doi: 10.22124/CR.2021.20283.1684

(مقاله پژوهشی)

تحقیقات غلات

دوره یازدهم/ شماره اول/ بهار ۱۴۰۰ (۵۴-۴۳)

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی گونه‌های وحشی گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR و SSR

فاطمه صغری وحدانی‌کیا[۱]، حبیب‌اله سمیع‌زاده لاهیجی[۲*]، مهدی زهراوی[۳] و محمد محسن‌زاده گلفزانی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۳۰

چکیده

در راستای اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی و به‌ویژه ضرورت ارزیابی تنوع بین گونه‌های وحشی و خویشاوند گندم نان، پژوهش حاضر انجام شد که هدف از اجرای آن، ارزیابی تنوع ژنتیکی ۵۲ ژنوتیپ گندم (۴۹ ژنوتیپ وحشی خویشاوند گندم نان و سه ژنوتیپ از گندم‌های زراعی بومی ایران) با استفاده از ۱۰ نشانگر ISSR و دو نشانگر SSR بود. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در مجموع ۱۲ نشانگر مورد مطالعه، تعداد ۱۴۵ نوار چند شکل تولید کردند که میانگین تعداد نوارهای چند شکل برای نشانگرهای ISSR و SSR به‌ترتیب ۱۱/۴ و ۱۵/۵ نوار و تعداد آلل موثر به‌ترتیب ۱/۶۰ و ۱/۴۳ آلل بود. نشانگر 17899A با دارا بودن بیش‌ترین تعداد آلل موثر (۱/۸)، شاخص تنوع ژنی نئی (۰/۴۴) و شاخص تنوع شانون (۰/۶۳)، باارزش‌ترین نشانگر در این مطالعه بود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس ضریب تطابق ساده و روش دورترین همسایه‌ها، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در پنج گروه به‌ترتیب شامل ۱۰، ۶، ۲۴، ۹ و ۳ ژنوتیپ قرار داد و تجزیه تابع تشخیص نیز دقت گروه‌بندی حاصل را ۱۰۰ درصد تعیین کرد. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نیز نشان داد که چهار بردار اصلی مهم‌تر در مجموع ۳۱/۵۹ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از بردارهای اول و دوم که به‌ترتیب ۱۰/۹۴ و ۸/۲۲ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند، ژنوتیپ‌ها را در پنج گروه قرار دادند و سه ژنوتیپ زراعی و بومی گندم در مجاورت یک‌دیگر قرار گرفتند. در مجموع، نتایج حاصل نشان داد که نشانگرهای استفاده شده در این پژوهش چندشکلی قابل قبولی داشتند و به‌عنوان نشانگرهای مفید و مطلوب جهت ارزیابی تنوع و تفکیک ژنوتیپ‌های گندم و احتمالاً سایر غلات معرفی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه تابع تشخیص، تجزیه به مختصات اصلی، شاخص نشانگری، محتوای اطلاعات چندشکلی

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

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

۴- استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: hsamizadeh@yahoo.com

مقدمه

از آنجایی که خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی دارای منابع ژنی با ارزشی برای بهبود صفات کمی و کیفی گیاهان زراعی هستند، از این‌رو همیشه مورد توجه پژوهش‌گران بوده‌اند (Tanksley and McCouch, 1997). حتی عده‌ای معتقدند که موفقیت آینده به‌نژادی در استفاده مناسب از منابع ژنتیکی وحشی می‌باشد (Nevo and Payne, 1987). می‌توان گفت که خویشاوندان وحشی گندم ذخایر ژنتیکی ارزشمندی برای بهبود تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و کیفیت گندم زاعی هستند (Kim *et al.*, 2010). نظر به اهمیت گندم در اقتصاد جهانی و از جمله ایران، شناسایی روابط ژنتیکی، آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و برآورد آن در ژرم‌پلاسم این محصول استراتژیک توسط به‌نژادگران گیاهی امری ضروری است (Ghasemi *et al.*, 2019). دامنه تنوع ژنتیکی در ارقام زراعی گندم، به‌دلیل کاربرد پایه‌های ژنتیکی محدود و افزایش تمایل به کشت گیاهان خالص، همچون سایر گیاهان زراعی رو به کاهش است. همچنین تنوع موجود در ارقام بومی گندم نیز به‌علت کاهش جمعیت در حال زوال است. بهره‌برداری از تنوع موجود در یک ژرم‌پلاسم می‌تواند منجر به شناسایی والدین مناسب و ارقام بهتر و همچنین استفاده از این تنوع در جهت بهبود ئیژگی‌های ارقام زراعی شود (Mohammadi and Prasanna, 2003).

تعیین میزان تنوع ژنتیکی در مواد گیاهی گام اولیه برای شناسایی، حفظ و نگهداری ذخایر توارثی و نیز پایه اساسی و اولیه برای تحقیقات ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی است (Lavi *et al.*, 1994). جهت برآورد تنوع ژنتیکی می‌توان از روش‌های مختلفی مانند انواع نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی یا DNA استفاده کرد. روش ISSR جهت تمایز افراد یک گونه در مطالعات ژنتیک جمعیت و انگشت‌نگاری افراد نزدیک به هم و تعیین تنوع ژنتیکی کاربرد زیادی دارد. این نشانگرها از نظر تکنیک، مواد مورد استفاده، مقدار DNA مورد نیاز، درجه چندشکلی، سرعت انجام آزمایش‌ها و هزینه، نشانگرهای مولکولی مطلوبی هستند (Brantestam *et al.*, 2004). در این تکنیک، معمولاً از میکروساتلیت‌ها (ریزماهواره‌های) با طول ۲۵-۱۶ جفت باز به‌عنوان آغازگر یک واکنش تک‌آغازگری که مکان‌های چندگانه ژنومی را برای تکثیر توالی‌های بین ریزماهواره‌ای با اندازه‌های مختلف، هدف می‌گیرد، استفاده می‌شود. نشانگرهای ریزماهواره به‌علت دارا بودن خاصیت چند آللی، وراثت هم‌بارز، فراوانی نسبی و پوشش وسیع ژنومی و نیز سهولت آشکارسازی و تشخیص آن‌ها، کاربرد فراوانی دارند (Hokanson *et al.*, 1998). ریزماهواره‌ها توالی‌های تکراری شش نوکلئوتیدی هستند که به تعداد فراوان و به‌صورت یکنواخت در سطح ژنوم یوکاریوت‌ها و در نواحی رمزشونده و غیررمزشونده پراکنده‌اند (Röder *et al.*, 1998, Asadi and Monfared, 2014).

محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2014) ۲۰ ژنوتیپ گندم نان را با ۱۲ جفت آغازگر SSR مورد بررسی قرار دادند و در مجموع ۴۰ آلل چندشکل بین دو تا شش آلل برای هر نشانگز گزارش کردند. در مطالعه دیگری، تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ گندم نان از صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار گرفت (Nazari and Abdolshahi, 2014). ژنوتیپ‌های گندم نان برای تمامی صفات مورد بررسی تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. از مجموع ده آغازگر SSR انتخابی، نه آغازگر چند شکلی قابل توجهی نشان دادند. برای مجموع ژنوتیپ‌ها ۳۱ نوار چند شکل با میانگین ۳/۴ نوار در هر آغازگر مشاهده شد. آن‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار دادند و اظهار داشتند که اطلاعات این گروه‌بندی می‌تواند در پروژه‌های به‌نژادی برای افزایش عملکرد در شرایط تنش مورد استفاده قرارگیرد. زرگانی و همکاران (Zargani *et al.*, 2015) تنوع ژنتیکی ۹۱ ژنوتیپ گندم را به‌همراه والدین آنها با ۱۱ جفت آغازگر SSR ارزیابی و میانگین تعداد آلل چندشکل را بین دو تا هشت گزارش کردند.

سلامی و همکاران (Salami *et al.*, 2018) جهت بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گندم نان ایرانی از نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی ISSR استفاده کردند و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA توده‌های مورد بررسی را در دو گروه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع درون جمعیتی قابل‌توجهی برای نشانگرهای ISSR در توده‌های بومی گندم خرم‌آباد، مراغه و تربت حیدریه وجود داشت، در حالی‌که برای توده‌های خوی، اهواز،

اصفهان، مشهد، ارومیه، شیراز و اردبیل تنوع ناچیزی مشاهده شد. در پژوهشی جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنوتیپ گندم نان از ۲۲ جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد که از مجموع ۲۲ آلل شناسایی شده ۱۱ جفت توانستند چند شکلی مطلوبی را نشان دهند (Ghasemi *et al.*, 2019). در این مطالعه با استفاده از ضریب تشابه دایس و الگوریتم همبستگی متوسط ژنوتیپ‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. همچنین تجزیه به مختصات اصلی نیز تا حد زیادی الگوی تنوع ژنتیکی حاصل از روش تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد. این محققین اظهار کردند که نتایج پژوهش آن‌ها محدوده وسیعی از تنوع ژنتیکی را در بین ارقام گندم نشان می‌دهد که امکان استفاده از آن‌ها را در برنامه‌های به‌نژادی مقدور می‌سازد. در پژوهشی به‌منظور بررسی روابط ژنتیکی بین ۴۰ رقم گندم نان از ده آغازگر ISSR و چهار آغازگر RAPD استفاده و با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد بر مبنای کل باندهای چندشکل، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در دو گروه جداگانه قرار داد (Rahmani *et al.*, 2019). گلی و همکاران (Goli *et al.*, 2016) نیز به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۸ ژنوتیپ گندم از ۱۰ آغازگر ISSR استفاده و با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGAM بر اساس ضریب تشابه جاکارد، ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه متفاوت گروه‌بندی کردند.

پژوهش حاضر در راستای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۹ گونه از خویشاوندان وحشی گندم نان بومی کشورهای مختلف (ایران، لبنان و ترکیه) و سه ژنوتیپ از گندم‌های زراعی ایران (رقم بولانی و لاین‌های ۴۳۱ و ۴۲۸) انجام شد و هدف از آن، گروه‌بندی و شناسایی دورترین و نزدیک‌ترین ژنوتیپ‌ها با استفاده از ۱۲ نشانگر ISSR و SSR بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این پژوهش شامل سه ژنوتیپ گندم زراعی (بولانی، ۴۳۱ و ۴۲۸) و ۴۹ گونه از خویشاوندان وحشی گندم نان از کشورهای ایران، ترکیه، لبنان و چند نمونه ناشناس بود (جدول ۱) که از بخش تحقیقات ژنتیک و بانک ژن گیاهی ملی ایران در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند.

برای استخراج DNA ژنومی، از برگ‌های تازه و جوان نمونه‌های مطالعه شده با بهره‌گیری از روش CTAB با کمی تغییرات (Saghai Maroof *et al.*, 1994) استفاده شد. برای تعیین کمیت DNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ و برای تعیین کیفیت نمونه‌ها از ژل آگارز یک درصد استفاده شد. برای شروع فرآیند PCR تمامی نمونه‌های DNA به غلظت ۲۰۰ نانوگرم رسانده شد. تعداد ۱۲ نشانگر ISSR و SSR با مرور منابع بر اساس میزان بالای چندشکلی و محتوای اطلاعات چندشکل انتخاب و استفاده شدند. از چهار نشانگر SSR انتخابی، فقط دو نشانگر Xgwm190-5D و Xgwm44-7D (به‌ترتیب روی کروموزوم‌های 5D و 7D) باندهای واضح تولید کردند (جدول ۲).

به‌منظور الکتروفورز محصول PCR نشانگرهای ISSR و آشکارسازی نوارها از ژل آگارز یک درصد استفاده و الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۹۰ ولت به‌مدت ۴۵ دقیقه انجام شد و برای عکس‌برداری نوارها از دستگاه ژل‌داک استفاده شد. برای الکتروفورز محصول PCR نشانگرهای SSR نیز از ژل پلی‌آکریل‌آمید هشت درصد استفاده و الکتروفورز با ولتاژ ۲۰۰ ولت به‌مدت چهار ساعت با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی APELEX انجام شد. برای رنگ‌آمیزی و آشکارسازی نوارها، از روش نیترات نقره استفاده شد، به این ترتیب که ابتدا ژل به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول اسید استیک ۱۰ درصد سرد قرار گرفت و سپس جهت رنگ‌آمیزی به‌مدت ۱۰ دقیقه به محلول ۰/۲ درصد نیترات نقره منتقل شد. پس از آن، ژل از محلول رنگ‌آمیزی خارج و برای ۱۰ ثانیه با آب سرد شسته شد. جهت ظهور نوارها از محلول سه درصد کربنات سدیم سرد به‌مدت سه دقیقه استفاده و در انتها برای توقف ظهور نوارها و تثبیت آن‌ها روی ژل، از محلول اسید استیک ۱۰ درصد سرد به‌مدت سه دقیقه استفاده شد.

