



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Studying genetic diversity and population structure of bread wheat (*Triticum aestivum L.*) genotypes using microsatellite markers

Mohammad Allahabadi¹, Reza Qoli Mirfakhrai², Reza Darvishzadeh^{3*} and Fatemeh Abbaszadeh Panjali Kharabsi⁴

1. M. Sc. Graduate, Department of Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran (* Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

4. M. Sc. Graduate, Department of Plant Genetics and Breeding, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Comprehensive abstract

Introduction

Bread wheat (*Triticum aestivum L.*) is one of the most important crops in the world, providing more than 40% of the world's food. Increasing wheat production to feed a growing population requires the improvement of genotypes to reduce the harmful effects of environmental stresses and climate changes. To achieve higher yield potential, lower genetic vulnerability, resistance to stresses, and adaptation to climate changes, it is necessary to diversify wheat germplasm resources. For this purpose, it is essential to evaluate the genetic diversity of wheat germplasm and identify superior genotypes for use in breeding programs. Microsatellite (SSR) markers, as the most popular PCR-based molecular markers, have been widely used to analyze genetic diversity in various plant species. The objective of this study was to evaluate the genetic diversity and determine the population structure of a number of bread wheat genotypes using microsatellite markers.

Materials and methods

The plant materials of this study were 70 bread wheat genotypes that were cultivated in a completely randomized design with three replications in the greenhouse of Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. Genomic DNA was extracted using the Viragen company kit and the quality and quantity of DNA samples were determined using the nanodrop and agarose gel electrophoresis, respectively. To investigate the diversity among bread wheat genotypes, 30 pairs of wheat Xgwm microsatellite primers were used, and polymorphic information content (PIC) and gene diversity indices were calculated using PowerMarker software. Cluster analysis using the neighbor-joining method was used to determine the population structure and bread wheat genotypes were grouped using TASSEL software.

Research findings

The results of this experiment showed that out of 30 pairs of the studied microsatellite primers, 24 pairs had suitable polymorphism among different bread wheat genotypes. These primers successfully identified a total of 79 alleles, with an average of 3.29 alleles per marker locus. The number of observed alleles at each marker locus varied from two to seven alleles. Xgwm443 marker with seven alleles had the highest number of observed alleles. Polymorphism information content (PIC) with an average of 0.56 varied from 0.14 in Xgwm129 marker to 0.92 in Xgwm174 and Xgwm162 markers.



Gene diversity with an average of 0.62 varied from 0.15 in Xgwm129 marker to 0.97 in Xgwm162 marker. Comparison the polymorphism information content and gene diversity showed that these two parameters have a direct relationship with each other. Cluster analysis based on microsatellite markers data using the neighbor-joining method also classified the studied bread wheat genotypes into three different clusters.

Conclusion

Based on the results of this study, Xgwm443 marker with the highest number of alleles and Xgwm174 and Xgwm162 markers with the highest polymorphism information content are introduced as useful and informative markers for evaluating the diversity and differentiation of wheat genotypes and possibly other cereals. In addition to their application in grouping the genotypes, these markers can also be used effectively in identifying genes involved in the control of agromorphological traits. Cluster analysis classified the 70 bread wheat genotypes into three separate groups that did not correspond to the growth type of the genotypes, so that each cluster randomly included a number of genotypes with different growth types.

Keywords: Cluster analysis, Gene diversity, Molecular markers, Polymorphism information content

Received: June 21, 2024

Accepted: December 26, 2024

Cite this article:

Allahabadi, M., Mirfakhrai, R. G., Darvishzadeh, R., & Abbaszadeh Panjali Kharabsi, F. (2024). Studying genetic diversity and population structure of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using microsatellite markers. *Cereal Research*, 14(4), 363-377. doi: [10.22124/CR.2024.27755.1824](https://doi.org/10.22124/CR.2024.27755.1824).



تحقیقات غلات

دوره چهاردهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۳-۳۷۷ (۳۶۳)

doi: 10.22124/CR.2024.27755.1824



دسترسی آزاد

مقاله پژوهشی

بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

محمد الله آبادی^۱، سید رضا قلی میرفخرایی^۲، رضا درویشزاده^{۳*} و فاطمه عباسزاده پنجعلی خرابی^۴

۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و بیزیادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه ژنتیک و بیزیادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

۴- دانشآموخته کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و بیزیادی گیاهی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده جامع

مقدمه: گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهمترین گیاهان زراعی جهان است که بیش از ۴۰ درصد از غذای اصلی مردم دنیا را تأمین می‌کند. افزایش تولید گندم بهمنظور تغذیه جمعیت در حال رشد، مستلزم اصلاح ژنوتیپ‌ها برای کاهش اثرات زیان‌آور تنش‌های محیطی و تغییرات آب و هوایی است. برای دستیابی به پتانسیل عملکرد بالاتر، آسیب‌پذیری ژنتیکی کمتر، مقاومت در برابر تنش‌ها و سازگاری در برابر تغییرات آب و هوایی، تنوع بخشیدن به منابع ژرم‌پلاسم گندم اهمیت اساسی دارد. برای این منظور، ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم‌پلاسم گندم و شناسایی ژنوتیپ‌های ریزماهواره برترا بهمنظور استفاده از آن‌ها در برنامه‌های بیزیادی ضروری است. نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به عنوان محبوب‌ترین نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR به طور گسترده‌ای برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی در گونه‌های مختلف گیاهی استفاده شده‌اند. هدف از این پژوهش، ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین ساختار جمعیت تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بود.

مواد و روش‌ها: مواد گیاهی این تحقیق، ۷۰ ژنوتیپ گندم نان بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه تربیت مدرس کشت شدند. DNA ژنومی با استفاده از کیت شرکت ویراژن استخراج و کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA به ترتیب با استفاده از دستگاه نانودرایپ و الکتروفوروز ژل آگارز تعیین شد. بهمنظور بررسی تنوع بین ژنوتیپ‌ها، از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره سری Xgwm گندم استفاده و شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و تنوع ژئی با استفاده از نرم‌افزار PowerMarker محاسبه شد. برای تعیین ساختار جمعیت نیز از تجزیه خوش‌های به روش Neighbor-Joining استفاده شد و ژنوتیپ‌های گندم نان با استفاده از نرم‌افزار TASSEL گروه‌بندی شدند.

یافته‌های تحقیق: نتایج این آزمایش نشان داد که از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد مطالعه، ۲۴ جفت دارای چندشکلی مناسبی در بین ژنوتیپ‌های مختلف گندم نان بودند. این آغازگرها موفق به شناسایی ۷۹ آلل با میانگین ۳/۲۹ در هر جایگاه نشانگر شدند. تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه نشانگر بین دو تا هفت آلل متغیر بود و نشانگر Xgwm443 با شناسایی هفت آلل، بیشترین تعداد آلل مشاهده شده را به خود اختصاص داد. محتوای اطلاعات چندشکلی، با میانگین ۰/۵۶ از

۰/۱۴ در نشانگر Xgwm129 تا ۰/۹۲ در نشانگر Xgwm174 و Xgwm162 متغیر بود. میزان تنوع ژنی نیز با میانگین ۰/۶۲ از ۰/۱۵ در نشانگر Xgwm129 تا ۰/۹۷ در نشانگر Xgwm162 متغیر بود. مقایسه میزان اطلاعات چندشکلی و تنوع ژنی نشان داد که این دو پارامتر رابطه مستقیمی با یکدیگر دارند. تجزیه خوشاهی بر اساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از روش نزدیکترین همسایه‌ها نیز ژنتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه متفاوت طبقه‌بندی کرد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، نشانگر Xgwm443 با بیشترین تعداد آلل و دو نشانگر Xgwm174 و Xgwm162 با بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی، به عنوان نشانگرهای مفید و آگاهی‌بخش جهت ارزیابی تنوع و تفکیک ژنتیپ‌های گندم و احتمالاً سایر غلات معرفی می‌شوند. این نشانگرها علاوه بر کاربرد در گروه‌بندی ارقام، در شناسایی ژن‌های دخیل در کنترل صفات آگرومورفولوژیک نیز کارایی دارند. تجزیه خوشاهی، ۷۰ ژنتیپ گندم نان مطالعه شده را در سه گروه محزا قرار داد و این گروه‌بندی با تیپ رشدی ژنتیپ‌ها مطابقت نداشت. به طوری که هر خوشاهه به طور تصادفی شامل تعدادی از ژنتیپ‌ها با تیپ رشدی متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشاهی، تنوع ژنی، محتوای اطلاعات چندشکلی، نشانگرهای مولکولی

