

Comparison of Genetic Diversity Between Two Oat Species (*Avena sativa* and *Avena fatua*) Using Phenotypic Traits, Molecular Markers, and Chromosomal Parameters

Parastoo Zarei¹, Hedieh Badakhshan^{2,*} and Ghader Mirzaghaderi³

- 1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran
- 2- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran
- 3- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran

*Corresponding author ✉: h.badakhshan@uok.ac.ir

Citation: Zarei, P., Badakhshan, H. and Mirzaghaderi, G. (2024). Comparison of genetic diversity between two oat species (*Avena sativa* and *Avena fatua*) using phenotyping, molecular markers, and chromosomal parameters. *Plant Genetic Researches*, 11(1): 15-36. <http://dx.doi.org/10.22034/PGR.11.1.2>

(Received: June 30, 2024; Final Revised: September 5, 2024; Accepted: September 15, 2024; Published online: September 21, 2024)

Extended abstract

Introduction

Genetic diversity is crucial for the sustainability and improvement of plant species. Oats (*Avena spp.*) are globally cultivated for human and animal nutrition, ranking sixth among cereals. Despite their importance, extensive breeding practices have substantially narrowed the genetic base of cultivated oats, prompting efforts to reintroduce diversity, specifically through the incorporation of genes from wild relatives. This diversity is crucial for addressing challenges such as biotic and abiotic stresses, improving yield, and enhancing nutritional quality. This study compares the genetic diversity of *Avena sativa* (common oat) and *Avena fatua* (wild oat), considering their unique domestication histories and ecological adaptations. Common oat, extensively cultivated for grain production, exhibits a narrow genetic base, while wild oat retains broad genetic diversity owing to its undomesticated nature. Cross-breeding efforts involving hexaploid oat species are viable and important for integrating beneficial wild genes into crops. This study seeks to evaluate the genetic diversity of these oat species using SCoT (Start Codon Targeted) and IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) molecular markers alongside chromosomal and phenotypic assessments. The insights gained aim to inform breeding strategies and conservation efforts.

Materials and methods

The study assessed genetic diversity in 18 oat genotypes (common and wild) grown in a randomized complete block design. Phenotypic traits, including plant height, flag leaf length and width, tiller numbers, floret numbers, and 100-seed weight, were measured. DNA was extracted from young leaves for molecular assessment using SCoT and IRAP primers. Chromosomal evaluations were conducted on twelve genotypes, examining various karyotypic parameters. Data analysis employed Bayesian methods (MCMC), principal coordinate analysis (PCoA), and analysis of molecular variance (AMOVA) to identify subpopulations and genetic structure. Genetic diversity indices, polymorphism percentage, and marker index were calculated. Phenotypic data were analyzed using ANOVA, correlation analysis, and heatmap clustering. The association between molecular markers and phenotypic traits was assessed using Mantel's test, while principal component analysis (PCA) evaluated the impact



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

of chromosomal parameters on genotype classification. t-tests were conducted to identify significant differences between cultivated and wild species concerning phenotypic and chromosomal variables.