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، ابتدا الگوی نوارهای تشکیل شده برای هر آغازگر بر اساس وجود و عدم وجود نوارها به‌ترتیب با یک و صفر نمره‌دهی و سپس داده‌های حاصل به‌صورت یک ماتریس ۱۴۵×۵۲ وارد نرم‌افزار Excel شد که اعداد ۵۲ و ۱۴۵ به‌ترتیب تعداد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و تعداد نوار چندشکل هستند.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم مطالعه شده در این تحقیق

Table 1. Characteristics of the studied wheat genotypes in current study

No.	Genotype	Species	Origin	No.	Genotype	Origin	Species
1	55003	*T. boeoticum*	Lorestan	27	TN0179	Ilam	*T. boeoticum*
2	55004	*T. boeoticum*	Lorestan	28	TN0182	Kohgiluyeh	*T. boeoticum*
3	55011	*T. boeoticum*	Ilam	29	TN0183	Kohgiluyeh	*T. boeoticum*
4	55014	*T. boeoticum*	Kermanshah	30	TN0185	Kohgiluyeh	*T. urartu*
5	55021	*T. boeoticum*	Kurdistan	31	TN0209	West Azerbaijan	*T. boeoticum*
6	55025	*T. boeoticum*	Kurdistan	32	TN0216	Kermanshah	*T. boeoticum*
7	55029	*T. boeoticum*	West Azerbaijan	33	TN0217	Kermanshah	*T. boeoticum*
8	55039	*T. boeoticum*	West Azerbaijan	34	TN0219	Kermanshah	*T. boeoticum*
9	55041	*T. boeoticum*	West Azerbaijan	35	TN0224	Kermanshah	*T. boeoticum*
10	55049	*T. urartu*	Kermanshah	36	TN0228	Kermanshah	*T. boeoticum*
11	55059	*T. araraticum*	Unknown	37	TN0229	Kermanshah	*T. boeoticum*
12	55061	*T. araraticum*	Unknown	38	TN0235	Kermanshah	*T. boeoticum*
13	TN0106	*T. boeoticum*	East Azerbaijan	39	TN0244	Chaharmahal and Bakhtiari	*T. urartu*
14	TN0113	*T. boeoticum*	Turkey	40	TN0246	Chaharmahal and Bakhtiari	*T. urartu*
15	TN0120	*T. boeoticum*	Lebanon	41	TN0435	Kurdistan	*T. urartu*
16	TN0127	*T. urartu*	Unknown	42	TN0438	Kurdistan	*T. urartu*
17	TN0129	*T. urartu*	Lebanon	43	TN0489	Unknown	*T. urartu*
18	TN0136	*T. urartu*	Lebanon	44	TN0495	Unknown	*T. urartu*
19	TN0161	*T. boeoticum*	Lorestan	45	TN0498	Unknown	*T. urartu*
20	TN0165	*T. urartu*	Lorestan	46	TN0507	Unknown	*T. urartu*
21	TN0166	*T. boeoticum*	East Azerbaijan	47	TN0511	Unknown	*T. urartu*
22	TN0170	*T. boeoticum*	East Azerbaijan	48	TN0516	Unknown	*T. urartu*
23	TN0172	*T. boeoticum*	East Azerbaijan	49	TN0518	Unknown	*T. urartu*
24	TN0174	*T. boeoticum*	Fars	50	Bolani	Iran	*T. aestivum*
25	TN0175	*T. boeoticum*	Ilam	51	431	Lorestan	*T. aestivum*
26	TN0178	*T. boeoticum*	Kurdistan	52	428	Lorestan	*T. aestivum*

برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی، از شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (Ploymorphic Information Content = PIC) بر اساس رابطه ۱ استفاده شد که در آن، p فراوانی آلل i در هر جایگاه ژنی در ژنوتیپ‌های مطالعه شده است (Mohsenzadeh *et al.*, 2012):

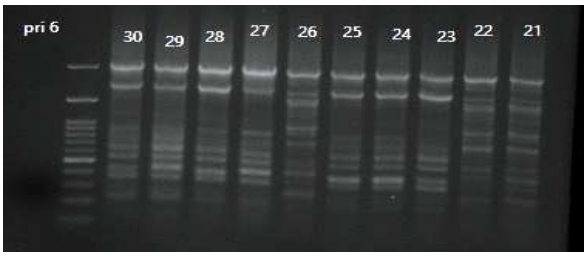
$$PIC = 1 - \sum p_i^2 \qquad (۱)$$

علاوه بر این، تعداد آلل موثر، تنوع ژنتیکی نئی و شاخص شانون نیز با استفاده از نرم‌افزار PopGene 1.32 محاسبه شد. به‌منظور تعیین میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، معیارهای مختلف فاصله یا تشابه و روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای مانند دورترین و نزدیک‌ترین همسایه‌ها، متوسط فاصله بین خوشه‌ها (UPGMA)، متوسط فاصله بین و درون خوشه‌ها (W-Average) و روش‌های مرکزی و میانه‌ای انجام شد و گروه‌بندی حاصل از آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. از آنجایی که ضریب تشابه تطابق ساده و روش دورترین همسایه‌ها بهترین نتیجه را در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ارایه داد، بنابراین تنها نتایج این روش گزارش شد. روش تجزیه خوشه‌ای و رسم دندروگرام مربوطه با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc2 انجام شد. برای آزمون صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای و برآورد میزان دقت انتساب ژنوتیپ‌ها به گروه‌ها، از تجزیه تابع تشخیص با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. علاوه بر این، صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی بر اساس نرم‌افزار GenStat نسخه ۱۲ نیز مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای SSR و ISSR استفاده شده در این تحقیق

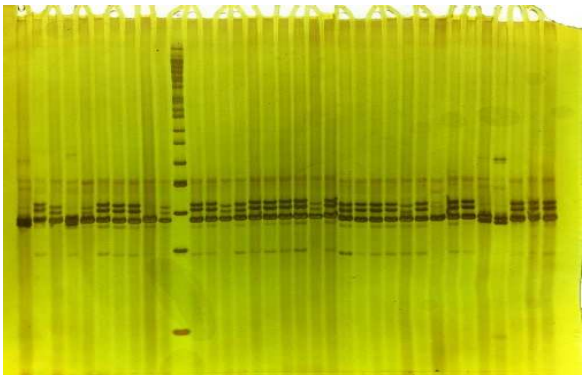
Table 2. Characteristics of the SSR and ISSR markers used in this research