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

نحوه استناد به این مقاله:

اله‌آبادی، محمد، میرفخرایی، سید رضاقلی، درویش‌زاده، رضا، و عباس‌زاده پنجعلی خرابی‌سی، فاطمه. (۱۴۰۳). بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنتیپ‌های گندم نان (*Triticum aestivum* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. *تحقیقات غلات*، ۱۴(۴)، ۳۶۳-۳۷۷.
doi: [10.22124/CR.2024.27755.1824](https://doi.org/10.22124/CR.2024.27755.1824)

می‌گیرد (Al-Prasanna & Mohammadi, 2003; Maamari et al., 2020). در جمعیت‌های متنوع بهدلیل حفظ ژن‌های مختلف، مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها و شرایط تنش‌زا تسهیل می‌شود. تحت تغییرات محیطی، رقهای مختلف زراعی بهدلیل وجود تنوع ژنتیکی زنده Salgotra & Chauhan, (2023) مانده و تولیدمثل می‌کنند (Seyedimoradi et al., 2016). تنوع ژنتیکی پایین (محدود)، رشد ژنوتیپ‌های برتر متحمل به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را محدود می‌کند (Pour-Aboughadareh et al., 2017; Seethapathy et al., 2017; Hassani et al., 2022). نشانگرهای مولکولی اطلاعات مفیدی برای بهنژادی گیاهان زراعی، بهویژه در مطالعات برسی تنوع و روابط ژنتیکی در گونه‌های مختلف گیاهی فراهم می‌کنند (Irshad, 2014).

امروزه نشانگرهای مولکولی مختلفی از جمله چندشکل تکثیر شده تصادفی (RAPD)، چندشکل طول قطعات تکثیر شده (AFLP)، نواحی بین توالی‌های تکراری ساده (ISSRs)، ریزماهواره‌های اختصاصی مکان یا توالی‌های تکراری ساده (SSRs) و چندشکلی‌های تکنوکلئوتیدی (SNPs) برای تجزیه و تحلیل تنوع محصولات گیاهی در دسترس هستند (Idrees & Irshad, 2014). در بین نشانگرهای مولکولی، ریزماهواره‌ها (SSR) محبوب‌ترین نشانگرهای مبتنی بر PCR هستند که می‌توانند ژنوتیپ‌های هتروزیگوت و هموزیگوت را تشخیص دهند (Kalia et al., 2011; Idrees & Ramesh et al., 2020). در پژوهشی، تنوع ژنتیکی گندم نان با ۲۱ جفت آغازگر اختصاصی SSR مورد ارزیابی قرار گرفت و ۱۱ جفت آغازگر توانستند تکثیر مناسبی در تمامی رقم‌های مورد مطالعه ارائه دهند. در این مطالعه در نهایت ۱۹ آلل شناسایی شد و میانگین تعداد آلل‌ها به‌ازای هر مکان برابر با ۲/۲۷ آلل بود (Nadi et al., 2017). در مطالعه فرهنگیان کاشانی و همکاران (Farhangian-Kashani, et al., 2021) SSR برای بررسی چندشکلی بین ژنوتیپ‌های گندم استفاده شد. بالاترین تنوع ژنی در نشانگرهای Gwm410 و Gpw2181 (۰/۷۲) و PIC ۰/۷۱ مشاهده شد و مقدار

گندم گیاهی یکساله، تکلیه و خودگشتن از تیره غلات است. گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی جهان است که رتبه اول را از نظر سطح زیر کشت و تولید جهانی در بین سایر غلات دارد. گندم نان منبع اصلی تأمین کربوهیدرات است و بیش از ۴۰ درصد از غذای اصلی مردم جهان را تأمین می‌کند. گندم می‌تواند در مناطق وسیعی از جهان با شرایط آب و هوایی متفاوت رشد کند و از سازگارترین گیاهان زراعی است (Miransari & Smith, 2019; Akbarimehr et al., 2022; Mamnoie et al., 2023; Soltani, 2023). تقاضای جهانی برای گندم همراه با رشد جمعیت در حال افزایش است. آمارها نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۵۰، تقاضا برای گندم و محصولات آن تا ۵۰ درصد افزایش خواهد یافت (Yang et al., 2020). نرخ پایین افزایش تولید سالانه گندم (۰/۹ درصد) به اثرات منفی تنش‌ها و تغییرات آب و هوایی بر عملکرد آن بر می‌گردد. از این‌رو، افزایش تولید گندم برای تغذیه جمعیت در حال رشد مستلزم بهبود و اصلاح ژنوتیپ‌ها برای مقابله با تنش‌ها و تغییرات آب و هوایی است. بهمنظور دستیابی به پتانسیل عملکرد بالاتر، آسیب‌پذیری ژنتیکی کمتر، مقاومت در برابر تنش‌ها و سازگاری در برابر تغییرات آب و هوایی، تنوع بخشیدن به منابع ژرمپلاسم گندم اهمیت اساسی دارد (Sharma et al., 2022; Jabari et al., 2023). برای این منظور، ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرمپلاسم گندم و شناسایی ژنوتیپ‌های برتر بهمنظور استفاده از آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی ضروری است.

تنوع ژنتیکی محصول بازتر کیب ماده ژنتیکی (DNA) در طول فرآیند توارث، جهش، جریان ژن و رانش ژنتیکی است که منجر به تغییرات در توالی DNA، پروفایل‌های اپی‌ژنتیک، ساختار پروتئین‌ها یا ایزوآنزیم‌ها و ویژگی‌های Brown, 1983). مطالعه تنوع ژنتیکی نه تنها با هدف حفاظت از ژرمپلاسم و جلوگیری از فرسایش ژنتیکی، بلکه بهمنظور فراهم شدن اطلاعات جامع در مورد میزان تنوع و ساختار جمعیت‌های گیاهی برای گزینش والدین مناسب جهت انجام تلاقي‌ها و ایجاد جمعیت‌های جدید، مدیریت منابع ژرمپلاسم، استفاده از آلل‌های مطلوب برای اصلاح کمی و کیفی گیاهان زراعی و ایجاد ارقام مناسب بر اساس اهداف برنامه‌های بهنژادی انجام

تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم نان بر اساس نشانگرهای SSR بررسی شد. نتایج این تحقیق می‌تواند به طور بالقوه برای بهنژادگران گندم در انتخاب ژنوتیپ‌های دارای فاصله ژنتیکی بیشتر برای استفاده از هتروزیس و افزایش تنوع ژنتیکی در برنامه‌های تلاقی مفید و مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی این تحقیق، ۷۰ ژنوتیپ گندم نان (جدول ۱) بود که از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، تهیه و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس کشت شدند. منشا بیشتر ژنوتیپ‌ها، مرکز بین‌المللی اصلاح ذرت و گندم (CIMMYT) و نیز دورگ‌گیری بین رقم‌های ایرانی با ژنوتیپ‌های خارجی بود که مطالعات مقدماتی و پیشرفتی و همچنین تعیین سازگاری و پایداری عملکرد پیش‌تر آن‌ها در مناطق مختلف کشور انجام شده است.

