰/۷۹
IUGB-00149	۰/۴۰	۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۶	۰/۰۶	***	۰/۸۹	۰/۸۶	۰/۹۰	۰/۸۸	۰/۸۵
IUGB-00319	۰/۵۹	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۱۳	۰/۱۲	***	۰/۸۶	۰/۸۸	۰/۸۶	۰/۸۱
IUGB-00284	۰/۴۵	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۱۵	***	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۸۴
IUGB-00881	۰/۵۰	۰/۱۲	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۰	۰/۱۲	۰/۰۷	***	۰/۹۴	۰/۹۱
IUGB-00379	۰/۴۹	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۹	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۱	۰/۰۶	***	۰/۹۲
IUGB-00830	۰/۴۴	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۴	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۱۷	۰/۱۰	۰/۰۹	***
IUGB-00280	۰/۲۳	۰/۲۲	۰/۱۹	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۴
IUGB-01582	۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۱۵	۰/۱۹	۰/۲۳	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۱۵
IUGB-01564	۰/۲۸	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۲۳	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۱۸
IUGB-00170	۰/۵۰	۰/۱۵	۰/۱۶	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۱۳	۰/۱۶
IUGB-01267	۰/۶۸	۰/۲۱	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۱۷	۰/۱۴	۰/۱۷	۰/۱۲	۰/۱۶	۰/۲۲

جدول ۵- محاسبه شاخص های ژنتیکی در جمعیت هایی از گونه *Ae. crassa*

شاخص اطلاعات شانون	شاخص تصحیح شده هتروژنی	درصد آل های چندشکل	تعداد نمونه ها	جمعیت ها
۰/۰۹۴ ± ۰/۰۲۲	۰/۰۷۵ ± ۰/۰۱۸	۱۵/۲۴	۴	S149
۰/۲۰۰ ± ۰/۰۲۷	۰/۱۵۳ ± ۰/۰۲۱	۳۷/۱۴	۴	S280
۰/۱۳۶ ± ۰/۰۲۳	۰/۱۰۳ ± ۰/۰۱۸	۲۵/۷۱	۴	IUGB-00408
۰/۱۱۵ ± ۰/۰۲۲	۰/۰۸۷ ± ۰/۰۱۷	۲۱/۹۰	۴	IUGB-00334
۰/۰۷۰ ± ۰/۰۱۹	۰/۰۵۶ ± ۰/۰۱۶	۱۱/۴۳	۴	IUGB-00817
۰/۱۱۰ ± ۰/۰۲۲	۰/۰۸۴ ± ۰/۰۱۷	۲۰/۰۰	۴	IUGB-00149
۰/۲۱۵ ± ۰/۰۲۸	۰/۱۶۵ ± ۰/۰۲۲	۳۹/۰۵	۴	IUGB-00319
۰/۱۴۵ ± ۰/۰۲۴	۰/۱۱۰ ± ۰/۰۱۹	۲۶/۶۷	۴	IUGB-00284
۰/۱۴۵ ± ۰/۰۲۵	۰/۱۱۲ ± ۰/۰۲۰	۲۵/۷۱	۴	IUGB-00881
۰/۱۶۱ ± ۰/۰۲۶	۰/۱۲۶ ± ۰/۰۲۱	۲۷/۶۲	۴	IUGB-00379
۰/۱۵۵ ± ۰/۰۲۵	۰/۱۱۷ ± ۰/۰۱۹	۲۹/۵۲	۴	IUGB-00830
۰/۰۷۶ ± ۰/۰۱۹	۰/۰۵۹ ± ۰/۰۱۵	۱۳/۳۳	۴	IUGB-00280
۰/۰۸۴ ± ۰/۰۲۰	۰/۰۶۵ ± ۰/۰۱۶	۱۵/۲۴	۴	IUGB-01582
۰/۰۶۴ ± ۰/۰۱۹	۰/۰۵۱ ± ۰/۰۱۵	۱۰/۴۸	۴	IUGB-01564
۰/۱۴۰ ± ۰/۰۲۵	۰/۱۰۸ ± ۰/۰۱۹	۲۴/۷۶	۴	IUGB-00170
۰/۱۳۹ ± ۰/۰۲۴	۰/۱۰۵ ± ۰/۰۱۸	۲۶/۶۷	۴	IUGB-01267
۱/۱۲۸ ± ۰/۰۰۶	۰/۰۹۹ ± ۰/۰۰۵	۲۳/۱۵	۶۴	میانگین کل

جدول ۶- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت هایی از گونه *Ae. crassa*

درصد احتمال	آماره	درصد واریانس	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۰۱	۰/۴۷**	%۴۷	۳۱/۰۰۱	۴۶۵/۰۱۶	۱۵	بین جمعیت ها
		%۵۳	۶/۷۴۵	۳۲۳/۷۵۰	۴۸	درون جمعیت ها
				۷۸۸/۷۶۶	۶۳	جمع کل