ISSR	Primer sequence	TM
UBC810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50.36
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52.77
UBC818	CACACACACACACACAG	52.77
UBC826	ACACACACACACACACC	52.77
UBC873	GACAGACAGACAGACA	49.18
UBC807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	50.36
UBC808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	52.77
UBC819	GTGTGTGTGTGTGTGTA	50.36
UBC827	ACACACACACACACACG	52.77
UBC881	GGGGTGGGGTGGGGTG	61.00
ISSR8	GAGAGAGAGAGAGAGAGT	51.06
ISSR1	GAGAGAGAGAGAGAGAT	50.00
ISSR3	CTCTCTCTCTCTCTCTA	50.00
17899A	CACACACACACAAG	42.00
HB12	CAGCAGCAGAG	38.00
ISSR M2	ACCACCACCACCACCACCG	63.08
SSR		
Xgwm 389-3B	F: ATCATGTCGATCTCCTTGACG R: TGCCATGCACATTAGCAGAT	57.87 55.25
Xgwm 44-7D	F: GTTGAGCTTTTCAGTTCGGC R: ACTGGCATCCACTGAGCTG	57.30 58.83
Xgwm 190-5D	F: GTGCTTGCTGAGCTATGAGTC R: GTGCCACGTGGTACCTTTG	59.82 58.83
Xgwm 109-5A	F: AAAGCTGCTCATCGTGGTG R:GGTCCGCCTGACAGACC	56.67 60.01



شکل ۱- الگوی نوارهای ایجاد شده نشانگر UBC807 در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم روی ژل آگارز یک درصد

Figure 1. DNA profile of ISSR marker UBC807 in some wheat genotypes on 1% agarose gel



شکل ۲- الگوی نوارهای ایجاد شده نشانگر Xgwm44-7D در تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم روی ژل پلی‌اکریل‌آمید هشت درصد

Figure 2. DNA profile of SSR marker Xgwm44-7D in some wheat genotypes on 8% polyacrylamide gel

نتایج و بحث

در این تحقیق، با استفاده از ده نشانگر ISSR و دو نشانگر SSR، تعداد ۱۴۵ نوار به‌دست آمد که بیش‌ترین نوار مربوط به نشانگرهای ISSR1 و Xgwm190-5A با تعداد ۱۶ نوار بود. برخی از نشانگرها تعداد نوارهای چند شکل یکسانی تولید کردند که می‌توان نشانگرهای HB12 و ISSR3 با تعداد ۱۰ نوار، نشانگرهای 17899A، ISSRM2 و UBC811 با تعداد ۱۱ نوار و نشانگرهای UBC807 و UBC827 با تعداد ۱۲ نوار را نام برد. نشانگر UBC881 از نشانگرهای ISSR نیز با تعداد نه نوار کم‌ترین نوارهای چند شکل را ایجاد کرد (جدول ۳).

محتوای اطلاعات چند شکلی، یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرها از نظر قدرت تفکیک آن‌ها است. مقدار بیش‌تر این معیار، بر چند شکلی زیاد دلالت می‌کند و نشان‌دهنده قدرت تمایز بالای آن نشانگر است (Carvalho *et al.*, 2009). محتوای اطلاعات چندشکلی به تفکیک هر یک از آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش محاسبه و نتایج در جدول ۳ اراه شد. محتوای اطلاعات چند شکلی در این مطالعه بین ۰/۲ تا ۰/۴۱ متغیر بود و میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی برای کل نشانگرها ۰/۳۴۵ برآورد شد (برای نشانگرهای ISSR برابر با ۰/۳۵۸ و برای نشانگرهای SSR برابر با ۰/۲۸ بود). بیش‌ترین و کم‌ترین میزان PIC را به‌ترتیب نشانگرهای ISSR1 و Xgwm44-7D به‌خود اختصاص دادند. توماس و ببلی (Thomas and Bebeli, 2010) میانگین شاخص PIC را بین گونه‌های آژیلوپس یونان با استفاده از نشانگرهای مختلف ۰/۲۸ اعلام کردند. در آزمایشی، تنوع ژنتیکی ۲۵ ژنوتیپ گندم (۲۱ لاین اصلاحی گندم دوروم، دو ژنوتیپ بومی گندم دوروم به نام‌های زردک و گردیش، ژنوتیپ گندم دوروم ساجی و ژنوتیپ گندم نان سرداری) بر اساس ۱۱ نشانگر ISSR مطالعه و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان PIC به‌ترتیب ۰/۳۶ و ۰/۲۲ و میانگین آن برابر با ۰/۲۶ گزارش شد (Najaphy *et al.*, 2011). از آنجایی‌که نشانگرهای ISSR1، ISSR3 و UBC807 بالاترین میزان چندشکلی را نسبت به نشانگرهای دیگر نشان دادند، بنابراین می‌توانند نشانگرهای مناسب‌تری نسبت به سایر نشانگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی باشند.

شاخص تنوع شانون (Shannon, 1948) یکی دیگر از معیارهایی است که میزان چندشکلی موجود در بین ژنوتیپ‌های مختلف را نشان می‌دهد. در این تحقیق میزان ضریب شانون در آغازگرهای مختلف بین ۰/۶۳ تا ۰/۳۴ متغیر بود. بیش‌ترین شاخص شانون را آغازگر ISSR17899A با مقدار ۰/۶۳ و کم‌ترین مقدار آن را آغازگر Xgwm44-7D با مقدار ۰/۳۴ نشان داد (جدول ۳). سراوانی و همکاران (Saravani *et al.*, 2019) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گندم، بیش‌ترین مقدار شاخص شانون را برای نشانگر PRI37 با مقدار ۰/۶۱۴ گزارش و اعلام کردند که این شاخص معیاری برای اندازه‌گیری میزان آلل‌های چندشکل در یک جایگاه ژنی است.

نتایج حاصل از ارزیابی معیار تنوع ژنی نئی نشان داد که میزان آن از ۰/۲۲ تا ۰/۴۴ متغیر بود، به‌طوری‌که میانگین آن برای نشانگرهای ISSR برابر با ۰/۳۵۳ و برای نشانگرهای SSR برابر با ۰/۲۲۵ بود (جدول ۳). میانگین تنوع ژنی نئی در مطالعه نظری و عبدالشاهی (Nazari and Abdolshahi, 2014)، ۰/۲۴ گزارش شد. در پژوهش گلی و همکاران (Goli *et al.*, 2016) نیز میزان تنوع ژنی نئی از ۰/۳۳۶ تا ۰/۴۷۴ متغیر بود و ترکیبات آغازگری PRI-4+PRI-3 و PRI-4+PRI-8 به‌ترتیب با مقادیر ۰/۴۷۴ و ۴۷۰ بیش‌ترین میزان تنوع ژنتیکی نئی را دارا بودند.