در دامنه ۰/۶۷۰ تا ۰/۶۷۰ متغیر بود. در مطالعه دیگری، تنوع ژنتیکی ۲۵ توده گندم نان از نظر ۲۳ صفت زراعی و ۲۰ نشانگر مولکولی SSR در شرایط دیم و آبیاری بررسی شد (Bavandpouri *et al.*, 2022). بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از صفات زراعی، توده‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. در ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌ها با استفاده از ۲۰ نشانگر SSR نیز ۱۶ جفت آغازگر که چندشکلی ۹۳/۷۵ درصد برآورد شد و سه نشانگر XCFD168-2D و XGWM136-1A و XGWM350-7D چند شکلی، بیشترین تعداد آلل، مقدار بالای شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکلی، شاخص نشانگری، شاخص نسبت چندشکلی مؤثر و شاخص قدرت تفکیک، به عنوان مناسب‌ترین نشانگرها برای مطالعات بعدی گندم معرفی شدند (Bavandpouri *et al.*, 2022). با توجه به اظهار نظر محققین، نشانگرهای SSR به دلیل نشان دادن تنوع ژنتیکی بالا، می‌توانند در تفکیک ژنوتیپی گونه‌های نزدیک به گندم مفید باشند. در پژوهش حاضر نیز تنوع ژنتیکی

جدول ۱- ژنوتیپ‌های گندم نان مطالعه شده در این آزمایش

Table 1. Bread wheat genotypes studied in this experiment

No.	Genotype	Growth type	No.	Genotype	Growth Type	No.	Genotype	Growth Type
1	Atrak	Spring	25	Chamran 2	Spring	49	Shirodi	Spring
2	Ehsan	Spring	26	Heydari	Spring/Winter	50	Talaeae	Spring
3	Azar 2	Winter	27	Khalil	Spring	51	Karaj 1	Winter
4	Artta	Spring	28	Darya	Spring	52	Ghods	Semi-winter
5	Arg	Spring	29	Dez	Spring	53	Cascogene	Spring
6	Azadi	Spring	30	Rakhshan	Spring	54	Karaj 3	Winter
7	Ofogh	Spring	31	Rasoul	Spring	55	Karaj 2	Winter
8	Aflak	Spring	32	Rasad	Winter	56	Kalate	Spring
9	Almot	Winter	33	Roshan BC	Spring	57	Kavir	Spring/Winter
10	Omid	Winter	34	Zare	Winter	58	Gaspard	Winter
11	Ohadi	Winter	35	Zarin	Winter	59	Golestan	Spring
12	Alvand	Semi-winter	36	Zarineh	Winter	60	Gonbad	Spring
13	Barat	Spring	37	Sarang	Spring	61	Morvarid	Spring
14	Barzegar	Spring	38	Saison	Winter	62	Marvdasht	Semi-winter
15	Bezostaia	Winter	39	Sabalan	Winter	63	Meraj	Spring
16	Bam	Spring/Winter	40	Sepahan	Semi-winter	64	Moghan 2	Spring
17	Bahar	Spring	41	Setareh	Spring	65	Mahdavi	Spring/Winter
18	Baharan	Spring	42	Sirvan	Spring	66	Mehrgan	Spring
19	Bayat	Spring	43	Gonbad 2	Spring	67	Mihan	Winter
20	Parsi	Spring	44	Sivand	Spring	68	Narian	Spring/Winter
21	Pishtaz	Spring	45	Shahpasand	Winter	69	Neishabour	Spring
22	Torabi	Spring/Winter	46	Shavoor	Spring	70	Niknezhad	Spring/Winter
23	Tirgan	Spring	47	Shahryar	Winter			
24	Chamran	Spring	48	Shoosh	Spring			

DNA استخراج

استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت شرکت ویراژن انجام شد. حدود ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی در هاون چینی با استفاده از ازت مایع پودر و به لوله دو میلی‌لیتری منتقل شد. بافر لایزر که از قبل به آن بتامر کاپتواتانول افزوده شده بود، در دمای محیط قرار گرفت تا با محیط هم‌دمای شود. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از آن به لوله اضافه و پس از مخلوط شدن با نمونه پودر شده، لوله حاوی نمونه به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس در سانتریفیوژ در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند و سپس مایع بالایی خارج و به لوله ۱/۵ میلی‌لیتر جدیدی منتقل شد. پس از اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به نمونه‌ها، ۷۰۰ میکرولیتر از مخلوط به مدت یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی به لوله‌های جدید منتقل شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشوی یک به ستون اضافه و به مدت یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و فاز زیرین دور ریخته شد. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر از بافر شستشوی دو به ستون اضافه و به مدت یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و فاز زیرین دور ریخته شد. ستون در یک لوله ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شد و ۵۰ میکرولیتر از بافر جدا کننده به مرکز ستون اضافه و به مدت یک دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. سپس به مدت یک دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد که در نتیجه DNA همراه با بافر جدا کننده در لوله قرار گرفت. لوله‌های حاوی DNA در دمای ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای تعیین کیفیت و کمیت نمونه‌های از DNA از دستگاه نانوراپ BioTek مدل Epoch و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد استفاده شد. عکس‌برداری از ژل با دستگاه Gel documentation انجام شد. پس از تعیین غلظت تمامی نمونه‌های DNA، کلیه نمونه‌ها به غلظت ۱ نانوگرم در میکرولیتر و در حجم ۵۰ میکرولیتر جهت استفاده در PCR با نشانگرهای SSR رقیق شدند.

انتخاب نشانگرهای ریزماهواره

در این تحقیق، از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره سری Xgwm گندم، جداسازی شده توسط رودر و همکاران (Röder *et al.*, 1998) استفاده شد (جدول ۲).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد که شامل ۳۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر بافر PCR (10x)، ۰/۷ میکرولیتر کلرید مینزیم ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۲۵ میلی‌مول از هر چهار نوع نوکلئوتید (dNTPs)، ۱/۱ واحد آنزیم Taq پلیمراز و ۱۰ میکرومول از هر آغازگر به همراه آب دیونیزه بود. PCR در دستگاه ترموسایکلر مدل BioRad با چرخه حرارتی شامل واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت چهار دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر با توجه به دمای خاص هر آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه و بسط رشته در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و در انتهای بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد.

الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز

محصولات PCR روی ژل آگارز ۲/۵ درصد، بارگذاری و به مدت یک ساعت با ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شدند (شکل ۱). بعد از انجام الکتروفورز، از ژل تحت اشعه UV در دستگاه Gel documentation عکس‌برداری شد تا کیفیت تکثیر بررسی و در صورت تائید، بررسی‌های دقیق روی ژل متافور-آگارز انجام شود. محصولات PCR تأیید شده برای تعیین چندشکلی و میزان تنوع بین ژنوتیپ‌ها، روی ژل متافور سه درصد بارگذاری و به مدت یک ساعت با ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز شدند و بعد از اتمام الکتروفورز با استفاده از دستگاه Gel documentation از ژل تحت اشعه UV عکس‌برداری شد.

بررسی‌های آماری

به منظور تجزیه و تحلیل آماری، امتیازدهی نوارهای روی ژل‌ها به صورت همباز انجام شد. بر این اساس، A1 برای آلل اول و A2 برای آلل دوم استفاده شد و در صورت حضور بیش از دو آلل برای یک مکان در جمعیت مورد مطالعه، به ترتیب اعداد سه، چهار و غیره در نظر گرفته شد. جهت تعیین قدرت تمایز نشانگرها، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد

: (Darvishzadeh & Azizi, 2015)

$$PIC = 1 - \sum_{i=0}^n P_i^2 \quad (1)$$

در این رابطه P_i فراوانی آلل i ام و n تعداد آلل‌های هر نشانگر SSR است. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف

(Liu & Muse, 2005) PowerMarker Ver. 3.25 محسوبه شدند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم نان بر اساس نشانگرهای SSR با استفاده از تجزیه خوشای بهروش نزدیک‌ترین همسایه‌ها (Neighbor-Joining) با نرم‌افزار TASSEL انجام شد. این روش به محققین اجازه می‌دهد تا با استفاده از داده‌های SSR و روش‌های تجزیه و تحلیل مناسب، ساختار ژنوتیپی جمعیت‌های مختلف را شناسایی کنند و با تهیه درخت فیلوزنی به فهم بهتر تنوع ژنتیکی و روابط بین گونه‌ها دست یابند.