Results and discussion

SCoT primers generated 283 bands (198 polymorphic) with a Nei genetic distance of 0.039, while IRAP primers yielded 117 bands (101 polymorphic) with a Nei distance of 0.093. IRAP markers demonstrated higher efficiency (MI of 1.78) than SCoT (MI of 0.99) in detecting diversity. Molecular marker analysis revealed higher genetic diversity in wild oat species compared to common species. These outcomes corroborate previous research pointing to lower genetic diversity in common oats compared to wild genotypes. Identifying such diversity, particularly from wild genotypes, is pivotal for breeding programs that target resilience and adaptability improvements. Moreover, historical genetic diversity erosion in agriculture highlights an urgent need to expand genetic pools in breeding endeavors. Population structure analysis using both markers identified subpopulations within oat genotypes (three for SCoT, four for IRAP) but did not distinctly separate wild and cultivated species. AMOVA indicated that most genetic variation existed within populations rather than between them, although IRAP data detected significant diversity between species. This reinforces the genetic affinity between *A. sativa* and *A. fatua*, likely due to shared genomes and extensive gene flow, a finding consistent with prior molecular studies and phylogenetic analysis. Phenotypic evaluation revealed significant variations in traits such as plant height, flag leaf length and width, tiller numbers, floret numbers, and 100-seed weight. Heatmap cluster analysis grouped genotypes into three categories based on these traits. Molecular marker groupings didn't significantly align with phenotypic classifications according to Mantel's test. Wild genotypes exhibited higher seed weights, suggesting the presence of yield-enhancing genes valuable for crop improvement. Positive correlations were found among most traits, except for seed weight, which negatively correlated with plant height. Chromosomal analysis of twelve hexaploid oat genotypes showed variations in chromosomal parameters such as total chromosome length (TL), centromeric index (CI), and dispersion index (DI). All genotypes were classified as metacentric with no significant differences between cultivated and wild species. Karyotypic symmetry assessment placed most genotypes in the almost symmetrical karyotype category. Cultivated oats generally had more symmetrical karyotypes than wild oats, though the difference was not statistically significant. Principal Component Analysis (PCA) of chromosomal parameters explained 94.72 percent of the cumulative variance, with PC1 emphasizing centromere position and PC2 highlighting chromosomal asymmetry. PCA of chromosomal indices identified three distinct groups of genotypes but did not clearly separate cultivated and wild species.

Conclusion

This comprehensive study of common (*A. sativa*) and wild (*A. fatua*) oat species using molecular markers, phenotypic evaluation, and chromosomal analysis has provided valuable insights into their genetic diversity, population structure, and potential for crop improvement. The research consistently demonstrated higher genetic diversity in wild oat populations compared to their cultivated counterparts, highlighting the importance of wild germplasm as a reservoir of beneficial traits. While the study revealed close genetic relationships between cultivated and wild species, it also identified subtle differences that could contribute to observed phenotypic variations. These findings underscore the potential of wild oats in breeding programs aimed at improving crop productivity and resilience. The study emphasizes the need for conservation of wild oat populations and their strategic utilization in oat improvement programs to address the challenges of genetic bottlenecks in cultivated varieties and to enhance overall crop performance in the face of changing environmental conditions.

Keywords: Population Structure, Principal component analysis, Molecular variance analysis, Heatmap, IRAP, SCoT



مقایسه تنوع ژنتیکی در دو گونه‌ی یولاف (*Avena sativa* و *Avena fatua*) با استفاده از خصوصیات

فنوتیپی، نشانگرهای مولکولی و پارامترهای کروموزومی

پرستو زارعی^۱، هدیه بدخشان^{۲*} و قادر میرزاقدری^۳

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

۲- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

۳- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۰؛ تاریخ آخرین ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۳/۰۶/۳۱)