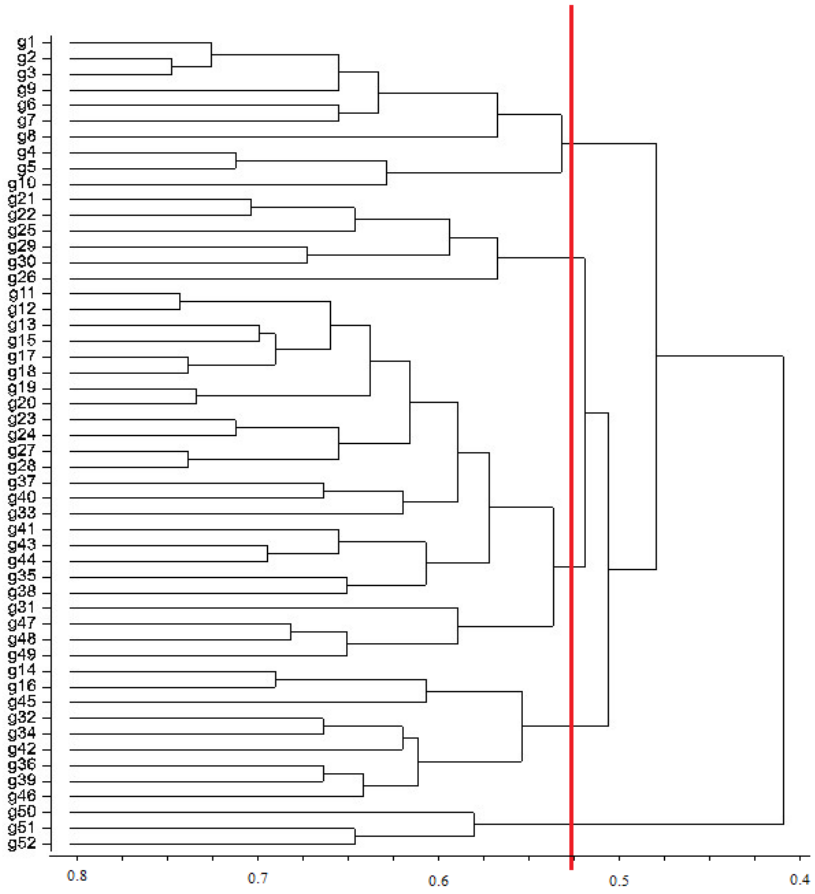
تعداد آلل موثر نیز به‌عنوان یکی دیگر از معیارهای تنوع ژنتیکی و چند شکلی در پژوهش حاضر ارزیابی شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که میانگین تعداد آلل موثر برای همه نشانگرهای مورد استفاده برابر با ۱/۳ آلل بود و آغازگر ISSR1 با ۱/۷۹ آلل و آغازگرهای Xgwm44-7D و HB12 با ۱/۴ آلل به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد آلل موثر را نشان دادند. نشانگرهای UBC807 و UBC827 با تعداد ۱/۵ آلل موثر و نشانگر UBC811 با تعداد ۱/۵۱ آلل موثر شباهت خود را از نظر تعداد آلل موثر به این دو نشانگر نشان داد. همچنین، تعداد آلل موثر برای آغازگرهای Xgwm44-7D و Xgwm190-5D به‌ترتیب ۱/۴ و ۱/۴۷ آلل بود. گلی و همکاران (Goli *et al.*, 2016) نیز در پژوهش خود، تعداد آلل موثر را از ۱/۵۸ تا ۱/۹ آلل و میانگین نآن را ۱/۷۷ آلل به‌دست آوردند. در پژوهش سراوانی و همکاران (Saravani *et al.*, 2019)، بیش‌ترین تعداد آلل مؤثر با مقدار ۱/۸۲۹ آلل برای آغازگر PRI20 و کم‌ترین تعداد آلل مؤثر با مقدار ۱/۱۱۴ آلل برای آغازگر PRI31 گزارش شد.

جدول ۳- شاخص‌های تنوع و چندشکلی محاسبه شده در جایگاه‌های ISSR و SSR در ژنوتیپ‌های گندم‌های مورد مطالعه
Table 3. Polymorphism and diversity parameters for SSR and ISSR markers in the studied wheat genotypes

ISSR and SSR marker	No. of polymorphic bands	Polymorphic information content	No. of effective alleles	Nei's gene diversity index	Shannon's information index
UBC881	9	0.35	1.62	0.36	0.53
HB12	10	0.34	1.40	0.27	0.42
ISSR3	10	0.39	1.67	0.39	0.57
ISSR1	16	0.41	1.79	0.43	0.62
17899A	11	0.36	1.80	0.44	0.63
ISSR M2	11	0.31	1.50	0.33	0.50
ISSR8	12	0.37	1.68	0.39	0.58
UBC811	11	0.31	1.51	0.31	0.47
UBC807	12	0.39	1.50	0.31	0.48
UBC827	12	0.35	1.50	0.30	0.47
ISSR mean	11.40	0.36	1.60	0.35	0.53
Xgwm44-7D	15.0	0.20	1.40	0.22	0.34
Xgwm190-5D	16.0	0.36	1.47	0.29	0.46
SSR mean	15.5	0.28	1.43	0.25	0.40