از نظر قدرت تمایز آن‌ها به‌شمار می‌رود. مقادیر بالای این معیار دلالت بر چندشکلی زیاد در جایگاه نشانگری و نقش مهم آن در تفکیک و تمایز افراد دارد، به طوری که نشانگرهای با PIC بالا برای تمایز ژنوتیپ‌های خویشاوند نزدیک مفید هستند. میزان تنوع ژنی یکی دیگر از معیارهای ارزیابی تنوع آللی نشانگرها و میزان اطلاعات نشانگری در مطالعات بررسی تنوع است که احتمال متفاوت بودن آلل تصادفی در دو فرد را نشان می‌دهد. میزان اطلاعات چندشکلی و تنوع ژنی توسط نرم‌افزار

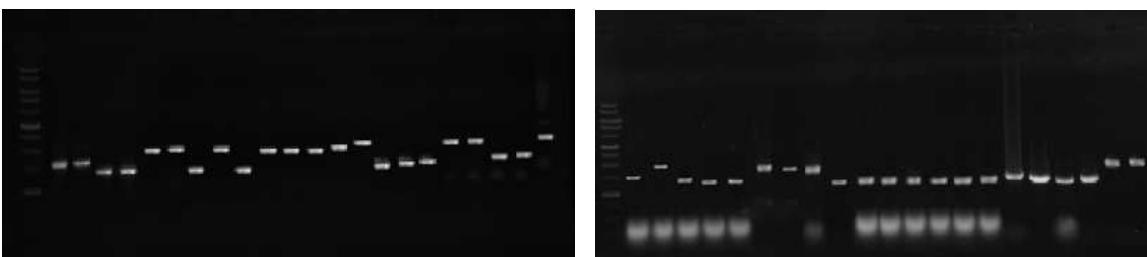
جدول ۲- آغازگرهای SSR مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ۷۰ رقم گندم نان

Table 2. SSR primers used in the study of genetic diversity of 70 bread wheat cultivars

Row	Microsatellite markers	Primer sequence	Chromosomal location	Annealing temperature (°C)
1	Xgwm264	F: GAG AAA CAT GCC GAA CAA CA R: GCA TGC ATG AGA ATA GGA	1B	60
2	Xgwm445	F: TTT GTT GGG GGT TAG GAT TAG R: CCT TAA CAC TTG CTG GTA GTG A	2A	55
3	Xgwm613	F: CCG ACC CGA CCT ACT TCT CT R: TTG CCG TCG TAG ACT GG	6B	60
4	Xgwm44	F: CGC ACC ATC TGT ATC ATT CTG R: TGG TCG TAC CAA AGT ATA CGG	2 A	50
5	Xgwm55	F: TGC CCA CAA CGG AAC TTG R: GCA ACC ACC AAG CAC AAA GT	1-2B	55
6	Xgwm129	F: TCA GTG GGC AAG CTA CAC AG R: AAA ACT TAG TAG CCG CGT	5A	50
7	Xgwm133	F: ATC TAA ACA AGA CGG CGG TG R: ATC TGT GAC AAC CGG TGA GA	6B	60
8	Xgwm140	F: ATG GAG ATA TTT GGC CTA CAA C R: CTT GAC TTC AAG GCG TGA CA	1B	55
9	Xgwm162	F: AGT GGA TCG ACA AGG CTC TG R: AGA AGA AGC AAA GCC TTC CC	3A	60
10	Xgwm174	F: GGG TTC CTA TCT GGT AAA TCC C R: GAC ACA CAT GTT CCT GCC AC	5D	55
11	Xgwm190	F: GTG CTT GCT GAG CTA TGA GTC R: GTG CCA CGT GGT ACC TTT G	2D	60
12	Xgwm192	F: GGT TTT CTT TCA GAT TGC GC R: CGT TGT CTA ATC TTG CCT TGC	5D	60
13	Xgwm261	F: CTC CCT GTA CGC CTA AGG C R: CTC GCG CTA CTA GCC ATT G	2D	55
14	Xgwm291	F: CAT CCC TAC GCC ACT CTG C R: AAT GGT ATC TAT TCC GAC CCG	5A	60
15	Xgwm294	F: GGA TTG GAG TTA AGA GAG AAC CG R: GCA GAG TGA TCA ATG CCA GA	2A	55
16	Xgwm302	F: GCA AGA AGC AAC AGC AGT AAC R: CAG ATG CTC TTC TCT GCT GG	7B	60
17	Xgwm339	F: AAT TTT CTT CCT CAC TTA TT R: AAA CGA ACA ACC ACT CAA TC	2A	50
18	Xgwm372	F: AAT AGA GCC CTG GGA CTG GG R: GAA GGA CGA CAT TCC ACC TG	2A	60
19	Xgwm382	F: GTC AGA TAA CGC CGT CCA AT R: CTA CGT GCA CCA CCA TTT TG	2A	60
20	Xgwm410	F: GCT TGA GAC CGG CAC AGT R: CGA GAC CTT GAG GGT CTA GA	2B	55
21	Xgwm443	F: GGG TCT TCA TCC GGA ACT CT R: CCA TGA TTT ATA AAT TCC ACC	5B	60
22	Xgwm469	F: CAA CTC AGT GCT CAC ACA ACG R: CGA TAA CCA CTC ATC CAC ACC	6D	60

Table 2. Continued

Row	Microsatellite markers	Primer sequence	Chromosomal location	Annealing temperature (°C)
23	Xgwm518	F: AAT CAC AAC AAG GCG TGA CA R: CAG GGT GGT GCA TGC AT	6B	55
24	Xgwm540	F: TCT CGC TGT GAA ATC CTA TTT C R: AGG CAT GGA TAG AGG GGC	5B	55
25	Xgwm583	F: TTC ACA CCC AAC CAA TAG CA R: TCT AGG CAG ACA CAT GCC TG	5D	60
26	Xgwm608	F: ACA TTG TGT GTG CGG CC R: GAT CCC TCT CCG CTA GAA GC	2D	60
27	Xgwm610	F: CTG CCT TCT CCA TGG TTT GT R: AAT GGC CAA AGG TTA TGA AGG	4A	60
28	Xgwm611	F: CAT GGA AAC ACC TAC CGA AA R: CGT GCA AAT CAT GTG GTA GG	7B	55
29	Xgwm642	F: ACG GCG AGA AGG TGC TC R: CAT GAA AGG CAA GTT CGT CA	1D	60
30	Xgwm10	F: CGC ACC ATC TGT ATC ATT CTG R: TGG TCG TAC CAA AGT ATA CGG	2A	50



شکل ۱- محصول PCR نشانگر ریزماهواره Xgwm610 در ژنوتیپ‌های گندم نان روی ژل آگارز ۲/۵ درصد

Figure 1. PCR product of the microsatellite marker Xgwm610 in bread wheat genotypes on 2.5% agarose gel

آل‌ها می‌تواند به عنوان یک معیار با ارزش برای هر ریزماهواره در ژنتیک جمعیت در نظر گرفته شود (Wei *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ارقام رایج گندم سیستان برای مقاومت به بیماری زنگ بر اساس ۱۰ نشانگر ریزماهواره پیوسته به ژن‌های مقاومت به بیماری‌های زنگ زرد، زنگ قهوه‌ای و زنگ سیاه انجماد و گزارش شد که نشانگرهای 12C، SCS719 و Xgwm443 با سه آل، کمترین و نشانگر Xgdm116 هفت آل، بیشترین آل را تکثیر کردند (Shahraki *et al.*, 2018)؛ کافی و همکاران (Kafi *et al.*, 2018) از ۱۳ نشانگر ریزماهواره برای بررسی تنوع ژنتیکی رقم‌های ایرانی و خارجی گندم استفاده کردند. آن‌ها تعداد دو تا ۱۱ آل با میانگین ۶/۸۴ آل در هر نشانگر مشاهده و بیشترین تعداد آل را برای نشانگر Xcn13-6B گزارش کردند. در پژوهشی دیگر، تنوع ژنتیکی گندم و خویشاوندان وحشی آن با استفاده از ۳۴ جفت آغازگر ریزماهواره ارزیابی و در مجموع ۱۰۱ آل تکثیر شد و آغازگرهای Xgwm413، Xgwm120 و Xgwm443