چکیده

ارزیابی و مقایسه تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی، برای اهداف به‌نژادی ضروری است. در این مطالعه، تنوع دو گونه‌ی یولاف زراعی (*Avena sativa*) و وحشی (*Avena fatua*) با استفاده از نشانگرهای مولکولی، صفات فنوتیپی و پارامترهای کروموزومی مقایسه شد. با استفاده از نشانگرهای SCoT و IRAP به ترتیب ۲۸۳ و ۱۱۷ نوار تشکیل شد. نشانگرهای SCoT چندشکلی بیشتری را در گونه‌ی وحشی (۶۵/۳۷ درصد) در مقایسه با گونه‌ی زراعی (۶۰/۰۷ درصد) نشان دادند. نشانگرهای IRAP نیز به ترتیب با ۷۶/۰۷ و ۶۹/۲۳ درصد چندشکلی، روند مشابهی داشتند. بر اساس شاخص‌های تنوع ژنتیکی He، Ne و PIC نیز تنوع ژنتیکی نسبتاً بیشتری در گونه‌ی وحشی نسبت به گونه‌ی زراعی برای هر دو سیستم نشانگری برآورد شد؛ اما فاصله ژنتیکی نسبتاً کمتری بین دو گونه وجود داشت. تجزیه‌ی ساختار جمعیت، با استفاده از روش‌های بیزین، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، زیرجمعیت‌های متمایز و تنوع ژنتیکی قابل توجهی را در درون گونه‌ها نشان داد و نتایج هر سه روش همسو بودند. بین ژنوتیپ‌های یولاف از نظر صفات فنوتیپی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. ارتفاع بوته و وزن صددانه به ترتیب در ژنوتیپ‌های زراعی و در ژنوتیپ‌های وحشی بیشتر بودند. بر اساس، نقشه حرارتی مبتنی بر صفات فنوتیپی اندازه‌گیری شده، ژنوتیپ‌ها در سه دسته گروه‌بندی شدند. همه‌ی ژنوتیپ‌های یولاف هم‌گراپلوئید بودند؛ اما از نظر پارامترهای کروموزومی نظیر طول کل کروموزوم‌ها، شاخص سانترومری و شاخص پراکندگی تفاوت‌هایی داشتند. با این وجود، تفاوت معنی‌داری بین گونه‌های زراعی و وحشی از نظر پارامترهای کروموزومی وجود نداشت. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر اساس پارامترهای کروموزومی، ۹۴/۷۲ درصد از واریانس تجمعی را تبیین کرد. در این تجزیه، مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب بیانگر موقعیت سانترومر و عدم تقارن بین کروموزومی بودند. نتایج این مطالعه، می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی یولاف و راهبردهای حفاظت گونه‌ها سودمند باشد.

واژگان کلیدی: تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه واریانس مولکولی، ساختار جمعیت، نقشه حرارتی، SCoT، IRAP

مقدمه

یولاف یا جو دوسر، متعلق به جنس *Avena* و خانواده Poaceae، غله‌ای با منشأ مدیترانه‌ای و آسیای صغیر است (Montilla-Bascón *et al.*, 2013). این گیاه، در سراسر جهان کشت و جهت تغذیه‌ی انسان و دام به مصرف می‌رسد. این گیاه در بین غلات رتبه ششم را به خود اختصاص داده است (Achleitner *et al.*, 2008; Amosova *et al.*, 2024; Ihsan *et al.*, 2022). از دلایل افزایش تولید و تقاضای این محصول در سال‌های اخیر می‌توان به ویژگی‌های مطلوب تغذیه‌ای آن، از جمله بالا بودن کیفیت و کمیت پروتئین دانه‌های یولاف (بین ۱۲ تا ۲۴ درصد)، غنی بودن دانه‌ها از انواع آنتی‌اکسیدان‌ها و هم‌چنین، فیبر قابل‌هضم نظیر بتاگلوکان اشاره نمود (Achleitner *et al.*, 2008; Arora *et al.*, 2014). کشت یولاف در زمین‌های حاشیه‌ای عملکرد بهتری نسبت به سایر غلات دانه‌ریز دارد، هم‌چنین این گیاه نسبت به خاک‌های فقیر، سرما و خشکی متحمل بوده پس بنابراین، در بین غلات از این دیدگاه هم مورد توجه قرار گرفته است (Da-Silva *et al.*, 2011; Sanchez-Martin *et al.*, 2012; Chňapek *et al.*, 2022). تکامل ژنوم در قبیله Aveneae در نتیجه‌ی تغییر در تعداد کروموزوم‌های پایه ($x=7$) و انواع پلی‌پلوئیدی بروز پیدا کرده است (Tomaszewska *et al.*, 2022). ژنوم گونه‌های یولاف در گروه‌های A، B، C و D دسته‌بندی و درعین‌حال، به زیرگروه‌هایی نیز تقسیم می‌شوند (Androsiuk *et al.*, 2023). جنس *Avena* از ۳۰ گونه‌ی دیپلوئید (ژنوم A یا C)، تتراپلوئید (ژنوم‌های AC یا AB) و هگزاپلوئید (نظیر *A. fatua* و *A. sativa*) با ژنوم ACD تشکیل شده است (Tomás *et al.*, 2016; Peng *et al.*, 2018; Tomaszewska *et al.*, 2022). با شروع برنامه‌های به‌نژادی گیاهی گسترده به‌ویژه از قرن بیستم به بعد در جهان، تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌ها، در اکثر گیاهان زراعی و از جمله یولاف و حتی در جمعیت‌های طبیعی، به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته است. این امر، عمدتاً به‌دلیل جایگزین شدن ارقام بومی با ارقام