به‌منظور تعیین شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌ها و گروه‌بندی آن‌ها از روش تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. از بین روش‌های مورد استفاده برای رسم دندروگرام، روش دورترین همسایه‌ها بر مبنای ضریب تطابق ساده به‌دلیل دارا بودن بیش‌ترین ضریب همبستگی کوفنتیک (۰/۷۹) و گروه‌بندی مناسب ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه، انتخاب شد. با برش دندروگرام از ناحیه ۰/۵۲ واحد، پنج گروه ایجاد شد که به‌ترتیب شامل ۱۰، ۶، ۲۴، ۹ و ۳ ژنوتیپ بود (شکل ۳). در گروه اول ده گونه وحشی گندم به‌ترتیب شامل 55003، 55004، 55011، 55014، 55021، 55025، 55029، 55039، 55041، 55049 بودند که قرابت نزدیکی با هم دارند. گروه دوم دارای شش گونه وحشی گندم با قرابت نزدیم به هم شامل TN0166، TN0170، TN0175، TN0183، TN0185 و TN0178 بود. گروه سوم که دارای ۱۴ ژنوتیپ 55059، 55061، TN0106، N0120، TN0129، TN0136، TN0161، TN0165، TN0172، TN0174، N0179، TN0182، TN0229، TN0246، TN0217، TN0435، TN0498، N0495، TN0224، TN0235، TN0209، TN0511، TN0516 و TN0518 بود، بیش‌ترین قرابت را در بین ۵۲ ژنوتیپ از گندم‌های وحشی و زراعی داشتند. گروه چهارم شامل نه ژنوتیپ وحشی گندم به‌ترتیب شامل TN0113، TN0127، TN0489، TN0216، TN0219، TN0438، TN0228، TN0244 و TN0507 بود و در نهایت در گروه پنجم، سه ژنوتیپ گندم زراعی بولانی،431 و 428 مورد استفاده در این پژوهش قرار گرفتند. گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تجزیه تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ارزیابی شد. توابع تشخیص اول و دوم به‌ترتیب ۸۹/۱ و ۱۰/۳ درصد و در مجموع ۹۹/۴ درصد از تنوع داده‌ها را توجیه کردند. بنابراین می‌توان چنین بیان کرد که دو تابع تشخیص، تقریباً کل تنوع موجود بین ارقام و گروه‌ها را توجیه کردند و ژنوتیپ‌ها به درستی گروه‌بندی شده‌اند.

به‌طور کلی اطلاعات ژنتیکی به‌دست آمده از نشانگرهای مولکولی نقش مهمی را در برنامه‌های اصلاحی ایفا می‌کنند و بنابراین به‌طور موثر می‌توان از نشانگرهای مولکولی جهت مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم استفاده کرد (Mohsenzadeh *et al.*, 2012). در مطالعه‌ای، سودمندی نشانگرهای ISSR برای شناسایی ژنوتیپ‌های اصلاحی گندم دوروم ایتالیایی با نه آغازگر ارزیابی و مشاهده شد که آغازگرهای مورد استفاده برای متمایز کردن ژنوتیپ‌های گندم دوروم مفید بودند (Pasqualone *et al.*, 2000). آن‌ها اعلام کردند که حتی دو آغازگر هم برای تشخیص ۵۲ رقم و لاین اصلاحی گندم دوروم کافی بود که دلالت بر توانایی تمایز خوب تکنیک ISSR دارد.



شکل ۳- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۵۲ ژنوتیپ گندم مورد مطالعه بر اساس روش دورترین همسایه‌ها و ضریب تطابق ساده

Figure 3. Dendrogram of cluster analysis of the 52 studied wheat genotypes using farthest-neighbor method and simple matching

نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نشان داد که چهار بردار اول در مجموع ۳۱/۵۹ درصد از واریانس کل را توجیه کردند (جدول ۴). میزان واریانس نسبی هر بردار نشان دهنده اهمیت آن بردار در واریانس کل بوده و به صورت درصد بیان می‌شود. در مطالعه حاضر دو بردار اول در مجموع ۱۹/۱۶ درصد از واریانس کل را توجیه کردند که سهم بردارهای اول و دوم به‌ترتیب ۱۰/۹۴ و ۸/۲۲ درصد بود. بنابراین ۱۴۵ باند چند شکل به تعداد کم‌تری بردار کاهش یافتند و می‌توان اظهار داشت که انتخاب آغازگرها تا حدی به‌خوبی انجام شده است. در بیان و تفسیر تنوع ژنتیکی بر اساس صفات کیفی، تجزیه به مختصات اصلی بسیار مورد استفاده بوده و با به کارگیری آن می‌توان الگوهای تنوع را به‌صورت چند بعدی نشان داد. همچنین امکان ارتباط بین افراد را بیش‌تر و تفسیر بهتر را فراهم می‌کند. علت این امر، ساده بودن استفاده از این روش است که می‌تواند اطلاعات مهم و مورد نیاز را از بین انبوهی از داده‌های پیچیده استخراج کند. در واقع توسط این روش، گروه‌های مرکب به تعداد کم‌تر و محدودتری کاهش می‌یابند و ساختارهای اصلی اثرگذار که از اهمیت بیش‌تری برخوردارند به نمایش گذاشته می‌شوند. در تجزیه به مختصات اصلی، چنانچه تغییرات کم‌تری توسط مؤلفه‌های اصلی مهم‌تر توجیه شود، به معنی توزیع مناسب‌تر نشانگرها در سطح ژنوم است. بنابراین، این نتایج در راستای مطالعات ژنتیکی می‌تواند بیانگر نمونه‌برداری مطلوب‌تر آغازگرها از کل ژنوم باشد (Khounani *et al.*, 2011).

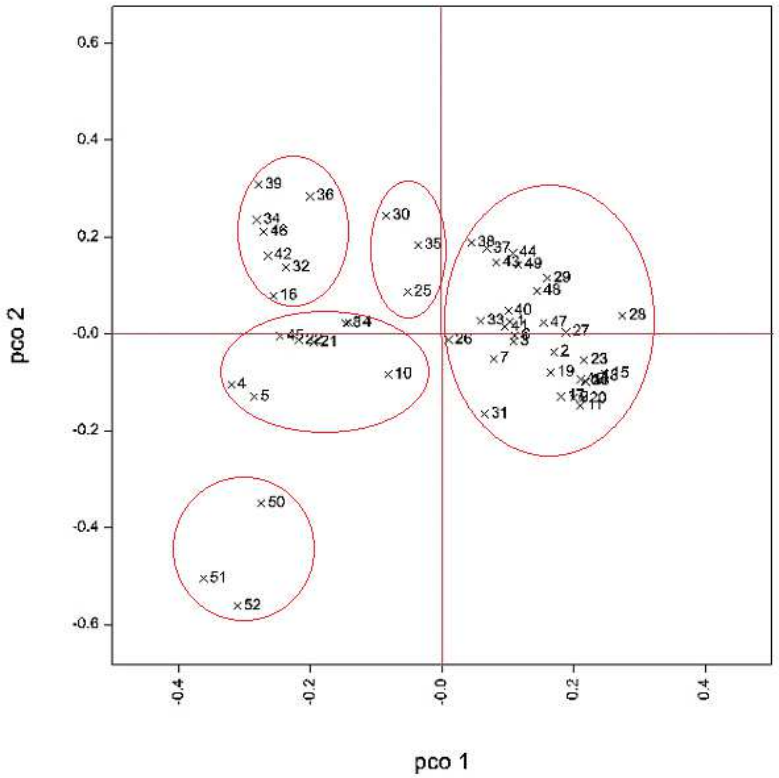
الگوی پراکنش ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه بر اساس دو بردار اول مختصات اصلی رسم شد (شکل ۴). بر این اساس ژنوتیپ‌هایی که در یک نقطه متمرکز شده‌اند، در یک گروه قرار می‌گیرند. گروه‌بندی بر اساس دو بردار