نتایج و بحث میزان چندشکلی و تنوع ژنتیکی

میزان چندشکلی مکان‌های SSR در ۷۰ رقم گندم نان بررسی شد. بر اساس نتایج، ۲۴ جفت آغازگر از ۳۰ جفت آغازگر ریزماهواره مورد بررسی در ارقام گندم نان موردنده، چندشکلی مناسبی نشان دادند و از این‌رو جهت بررسی تنوع ژنتیکی انتخاب شدند (جدول ۳). آغازگرهای مورد استفاده توائیند ۷۹ آل با میانگین ۳/۲۹ آل در هر جایگاه نشانگری تکثیر کنند. تعداد آل‌های مشاهده شده در هر مکان ژنی بین دو تا هفت آل متغیر بود و آغازگر Xgwm443 با تعداد هفت آل، بیشترین تعداد آل را نشان داد. فراوانی آل رایج (آلی که بیشترین فراوانی را بین آل‌های یک جایگاه دارد)، از ۰/۱۶ (Xgwm518) تا ۰/۹۳ (Xgwm174) میانگین کل فراوانی آل رایج برابر با ۰/۵۲ بود (جدول ۳). مقایسه تعداد آل و فراوانی آل رایج در جایگاه‌های ریزماهواره نشان داد که نشانگرهایی با تعداد آل چندشکل کمتر، فراوانی آل رایج بیشتری داشتند. تفاوت در فراوانی

۲۲ جفت آغازگر ریزماهواره در ۲۲ رقم گندم نان، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی را $573/0$ گزارش و نشانگر Xgwm60 را بهدلیل داشتن بیشترین میزان PIC، بهعنوان نشانگر مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی معرفی کردند. در مطالعه زلقی و همکاران (Zallaghi *et al.*, 2020) از میان ۵۹ جفت آغازگر SSR، ۲۱ جفت دارای PIC بین $0/19$ تا $0/168$ بودند و تعداد آلل‌های شناسایی شده در هر جایگاه از یک تا هفت با متوسط $3/57$ آلل متغیر بود. در مطالعه دیگر (Bavandpouri *et al.*, 2022) از ۲۰ جفت آغازگر مورد استفاده در گندم نان، تعداد ۱۶ جفت چندشکلی مناسبی نشان دادند و در مجموع ۳۵ آلل تکثیر شد و میزان PIC با میانگین $0/4$ از Xgwm642 و Xgwm4 (Xgwm334) تا $0/5$ Xgwm4 و Xgwm155 (Xgwm155) متغیر بود. تحقیقات اخیر در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی در گندم نشان داد که تغییرات قابل توجهی در تعداد آلل‌ها در مکان‌های مختلف وجود دارد (Batashova *et al.*, 2024). آن‌ها تعداد ۸۰ آلل در ۱۱ مکان شناسایی کردند و از این تعداد، ۲۵ آلل منحصر به فرد بودند که نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی غنی در جمعیت مورد مطالعه بود. آن‌ها همچنین حداقل پنج آلل در مکان‌های Xgwm11، Xgwm135، Xgwm139 و Xgwm219 تا ۱۲ آلل در مکان Xgwm174 شناسایی و میزان PIC را در بازه $0/48$ تا $0/87$ گزارش کردند که بیانگر تنوع ژنتیکی Xgwm174 بالا در جمعیت بود. نشانگرهای PIC Xgwm372 و Xgwm389 نیز بهترتبیب با مقدار Xgwm389 برابر با $0/87$ ، $0/84$ و $0/83$ بیشترین میزان چندشکلی را نشان دادند (Batashova *et al.*, 2024).

مان‌طور که ملاحظه می‌شود، مقادیر مختلفی برای محتوای اطلاعات چندشکلی در گندم گزارش شده است که می‌تواند بهدلیل عواملی نظیر تعداد آلل تکثیر شده در هر جایگاه نشانگری، تنوع موتیف (بن‌مایه) در نواحی تکرار شونده و طول توالی تکراری باشد (Maccaferri *et al.*, 2003). تعداد ژنتیک‌ها و تعداد نشانگرهای نیز همبستگی مشتباً با محتوای اطلاعات چندشکلی دارند.

تنوع ژنی یکی دیگر از معیارهای ارزیابی تنوع آللی نشانگرهای و میزان اطلاعات نشانگری در مطالعات بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها است. میزان تنوع ژنی از $0/15$ تا $0/97$ با میانگین $0/62$ متغیر بود (جدول ۳). با توجه به اینکه موفقیت در برنامه‌های بهنژادی تابع تنوع ژنتیکی، وراثت‌پذیری و انتخاب است، وجود تنوع ژنتیکی

Xgwm132 بیشترین تعداد آلل (هفت آلل) را نشان دادند (Fazeli-Nasab & Naghavi, 2020). تفاوت در تعداد آلل شناسایی شده در مطالعات مختلف می‌تواند بهدلیل منشأ و ویژگی‌های متفاوت ژنتیک‌های مورد مطالعه و نیز ماهیت نشانگرهای ریزماهواره از نظر تعداد نوکلئوتید واحدهای تکراری و آلل‌های نادر باشد (Hokanson *et al.*, 1998). تمامی یافته‌ها بر اهمیت این نشانگرهای در ارزیابی تنوع ژنتیکی و ارتقای سطح راهکارهای اصلاح نژادی تأکید دارند.

محتوای اطلاعات چندشکلی با میانگین $0/56$ از $0/14$ در نشانگر Xgwm129 تا $0/92$ در نشانگرهای Xgwm162 و Xgwm174 متغیر بود (جدول ۳). محتوای اطلاعات چندشکلی یا PIC به عنوان تخمینی از قدرت تمایز هر نشانگر با در نظر گرفتن تعداد و فراوانی نسبی آلل‌ها است. اگرچه برخی از ریزماهواره‌ها دارای تعداد آلل‌های مشابه یکسانی هستند، ولی بهواسطه اینکه فراوانی این آلل‌های همسان متفاوت است، شاخص چندشکلی متفاوتی را نشان می‌دهند. هر قدر مقدار شاخص PIC بیشتر باشد، قدرت تمایز نشانگر نیز بیشتر خواهد بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آغازگرهای Xgwm174 و Xgwm162 نسبت به سایر آغازگرهای دارای بیشترین سطح چندشکلی بودند و علاوه بر این، توان بالاتری در آشکارسازی چندشکلی در بین نمونه‌های بررسی شده را داشتند. در مطالعه مالیک و همکاران (Malik *et al.*, 2012) که با استفاده از ۱۶ آغازگر ریزماهواره انجام شد، ۴۹ آلل مشاهده شد و بیشترین تعداد آلل مشاهده شده، شش آلل بود. آن‌ها مقدار PIC نشانگرها را در محدوده $0/386$ تا $0/826$ با میانگین $0/628$ گزارش کردند. در پژوهش نادی و همکاران (Nadi *et al.*, 2017) میانگین تعداد آلل مشاهده شده $2/27$ آلل در هر مکان ژنی، میزان PIC از $0/09$ تا $0/98$ فراوانی آلل راچی از $0/11$ تا $0/95$ با میانگین $0/55$ و مقدار تنوع ژنی از $0/09$ تا $0/99$ با میانگین $0/63$ بود. فلتاؤس (Feltaous, 2019) تنوع ژنتیکی 14 واریته گندم نان مصر را با استفاده از ۲۱ نشانگر SSR بررسی و محتوای اطلاعات چندشکلی را در محدوده $0/14$ (Xgwm190) و $0/11$ (Xgwm389 و Xgwm513) با میانگین $0/65$ گزارش کردند. قاسمی و همکاران (Ghasemi *et al.*, 2019) در مطالعه خود مقدار PIC را متفاوت از پژوهش حاضر گزارش کردند. آن‌ها با بررسی

با فراوانی آلل رایج کمتر، قدرت ظهر چندشکلی بیشتری را خواهد داشت. در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده (جدول ۳) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نشانگرهای Xgwm162 و Xgwm174 با بالاترین میزان PIC بهتر از سایر نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه بودند و می‌توانند به عنوان نشانگرهای مناسب و مفید در بررسی تنوع ژنتیکی در گندم مورد استفاده قرار گیرند.