بحث

مطالعه وجود دارد و آغازگرهای به کار گرفته شده دارای کارایی زیادی در شناسایی این تنوع هستند. مطابق نتایج به دست آمده ۱۰۵ آل تکثیر شده که ۸۱/۹۰ درصد آل ها چندشکل بودند. تعداد آل ها بین ۶ تا ۱۵ با میانگین ۱۱

این مطالعه اولین بررسی مولکولی جمعیت های آژیلوپیس کراسا با استفاده از نشانگرهای ISSR می باشد. نتایج نشان داد که تنوع قابل قبولی درون و بین جمعیت های مورد

- American species of *Cunila D. Royen ex L.* based on ISSR. *Plant Systematic and Evolution*, 274:135-141
- Ciaffi, M., Lanfiandra, D., Porceddu, E. and Benedettelli, S., 1993. Storage protein variation in wild emmer (*Triticum turgidum* SSP. *Dicoccoides*) from Jordan and Turkey. *Patterns of allele distribution. Theoretical and Applied Genetics*, 86: 518-5250.
 - Eig, A.V., 1929. *Monographisch-kritische Übersicht der Gattung Aegilops*, Verlag des Repertorium Dahlembei; Berlin.
 - Farkhari, M., Naghavi, M.R., Pyghambari, S.A. and Sabokdast, M., 2007. Genetic variation of Jointed Goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.) from Iran, using RAPD-PCR and SDS-PAGE of Seed Proteins, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10: 2868-2873.
 - Harish, T., Gandhi, M., Isabel, V., Christy, J., Watson, W., Mallory-Smith, C.A., Mori, N., Rehman, M., Robert, S. and Riera-Lizarazu, Z.O., 2005. Chloroplast and nuclear microsatellite analysis of *Aegilops cylindrica*. *Theoretical and Applied Genetics*, 111:561.
 - Harish, T., Gandhi, M., Isabel, V., Mallory-Smith, C. and Riera-Lizarazu, O., 2009. Genetic structure of *Aegilops cylindrica* Host in its native range and in the United States of America., *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 1013.
 - Gajera, B.B., Kumar, K., Singh, A.P., Punvar, B.S., Ravikiran, R., Subhash, N. and G.C. Jadeja., 2010. Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis L.*) using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, 32: 491-498.
 - Karimi, H., 1992. *Wheat*. 1st ed. Markaz Nashr Daneshgahi, Tehran, Iran. (In Farsi).
 - Kazutoshi, O., Kaoru, E., Bayarsukh, N. and Hisashi, Y., 1998. Genetic diversity of Central Asian and north Caucasian *Aegilops* species as revealed by RAPD markers., *Genetic Resources and Crop Evolution*, 45:389.
 - Kharestani, H., 2010. Assessment of genetic diversity and genomic relationships wild and cultivated wheat species possessing a genomic in different ploidy levels using SSR marker, M.Sc. Thesis, Ilam University, Iran (In Persian).
 - Kihara, H., Yamashita, K. and Tanaka, M., 1965. Morphological, physiological, geographical and cytological studies in *Aegilops* and *Triticum* collected in Pakistan, Afghanistan and, Iran. In Yamashita, K. (Eds), *Cultivated Plants and Their Relatives*, 1-118.
 - Konstantinos, G., Penelope, T. and Bebeli, J., 2010. Genetic diversity of Greek *Aegilops* species using
- برای آغازگر به دست آمد. در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های *Ae. cylindrica* با نشانگر RAPD نیز Farkhari و همکاران (۲۰۰۷)، ۶۹ درصد چندشکلی گزارش کردند. در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم با نشانگر ISSR نیز Najaphy و همکاران (۲۰۱۱) تعداد آلل‌ها را ۶ تا ۱۵ و میانگین ۸/۶ آلل برای هر آغازگر به دست آوردند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) آغازگرها در این تحقیق به ترتیب ۰/۲۵ و ۱/۷۴ به دست آمد و آغازگر ISSR08 بیشترین میزان MI را نشان داد. همچنین در مطالعه Konstantinos و همکاران (۲۰۱۰) میانگین PIC و MI آغازگرها به ترتیب ۰/۲۲ و ۳/۷۱ گزارش شد. با توجه به اینکه شاخص نشانگری (MI) یک معیار کلی برای تعیین کارایی نشانگر در تخمین چندشکل می‌باشد، آغازگرهای ISSR08 و ISSR12 با داشتن بالاترین میزان MI نشان‌دهنده کارایی بالا و قدرت تشخیص بهتر این آغازگرها در تعیین فاصله ژنتیکی بودند. دندروگرام به دست آمده جمعیت‌ها را در ۳ گروه و زیرگروه‌هایی قرار داد. نتایج حاصل از این دندروگرام، تا حد زیادی عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان داد. در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Ae. cylindrica* با نشانگر RAPD نیز Farkhari و همکاران (۲۰۰۷) نتیجه گرفتند که گروه‌بندی جمعیت‌ها با منشأ جغرافیایی آنها هم‌خوانی ندارد. در این مطالعه ۵۳ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و ۴۷ درصد آن مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها بود. یکی از اهداف اولیه برای حفظ محیط‌زیست، نگهداری تنوع ژنتیکی است. نظر به بیشترین تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها و تمایز ژنتیکی بالا میان جمعیت‌های *Ae. crassa* راهبرد حفاظت بیشتر شامل حفاظت در محل است. در حفاظت در محل، بیشترین توجه صرف ترمیم زیست‌بوم‌های مناسب و اندازه جمعیت کارا و مؤثر می‌باشد.
- منابع مورد استفاده:
- Agostini, G., Echeverrigaray, S. and Souza-Chies, T.T., 2008. Genetic relationships among South

- bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 91:1001-1007.
- Reddy, M.P., Sarla, N. and Siddiq, M.E., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding, *Euphytica*, 128:9-17.
 - Rejesus, M., Van Ginkel, M. and Smale, M., 1996. Wheat breeder perspectives of genetic diversity and germplasm use. *Wheat Special Report 4. Mexico D. F. CIMMYT*.
 - Singh, S.K., 2003. Cluster analysis for heterosis in wheat (*Triticum aestivum L.*) *Indian Journal of Genetics*, 63:249-250.
 - Terzopoulos, P.J. and Bebeli, P.J., 2010. Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba L.*) with ISSR markers. *Field Crops Research*, 108:39-44.
 - Tanksley, S.D. and McCouch, S.R., 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild, *Science*, 277:1063-1066.
 - Van Slageren, M.W., 1994. Wild wheats: a monograph of *Aegilops L.* and *Amblyopyrum* (Jaub. and Spach) Eig (poaceae), Agricultural University Wageningen: the Netherland, ICARDA: Aleppo, Syria, 512p.
 - different types of nuclear genome markers., *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56:951.
 - Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment, *Brief Bioinform*, 5:150-63.
 - Lelley, T., Satchel, M., Grausgruber, H. and Vollmann, J., 2000. Analysis of relationships between *Aegilopstauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. *Genome*, 43:661-668.
 - Najaphy, A., Ashrafi Parchin, R. and E, Farshadfar., 2011. Evaluation of genetic diversity in wheat cultivars and breeding lines using Inter Simple Sequence Repeat markers, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 25:2634-2638.
 - Perrier, X. and Jacquemoud-Collet, J.P., 2006. DARwin software, <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
 - Pestsova, E., Korzun, V., Goncharov, N.P., Hammer, K., Ganal, M.W. and Roder, M.S., 2000. Microsatellite analysis of *Aegilops tauschii* germplasm., *Theoretical and Applied Genetics*, 101: 100.
 - Plaschke, J., Ganal, M.W. and Roder, M.S., 1995. Detection of genetic diversity in closely related

Genetic diversity structure of *Aegilops crassa* accessions revealed by genomic ISSR markers

T. Khoramifard^{1*}, A.A. Mehrabi², A. Arminian³ and A. Fazeli³

1*- M.Sc., Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, I.R. Iran

Email: taiebekhoramifard@yahoo.com

2- Asso. Prof., Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, I.R. Iran

3- Assist. Prof., Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, I.R. Iran

Received: 20.04.2016 Accepted: 17.09.2016

Abstract

Genetic diversity among 16 accessions of *Aegilops crassa* was investigated using 10 ISSR primers. Totally, 105 alleles were amplified and 86 alleles (81.90%), were polymorphic. Number of amplified alleles ranged from 6 to 15 with average number of 11 alleles for each primer. Polymorphic information content (PIC) varied from 0.17 (primer UBC 842) to 0.34 (primer ISSR12). Marker index criterion ranged from 0.98 (primer UBC842) to 2.7 (primer ISSR08). Cluster and principal coordinate analysis could not completely separate accessions and showed no association between molecular diversity and geographic diversity of the genotypes, indicating that there is high genetic diversity among the accessions. Mean genetic similarity between microsatellite marker information was 0.89 ranged from 0.76 (between two genotypes from Kermanshah and Tabriz) to 0.96 (between two genotypes of Ilam and Kermanshah). Based on analysis of molecular variance, a larger proportion of genetic variation (53%) belonged to within populations, while a small proportion (47%) observed among the studied populations.

Keyword: *Aegilops crassa*, cluster analysis, genetic diversity, ISSR marker, principal coordinate analysis