اصلاح‌شده و افزایش شدت گزینش بوده است؛ بنابراین، در راستای حفاظت از گونه‌ها، باید تنوع ژنتیکی لازم به جمعیت‌ها بازگردانده شود (Montilla-Bascón *et al.*, 2013; Cieplak *et al.*, 2021). یکی از اهداف مهم به‌نژادگران گیاهی، شناخت تنوع موجود در گونه‌های خویشاوند وحشی و انتقال آن به گیاهان زراعی به‌عنوان راهکاری برای احیای تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی است؛ که ممکن است در نتیجه‌ی تنش‌های زیستی و غیرزیستی و برنامه‌های به‌نژادی دستخوش فرسایش شده باشد (Da-Silva *et al.*, 2011). از آنجایی که گونه‌های وحشی دارای تنوع ژنتیکی بسیار زیادی هستند و منابع بالقوه‌ی ایجاد تنوع ژنتیکی نو در به‌نژادی گیاهان محسوب می‌شوند؛ بنابراین، بررسی خصوصیات ژرم‌پلاسم‌های وحشی برای تسهیل استفاده و انتقال ژن‌های ویژه‌ی آن‌ها به ارقام زراعی در برنامه‌های به‌نژادی و اینتروگرسیون دارای اهمیت است (Jellen *et al.*, 1993; Montilla-Bascón *et al.*, 2013). تلاقی بین گونه‌های هگزاپلوئید یولاف نظیر *A. fatua*، *A. sativa* و *A. sterilis* امکان‌پذیر است و در تقسیم میوز هیبریدهای حاصل از تلاقی بین این گونه‌ها، جفت شدن کروموزوم‌ها به‌طور کامل انجام می‌گیرد (Ladizinsky, 1968; Peng *et al.*, 2018). گونه‌های وحشی هگزاپلوئید مانند *A. fatua* و *A. sterilis* می‌توانند به‌عنوان منابع ژن‌های ایجاد کننده مقاومت نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، ژن‌های افزایش دهنده‌ی عملکرد، محتوای روغن و پروتئین دانه مورد استفاده قرار گیرند (Ladizinsky, 1968; Jellen *et al.*, 1993; Nikoloudakis *et al.*, 2016).

تاکنون، نشانگرهایی مولکولی متعددی نظیر چندشکلی کدون شروع ترجمه (Start codon targeted: SCoT)، چندشکلی تک نوکلئوتیدی (Single nucleotide polymorphisms: SNP)، نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون‌ها و ریزماهورها در یولاف، برای بررسی تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و تنوع ژنتیکی قابل‌توجهی را در درون و بین گونه‌های یولاف شناسایی

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، به منظور مقایسه و ارزیابی تنوع ژنتیکی در درون و بین گونه‌های یولاف زراعی (*A. sativa*) و یولاف وحشی (*A. fatua*)، بر اساس نشانگرهای مولکولی، پارامترهای کروموزومی و صفات فنوتیپی، مجموعه‌ای از ۱۸ ژنوتیپ یولاف مورد استفاده قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها، شامل هفت ژنوتیپ از گونه‌ی زراعی و یازده ژنوتیپ از گونه‌ی وحشی بودند که از بانک ژن مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج و مؤسسه‌ی پاکان بذر اصفهان دریافت شدند (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات و منشأ ژنوتیپ‌های یولاف مورد مطالعه