بالا بزرگ‌ترین شانس برای رسیدن به موفقیت در گزینش محسوب می‌شود (Mishra *et al.*, 2019). مقایسه تنوع ژنی و محتوای اطلاعات چندشکلی نشان داد که ارتباط مستقیمی بین این دو شاخص وجود دارد. با بررسی سه شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی، تنوع ژنی و فراوانی آلل رایج مشخص شد که نشانگرهایی با PIC و تنوع ژنی بالا، فراوانی آلل رایج کمتری داشتند. بنابراین، جایگاه‌هایی

جدول ۳- جایگاه کروموزومی، تعداد آلل، فراوانی آلل رایج و محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های گندم نان

Table 3. Chromosomal location, number of alleles, common allele frequency and polymorphism information content of SSR markers in bread wheat genotypes

No.	Microsatellite marker	Chromosomal location	No. of observed alleles (Na)	Common allele frequency (CA)	Polymorphic information content (PIC)	Gene diversity (Di)
1	Xgwm44	7D	6	0.36	0.68	0.73
2	Xgwm55	1-2B	2	0.93	0.43	0.48
3	Xgwm129	5A	2	0.89	0.14	0.15
4	Xgwm133	6B	6	0.91	0.16	0.16
5	Xgwm140	1B	2	0.37	0.77	0.79
6	Xgwm162	3A	2	0.29	0.92	0.97
7	Xgwm174	5D	2	0.16	0.92	0.96
8	Xgwm190	2D	2	0.27	0.74	0.78
9	Xgwm192	5D	2	0.78	0.57	0.63
10	Xgwm261	2D	3	0.19	0.86	0.84
11	Xgwm264	3B	2	0.91	0.62	0.57
12	Xgwm291	5A	2	0.41	0.69	0.81
13	Xgwm294	2A	4	0.42	0.44	0.71
14	Xgwm302	7B	2	0.91	0.15	0.16
15	Xgwm339	2A	3	0.29	0.66	0.79
16	Xgwm372	2A	4	0.37	0.67	0.72
17	Xgwm382	3B	4	0.38	0.54	0.78
18	Xgwm410	2B	5	0.43	0.63	0.69
19	Xgwm443	5B	7	0.42	0.59	0.65
20	Xgwm445	2A	3	0.42	0.46	0.69
21	Xgwm469	6D	3	0.83	0.25	0.28
22	Xgwm550	1B	3	0.90	0.17	0.18
23	Xgwm610	4A	4	0.33	0.68	0.73
24	Xgwm642	1D	4	0.36	0.75	0.79
Average		-	3.29	0.52	0.56	0.62

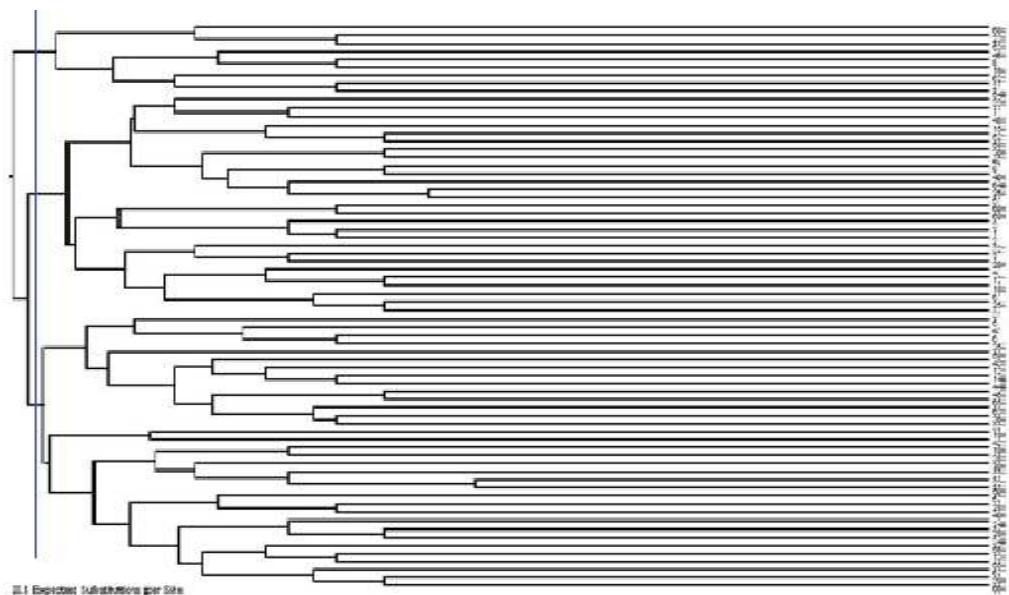
چند متغیره، تجزیه خوش‌های یکی از مهم‌ترین روش‌ها به شمار می‌رود (Mohammadi & Prasanna, 2003). در این روش، اعضای با بیشترین شباهت ژنتیکی به یک خوش‌های منتقل می‌شوند و در مقابل، تفاوت‌های بیشتری بین خوش‌های مشاهده می‌شود. اگر گروه‌بندی به درستی انجام شده باشد، اعضای هر خوش‌های طور ژنتیکی نزدیک‌تر و اعضای خوش‌های مختلف از یکدیگر دورتر خواهند بود (Hair *et al.*, 1995). در این تحقیق، برای توصیف دقیق‌تر روابط بین رسم‌های ارزیابی شده، تجزیه خوش‌های به روش Neighbor-joining انجام شد و تجزیه و تحلیل

تجزیه خوش‌های و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم نان برای برآورده تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی، روش‌های مختلفی وجود دارد. روش‌های آماری چند متغیره به دلیل قابلیت آن‌ها برای در نظر گرفتن همزمان چندین اندازه‌گیری، در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مورفو‌لوزیک، فیزیولوزیک و مولکولی کاربرد گسترده‌ای دارند. مخصوصاً اصلاح نباتات با دسته‌بندی ارقام و واریته‌های مختلف در پی کشف فاصله ژنتیکی بین آن‌ها و بهره‌برداری از تنوع موجود در این ارقام برای برنامه‌های تلاقی هستند. بین روش‌های متعدد تجزیه‌های

Singh *et al.*, 2018). ترکیب خوشه‌ها نشان داد که خوشه چهار با نه ژنوتیپ دارای بیشترین تعداد ژنوتیپ بود و به دنبال آن خوشه‌های دو، شش و شه قرار گرفتند. همچنین، بالاترین میزان تفاوت‌های ژنتیکی (D^2) بین خوشه‌های سه و پنج (۸۳۵۷،۱۹) و سپس چهار و پنج (۷۵۱۳،۸۸) چهار و شش (۶۰۰۹،۴۴) و سه و چهار (۵۵۳۰،۴۰) ثبت شد که بیانگر تنوع ژنتیکی وسیع بین ژنوتیپ‌ها بود. انتخاب ژنوتیپ‌ها از خوشه‌های مختلف می‌تواند به عنوان اهدا کنندگان بالقوه والدین در برنامه‌های دورگ‌گیری به منظور توسعه ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در Singh *et al.*, 2018) در مجموع، خوشبندی بر اساس روابط ژنتیکی و پروفایل‌سازی آلی ابزارهای قدرتمندی در بهنژادی مدرن گیاهان هستند. تصمیم‌گیری آگاهانه در مورد انتخاب والدین، شناسایی ژنوتیپ‌های ارزشمند را تسهیل می‌کند و در نهایت منجر به توسعه ارقام زراعی برتر می‌شود (Batashova *et al.*, 2024).