اول تجزیه به‌مختصات اصلی تا حدودی مشابه گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود و تفاوت اندک مشاهده شده به این دلیل است که دو مولفه اول نمی‌تواند نشان‌دهنده تنوع کل متغیرهای اولیه (تعداد کل نوارهای الکتروفورزی) باشد. به‌عنوان نمونه، هر سه ژنوتیپ بومی (بولانی،431 و 428) که در تجزیه خوشه‌ای در گروه پنجم قرار گرفتند، در نمودار الگوی پراکنش مختصات اصلی نیز در کنار هم قرار گرفتند. برخی از ژنوتیپ‌های گروه اول نیز در نمودار دوبعدی مختصات اصلی کنار هم بودند (ژنوتیپ‌های 55014، 55021 و 55049). همچنین، هفت ژنوتیپ دیگر که در گروه چهارم تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی شدند (TN0127، TN0216، TN0219، TN0438، TN0228، TN0244 و TN0507)، در نمودار مختصات اصلی نیز کنار هم قرار گرفتند. یاقوتی‌پور و همکاران (Yaghotipoor *et al.*, 2019) نیز در آزمایشی که با استفاده از نشانگرهای ISSR انجام دادند، نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای را با استفاده از تجزیه به مولفه‌های اصلی تائید کردند. همچنین، در پژوهش رحیمی و همکاران (Rahmani *et al.*, 2019) بر اساس نتایج تجزیه به مختصات اصلی، ژنوتیپ‌ها در دو گروه قرار گرفتند و اظهار کردند که نتایج تجزیه به مختصات اصلی، نتایج تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد.

جدول ۴- مقدار ویژه، درصد واریانس و درصد تجمعی بردارهای اصلی ژنوتیپ های گندم مورد مطالعه

Table 4. Eigen value, variance percentage and cumulative variance for principal coordinates

Coordinate	Eigen value	Variance percentage	Cumulative variance percentage
1	1.96	10.94	10.94
2	1.48	8.22	19.16
3	1.21	6.75	25.91
4	1.02	5.68	31.59



شکل ۴- پراکنش ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه بر اساس اولین و دومین مولفه حاصل از تجزیه به مختصات اصلی

Figure 4. Distribution of the studied wheat genotypes based on first and second components from principal coordinate analysis

نتیجه‌گیری کلی

بالا بودن معیارهای تنوع و چند شکلی شامل تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نئی، شاخص شانون و میزان PIC برای آغازگرها، نشان‌دهنده کارآیی بالای این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های گندم در این تحقیق بود. بنابراین می‌توان از این نشانگرها جهت بررسی تنوع ژنتیکی گندم در مطالعات بعدی نیز استفاده کرد. بر اساس نتایج تجزیه به مختصات اصلی، درصد کمی از تغییرات کل داده‌ها توسط تعداد بیش‌تری از مولفه‌ها توجیه شد، به این معنی که نشانگرهای مورد استفاده ناحیه کروموزومی بیش‌تری را تحت پوشش قرار دادند و نشانگرها به‌خوبی تنوع ژنتیکی افراد را تعیین کردند. تفکیک ارقام با داده‌های مولکولی تا حدودی با منشأ جغرافیایی آن‌ها هم‌خوانی داشت. تجزیه تابع تشخیص به روش خطی فیشر بر اساس گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای به‌عنوان گروه‌بندی اولیه نشان داد که دو تابع تشخیص ۱۰۰ درصد تنوع داده‌ها را توجیه کردند. با توجه به هدف پژوهش که ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی خویشاوند گندم نان به‌همراه سه ژنوتیپ بومی و زراعی ایران بود، بر این اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این دو تابع تشخیص، ضمن توصیف کل تنوع موجود بین ارقام و گروه‌ها، گروه‌بندی ۵۲ ژنوتیپ گندم مورد مطالعه در پنج گروه توسط تجزیه خوشه‌ای را کاملاً مورد تایید قرار دادند.

تضاد منافع

نویسنده (گان) تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

رعایت اخلاق در نشر

نویسنده (گان) اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

اجازه انتشار مقاله

نویسنده (گان) با چاپ این مقاله به صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

References

Asadi, A. A. and Monfared, S. R. 2014. Characterization of EST-SSR markers in durum wheat EST library and functional analysis of SSR-containing EST fragments. **Molecular Genetics and Genomics** 289 (4): 625-640.

Brantestam, A. K., Von Bothmer, R., Dayteg, C., Rashal, I., Tuvesson, S. and Weibull, J. 2004. Inter simple sequence repeat analysis of genetic diversity and relationships in cultivated barley of Nordic and Baltic origin. **Hereditas** 141 (2).

Carvalho, A., Lima-Brito, J., Maçãs, B. and Guedes-Pinto, H. 2009. Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays. **Biochemical Genetics** 47 (3-4): 276-294.

Ghasemi, N., Mirfakhraii, R. G. and Abbasi, A. 2019. Assessment of genetic diversity of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using microsatellite markers. **Journal of Crop Breeding** 11 (29): 9-16. (In Persian with English Abstract).

Goli, A., Jorjani, I., Sabouri, H. and Fallahi, H. 2016. Assessment of genetic diversity of facultative wheat genotypes belong to north of Iran using ISSR markers. **Journal of Crop Breeding** 8 (20): 165-174 (In Persian with English Abstract).

Hokanson, S., Szewc-McFadden, A., Lamboy, W. and McFerson, J. 1998. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* Borkh. core subset collection. **Theoretical and Applied Genetics** 97 (5-6): 671-683.

Khounani, Z., Naghavi, M., Omidi, M., Sabokdast, M. and Talebi Kohyakhi, E. 2011. Assessment of genetic diversity in the landraces of *Ferula gummosa* from Iran using AFLP marker. **Journal of Medicinal Plants** 10 (38): 117-126.