تشابه ژنتیکی منجر به طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها در سه خوشه متمایز شد. گروه سوم شامل بیشترین تعداد ژنوتیپ بود که برخی از آن‌ها به دلیل شباهت بیشتر در جایگاه ژنی مشترک ریزماهواره‌ها در یک گروه تجمع یافته‌اند. این تجمیع می‌تواند بیانگر تشابه شجره‌ای میان این ژنوتیپ‌ها باشد (جدول ۴ و شکل ۲). این تقسیم‌بندی می‌تواند برای درک روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و انتخاب لاین‌های والدی مناسب برای اهداف بهنژادی مفید باشد. همچنین، دندروگرام تجزیه خوشه‌ای نشان داد که تیپ رشدی نقش چندانی در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در یک خوشه نداشت و به طور تصادفی هر گروه شامل تعدادی از ژنوتیپ‌ها با تیپ رشدی متفاوت بود. در کل می‌توان گفت که ژنوتیپ‌های گندم ایرانی از نظر جایگاه ریزماهواره‌ها تنوع خوبی داشتند (Asadi *et al.*, 2018).

در پژوهشی که به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۳۵ ژنوتیپ گندم نان بر اساس صفات مورفولوژیک و کیفی انجام شد، ژنوتیپ‌ها در شش خوشه طبقه‌بندی شدند



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم نان با نرم‌افزار TASSEL به روش Neighbor-Joining

Figure 2. Dendrogram resulting from cluster analysis of bread wheat genotypes using TASSEL software by Neighbor-Joining method based on SSR markers

جدول ۴- گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نشانگرهای SSR
Table 4. Groups resulting from cluster analysis using SSR markers

Group	Bread wheat genotypes belonging to each cluster
1	54-21-62-16-8-46-53-23-68
2	33-11-48-15-52-58-30-47-9-40-64-26-51-60-69-3-1-2-32-7-20-4-17-18-61-25-31
3	5-41-6-35-59-43-12-14-44-45-65-63-36-37-19-42-10-38-70-27-22-50-57-28-49-24-29-34-56-13-55-67-39-66

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین ژنوتیپ‌های گندم نان مورد بررسی از نظر نشانگرهای SSR وجود داشت. تحلیل تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای SSR می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌های ویژه که ویژگی‌های مطلوبی دارند، کمک کند. در این مطالعه، ۷۹ آلل با میانگین ۳/۲۹ آلل در هر جایگاه نشانگر شناسایی شدند. تعداد آلل‌های مشاهده شده بین دو تا هفت (در نشانگر Xgwm443) متغیر بود. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با میانگین ۰/۵۶ از ۰/۱۴ در Xgwm129 تا ۰/۹۲ در نشانگرهای Xgwm174 و Xgwm162 متغیر بود. مقادیر بالاتر PIC نشان‌دهنده کارایی بیشتر نشانگرها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر می‌باشد و بنابراین این نشانگرها به عنوان مناسب‌ترین گزینه برای شناسایی جمعیت‌ها، تمایز ارقام و تولید واریته‌های با هتروزیس بالا در مطالعات آینده معرفی می‌شوند. استفاده از نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی در برنامه‌های بهنژادی گندم می‌تواند به حفظ و افزایش تنوع ژنتیکی کمک کند و منجر به تولید ارقام جدید با ویژگی‌های زراعی مطلوب‌تر شود. این تحقیقات

تضاد منافع

نویسنده‌گان تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هرگونه روابط تجاری یا مالی می‌تواند به عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

رعایت اخلاق در نشر

نویسنده‌گان اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرفت ادبی، سوء‌رفتار، جعل داده‌ها و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تاکنون به طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده است و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

اجازه انتشار مقاله

نویسنده‌گان 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

- Akbarimehr, S., Sayfzadeh, S., Shahsavari, N., Valadabadi, S. A., & Hadidi Masouleh, E. (2022). Effect of foliar application of cycocel & some micronutrients on activity of antioxidant enzymes of *Triticum aestivum* under drought stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 12(4), 4321-4327. doi: [10.30495/ijpp.2022.1947499.1387](https://doi.org/10.30495/ijpp.2022.1947499.1387).
- Al-Maamari, I. T., Mumtaz Khan, M., Al-Sadi, A. M., Iqbal, Q., & Al-Saady, N. (2020). Morphological characterization and genetic diversity of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) accessions in Oman. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26(2), 375-383. doi: [10.22099/mbr.2019.34952.1440](https://doi.org/10.22099/mbr.2019.34952.1440).
- Asadi, A., Askari Kelestani, A. R., Mirfakhrai, R., Abbasi, A., & Khodadadi, M. (2018). Evaluation of genetic diversity of bread wheat genotypes in terms of some important physiological traits under spring cold stress. *Environmental Stresses in Agricultural Sciences*, 11(1), 171-183. [In Persian]. doi: [10.22077/escs.2017.195.1049](https://doi.org/10.22077/escs.2017.195.1049).
- Bavandpouri, F., Farshadfar, E., & Farshadfar, M. (2022). Investigation of genetic diversity of bread wheat accessions in terms of agronomic traits and SSR molecular markers. *Journal of Crop Breeding*, 14(44), 156-173. doi: [10.52547/jcb.14.44.156](https://doi.org/10.52547/jcb.14.44.156).
- Batashova, M., Kryvoruchko, L., Makaova-Melamud, B., Tyshchenko, V., & Spanoghe, M. (2024). Application of SSR markers for assessment of genetic similarity and genotype identification in local winter wheat breeding program. *Studia Biologica*, 18(1), 83-98. doi: [10.30970/sbi.1801.762](https://doi.org/10.30970/sbi.1801.762).
- Brown, W. L. (1983). Genetic diversity and genetic vulnerability—an appraisal. *Economic Botany*, 37(1), 4-12. doi: [10.1007/BF02859301](https://doi.org/10.1007/BF02859301).
- Darvishzadeh, R., & Azizi, H. (2015). Molecular Markers and Their Application in Genetic Diversity Analysis. Publications of Urmia University, Urmia, Iran. [In Persian].

- Farhangian-Kashani, S., Azadi, A., Khaghani, S., Changizi, M., & Gomarian, M. (2021). Association analysis and evaluation of genetic diversity in wheat genotypes using SSR markers. *Biologia Futura*, 72(4), 441-452. doi: [10.1007/s42977-021-00088-y](https://doi.org/10.1007/s42977-021-00088-y).
- Fazeli-Nasab, B., & Naghavi, M. R. (2020). Identification of rust resistance among wheat cultivars using SSRs markers. *Agricultural Knowledge (Shahed University)*, 3(5), 79-88. [In Persian].
- Feltaous, Y. M. (2019). Genetic diversity among some Egyptian bread wheat cultivars based on morphological characters and SSR markers. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 50(4), 33-50. doi: [10.21608/ajas.2020.70069](https://doi.org/10.21608/ajas.2020.70069).
- Ghasemi, N., Mirfakhrai, R. G., & 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. doi: [10.29252/jcb.11.29.9](https://doi.org/10.29252/jcb.11.29.9).
- Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. L., & William, C. (1995). Multivariate Data Analysis: With Readings. 4th Edition. Prentice Hall, Inc.
- Hassani, I., Nimbal, S., Singh, V., & Noori, A. (2022). Genetic variability analysis and correlation studies of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Ekin Journal of Crop Breeding & Genetics*, 8(2), 139-145. doi: [10.5555/20220414326](https://doi.org/10.5555/20220414326).
- Hokanson, S. C., Szewc-McFadden, A. K., Lamboy, W. F., & McFerson, J. R. (1998). Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity & relationships in a *Malus × domestica* Borkh. core subset collection. *Theoretical & Applied Genetics*, 97, 671-683. doi: [10.1007/s001220050943](https://doi.org/10.1007/s001220050943).
- Idrees, M., & Irshad, M. (2014). Molecular markers in plants for analysis of genetic diversity: A review. *European Academic Research*, 2(1), 1513-1540.
- Jabari, M., Golparvar, A., Sorkhilalehloo, B., & Shams, M. (2023). Investigation of genetic diversity of Iranian wild relatives of bread wheat using ISSR and SSR markers. *Journal of Genetic Engineering & Biotechnology*, 21(1), 73. doi: [10.1186/s43141-023-00526-5](https://doi.org/10.1186/s43141-023-00526-5).
- Kafi, H., Navabpour, S., Zaynali Nezhad, K., & Pahlavani, M. H. (2018). Evaluation of genetic diversity in Iranian and exotic wheat genotypes using SSR markers. *Journal of Modern Genetics*, 13(2), 307-311. doi: [10.1001.1.20084439.1397.13.2.14.3](https://doi.org/10.1001.1.20084439.1397.13.2.14.3).
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309-334. doi: [10.1007/s10681-010-0286-9](https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9).
- Liu, K., & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9), 2128-2129. doi: [10.1093/bioinformatics/bti282](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282).
- Maccaferri, M., Sanguineti, M. C., Donini, P., & Tuberosa, R. (2003). Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. *Theoretical & Applied Genetics*, 107, 783-797. doi: [10.1007/s00122-003-1319-8](https://doi.org/10.1007/s00122-003-1319-8).
- Malik, R., Sareen, S., Kundu, S., & Shoran, J. (2012). The use of SSR and ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic diversity among Indian bread wheat cultivars. *Progressive Agriculture*, 12(1), 82-89.
- Mamnoie, E., Karamnejad, M. R., Minbash Moeini, M., & Askary Kelestani, A. R. (2023). Evaluation of ready-mix herbicide efficiency of clodinafop propargil + metribuzin in comparison with registered herbicides in weed control of wheat (*Triticum aestivum*) in Fars. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 37(1), 59-75. [In Persian]. doi: [10.22067/jpp.2022.73993.1068](https://doi.org/10.22067/jpp.2022.73993.1068).
- Miransari, M., & Smith, D. (2019). Sustainable wheat (*Triticum aestivum* L.) production in saline fields: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(8), 999-1014. doi: [10.1080/07388551.2019.1654973](https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1654973).
- Mishra, A. P., Kumar, M. D., Shamim, K. K., Tiwari, P., Fatima, D., & Srivastava, R., Singh, R., & Yadav, P. (2019). Genetic diversity and population structure analysis of Asian and African aromatic rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Journal of Genetics*, 98(3), 92. doi: [10.1007/s12041-019-1131-0](https://doi.org/10.1007/s12041-019-1131-0).
- Mohammadi, S. A., & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4), 1235-1248. doi: [10.2135/cropsci2003.1235](https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1235).
- Nadi, S., Mirfakhrai, R. Z., & Khodadadi, M. (2017). Genetic diversity of bread wheat cultivars using SSR marker and relationship analysis for two traits proline and fructan under spring chilling stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 49(2), 86-96. [In Persian]. doi: [10.22059/ijfcsc.2017.231050.654304](https://doi.org/10.22059/ijfcsc.2017.231050.654304).

- Nevo, E., Beiles, A., & Ben-Shlomo, R. (1984). The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic & life history correlates. In: Mani, G. S. (Ed.). *Evolutionary Dynamics of Genetic Diversity: Lecture Notes in Biomathematics*, Vol. 53. Springer, Berlin, Heidelberg. doi: [10.1007/978-3-642-51588-0_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-51588-0_2).
- Pour-Aboughadareh, A., Ahmadi, J., Mehrabi, A. A., Moghaddam, M., & Etminan, A. (2017). Evaluation of agro-morphological diversity in wild relatives of wheat collected in Iran. *Journal of Agricultural Science & Technology*, 19(4), 943-956.
- Ramesh, P., Mallikarjuna, G., Sameena, S., Kumar, A., Gurulakshmi, K., Reddy, B. V., & Sekhar, A. C. (2020). Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies. *Journal of Biosciences*, 45(1), 123. doi: [10.1007/s12038-020-00089-4](https://doi.org/10.1007/s12038-020-00089-4).
- Röder, M. S., Korzun, V., Wendehake, K., Plaschke, J., Tixier, M. H., Leroy, P., & Ganapathy, M. W. (1998). A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149(4), 2007-2023. doi: [10.1093/genetics/149.4.2007](https://doi.org/10.1093/genetics/149.4.2007).
- Salgotra, R. K., & Chauhan, B. S. (2023). Genetic diversity, conservation, & utilization of plant genetic resources. *Genes*, 14(1), 174. doi: [10.3390/genes14010174](https://doi.org/10.3390/genes14010174).
- Seethapathy, P., Sankaralingam, S., Paita, D., Paita, A., Loganathan, K., Wani, S. H., & Elansary, H. O. (2022). Genetic diversity analysis based on the virulence, physiology and regional variability in different isolates of powdery mildew in pea. *Journal of Fungi*, 8(8), 798. doi: [10.3390/jof8080798](https://doi.org/10.3390/jof8080798).
- Seyedmoradi, H., Talebi, R., & Fayaz, F. (2016). Geographical diversity pattern in Iranian landrace durum wheat (*Triticum turgidum*) accessions using start codon targeted polymorphism and conserved DNA-derived polymorphism markers. *Environmental & Experimental Biology*, 14, 63-68. doi: [10.22364/eeb.14.09](https://doi.org/10.22364/eeb.14.09).
- Shahraki, M., Emamjomeh, A., Fakheri, B., & Fazeli-Nasab, B. (2018). Identification of genetic diversity between common Sistan wheat cultivars based on resistance genes to rust diseases by microsatellite marker. *Crop Biotechnology*, 8(1), 57-58. doi: [10.30473/cb.2018.5128](https://doi.org/10.30473/cb.2018.5128).
- Sharma, R., Rana, V., Verma, S., Gupta, C., Priyanka, Rana, A., Dwivedi, A., Sharma, A., & Sood, V. K. (2022). Genetic variability studies in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under multi-environment trials in Northern Hills Zone. *Biological Forum-An International Journal*, 14(2), 307-313.
- Singh, G., Kumar, P., Kumar, R., & Gangwar, L. K. (2018). Genetic diversity analysis for various morphological and quality traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Applied & Natural Science*, 10(1), 24-29. doi: [10.31018/jans.v10i1.1572](https://doi.org/10.31018/jans.v10i1.1572).
- Soltani, S. (2023). Effects of sodium nitroprussid and calcium silicate on the physiological and biochemical parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) under cadmium stress. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 13(1), 4401-4408. doi: [10.30495/ijpp.2023.701432](https://doi.org/10.30495/ijpp.2023.701432).
- Wei, Z., Du, Q., Zhang, J., Li, B., & Zhang, D. (2013). Genetic diversity and population structure in Chinese indigenous poplar (*Populus simonii*) populations using microsatellite markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31, 620-632. doi: [10.1007/s11105-012-0527-2](https://doi.org/10.1007/s11105-012-0527-2).
- Yang, X., Tan, B., Liu, H., Zhu, W., Xu, L., Wang, Y., Fan, X., Sha, L., Zhang, H., Zeng, J., Wu, D., Jiang, Y., Hu, X., Chen, G., Zhou, Y., & Kang, H. (2020). Genetic diversity & population structure of Asian & European common wheat accessions based on genotyping-by-sequencing. *Frontiers in Genetics*, 11, 580782. doi: [10.3389/fgene.2020.580782](https://doi.org/10.3389/fgene.2020.580782).
- Zallaghi, H., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., & Sadeghzadeh, B. (2020). Transferability of wheat SSR markers for determination of genetic diversity and relationships of barley varieties. *Journal of Plant Physiology & Breeding*, 10(2), 89-98. doi: [10.22034/jppb.2020.13277](https://doi.org/10.22034/jppb.2020.13277).