Kim, K.-H., Kamal, A. H. M., Shin, K.-H., Choi, J.-S., Heo, H.-Y. and Woo, S.-H. 2010. Large-scale proteome investigation in wild relatives (A, B, and D genomes) of wheat. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica** 42 (10): 709-716.

Lavi, U., Akkaya, M., Bhagwat, A., Lahav, E. and Cregan, P. B. 1994. Methodology of generation and characteristics of simple sequence repeat DNA markers in avocado (*Persea americana* M.). **Euphytica** 80 (3): 171-177.

Mohammadi, M., Mirfakhraee, S. and Abbasi, A. 2014. Genetic diversity in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) as revealed by microsatellite markers and association analysis of physiological traits related to spring cold stress. **Modern Genetics Journal** 3 (9): 279-288. (In Persian with English Abstract).

Mohammadi, S. A. and Prasanna, B. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. **Crop Science** 43 (4): 1235-1248.

Mohsenzadeh, M., Samizadeh Lahiji, H., Aalami, A., Shoayi Deylami, M. and Talesh Sasani, S. 2012. Study of genetic diversity of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genotypes using ISSR and retrotransposon markers. **Iranian Journal of Field Crop Science** 43 (2): 371-380. (In Persian with English Abstract).

Najaphy, A., Parchin, R. A. and Farshadfar, E. 2011. Evaluation of genetic diversity in wheat cultivars and breeding lines using inter simple sequence repeat markers. **Biotechnology and Biotechnological Equipment** 25 (4): 2634-2638.

Nazari, M. and Abdolshahi, R. 2014. Evaluation of genetic diversity in bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using morpho-physiological traits and SSR markers. **Agricultural Biotechnology Journal** 6 (1): 215-231.

Nevo, E. and Payne, P. 1987. Wheat storage proteins: Diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel. **Theoretical and Applied Genetics** 74 (6): 827-836.

Pasqualone, A., Lotti, C., Bruno, A., De Vita, P., Di Fonzo, N. and Blanco, A. 2000. Use of ISSR markers for cultivar identification in durum wheat. In : Royo, C., Nachit, M., Di Fonzo, N. and Araus, J. L. (Eds.). Durum wheat improvement in the Mediterranean region: New challenges . Zaragoza: CIHEAM, 2000. pp: 157-161.

Rahmani, M., Rahimi, M., AbdoliNasab, M. and Maleki, M. 2019. Evaluation of genetic diversity of different bread wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties using molecular markers ISSR and RAPD. **Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)** 34 (3): 248-262. (In Persian with English Abstract).

Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M.-H., Leroy, P. and Ganal, M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. **Genetics** 149 (4): 2007-2023.

Salami, A., Pahlevani, M., Zenalinezhad, K. and Esmaeilzadeh Moghaddam, M. 2018. Genetic variation pattern of Iranian wheat landraces based on ISSR molecular markers and morphological traits. **Journal of Plant Genetic Researches** 5 (1): 87-100. (In Persian with English Abstract).

Saravani, S., Sabouri, H., Taliei, F., Biabani, A. and Rahemi Karizaki, A. 2019. Genetic diversity of wheat genotypes based on resistance to powdery mildew, grain yield, yield components and molecular markers. **Agricultural Biotechnology Journal** 11 (3): 57-82. (In Persian with English Abstract).

Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. T**he Bell System Technical Journal** 27 (3): 379-423.

Tanksley, S. D. and McCouch, S. R. 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. **Science** 277 (5329): 1063-1066.

Thomas, K. G. and Bebeli, P. J. 2010. Genetic diversity of Greek *Aegilops* species using different types of nuclear genome markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 56 (3): 951-961.

Yaghotipoor, A., Farshadfar, E. and Saeidi, M. 2019. Association analysis for drought tolerance indices in bread wheat using ISSR markers. **Applied Crop Breeding** 4 (1): 183-199. (In Persian with English Abstract).

Zargani, M., Ranjbar, G. A. and EbrahimNejad, S. 2015. Molecular assessment of genetic diversity among bread wheat (*Triticum aestivum* L.) doubled haploid lines using SSR markers. **Journal of Crop Breeding** 7 (15): 88-95. (In Persian with English Abstract).

University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

doi: 10.22124/CR.2021.20283.1684

(Research Article)

Cereal Research
Vol. 11, No. 1, Spring 2021 (43-54)

Evaluating genetic diversity of some wheat genotypes using SSR and ISSR molecular markers

Fatemeh Soghra Vahdanikia[1], Habibollah Samizadeh Lahiji[2*], Mahdi Zahravi[3] and Mohammad Mohsenzadeh Golfazani[4]

Received: March 1, 2021 Accepted: May 20, 2021

Abstract

Due to the importance of genetic diversity especially the necessity to assess the diversity among wild relatives of bread wheat (*Triticum aestivum* L.), the present study was conducted to evaluate the genetic diversity of 52 wheat genotypes (49 wild relatives genotypes of bread wheat along with three Iranian wheat genotypes) using 10 ISSR and two SSR markers. The results showed that a total of 12 studied markers produced 145 polymorphic bands with an average number of 11.4 and 15.5 polymorphic bands and 1.60 and 1.43 effective alleles for ISSR and SSR markers, respectively. The ISSR marker 17899A with the highest effective number of alleles (1.8), Nei's gene diversity index (0.44) and Shannon'd diversity index (0.63) was the most valuable marker in this study. Cluster analysis method based on simple matching coefficient matrix and farthest neighbor algorithm grouped the studied genotypes into five clusters including 10, 6, 24, 9 and 3 genotypes, respectively, and the discriminant function analysis also determined the accuracy of this grouping to be 100%. The results of principal coordinate analysis (PCoA) also showed that the four most important principal components accounted for a total of 31.59% of the total variance. Grouping the genotypes using the first and second components with explaining 10.94 and 8.22% of the total variance, respectively, divided the genotypes into five groups, so that three Iranian wheat genotypes were placed into one cluster. In total, the results showed that the markers used in this study with acceptable polymorphism could be introduced as useful and desirable markers for evaluating genetic diversity and differentiation of wheat genotypes and possibly other cereals.

Keywords: Discriminant function analysis, Marker index, Polymorphism information content, Principal coordinates analysis

1. M. Sc. Student, Dept. of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Prof., Dept. of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Research Assist. Prof., Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Assist. Prof., Dept. of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
* Corresponding author: hsamizadeh@yahoo.com