Table 1. Characteristics and origin of the studied oat genotypes

Gene bank code	Genotype code	Species	Origin
-	F1	<i>Avena fatua</i>	Razavi Khorasan Province (Sarakhs)
-	F2	<i>Avena fatua</i>	Chaharmahal and Bakhtiari Province (Saman)
-	F3	<i>Avena fatua</i>	Khuzestan Province (Khorramshahr)
-	Fsan1	<i>Avena fatua</i>	Kurdistan (Sanandaj)
-	Fsan2	<i>Avena fatua</i>	Kurdistan (Sanandaj)
-	Fsan3	<i>Avena fatua</i>	Kurdistan (Sanandaj)
-	Fsan4	<i>Avena fatua</i>	Kurdistan (Sanandaj)
KC 115060	F5060	<i>Avena fatua</i>	Gene Bank Karaj
KC 115055	F5055	<i>Avena fatua</i>	Gene Bank Karaj
TN_7_465 KC 27611	F7611	<i>Avena fatua</i>	Gene Bank Karaj
TN_7_441 KC 27589	F7589	<i>Avena fatua</i>	Gene Bank Karaj
-	S1	<i>Avena sativa</i>	Khuzestan Province (Khorramshahr)
-	S2	<i>Avena sativa</i>	Khuzestan Province (Khorramshahr)
-	S3	<i>Avena sativa</i>	Khuzestan Province (Khorramshahr)
IA 91098_2	S1098	<i>Avena sativa</i>	Gene Bank Karaj
KC 115014	S5014	<i>Avena sativa</i>	Gene Bank Karaj
KC 115020	S5020	<i>Avena sativa</i>	Gene Bank Karaj
53_1	S53	<i>Avena sativa</i>	Gene Bank Karaj

کرده‌اند (Tanhuanpää *et al.*, 2006; Nikoloudakis *et al.*, 2016; Androsiuk *et al.*, 2023). نشانگرهای SCoT بر اساس چندشکلی در نواحی محافظت شده کوتاه اطراف کدون ترجمه در گیاهان (ATG)، طراحی شده‌اند (Collard and Mackill, 2009). این نشانگرها، توانایی بالایی برای آشکارسازی چندشکلی دارند و در مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی بسیار سودمند هستند و از طرف دیگر، به دلیل طراحی آغازگرها بر اساس کدون‌های ترجمه در گیاهان، به‌عنوان یک نشانگر نیمه‌اختصاصی تلقی می‌شوند (Collard and Mackill, 2009). مزایای نشانگرهای SCoT موجب شده است که در مطالعات زیادی برای بررسی تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار بگیرند (Cieplak *et al.*, 2021; Nasrollahi *et al.*, 2019; Rahmani *et al.*, 2015). نشانگرهایی مانند چندشکلی تکثیر شده بین رتروترانسپوزون‌ها (IRAP) و چندشکلی تکثیر شده بین رتروترانسپوزون-ریزماهورها (Retrotransposon microsatellite amplified) (polymorphism: REMAP)، مبتنی بر تکرارهای انتهایی طولی رتروترانسپوزون‌ها (Long terminal repeat: LTR) هستند. رتروترانسپوزون‌ها، در تکامل ژنوم و گونه‌زایی دارای اهمیت هستند (Kalendar *et al.*, 2011). به دلیل فراوانی بالای رتروترانسپوزون‌ها در ژنوم گیاهی، این نشانگرها در مطالعه بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته‌اند و در شناسایی تنوع ژنتیکی کارآمد و سودمند بوده‌اند (Kalendar *et al.*, 2011; Alikhani *et al.*, 2014; Rahmani *et al.*, 2015; Nasrollahi *et al.*, 2019). با توجه به مطالب ذکر شده، هدف این مطالعه، مقایسه و بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین دو گونه یولاف زراعی (*A. sativa*) و وحشی (*A. fatua*) به کمک نشانگرهای مولکولی SCoT و IRAP، شاخص‌های کروموزومی و کاریوتیپی و ارزیابی برخی صفات فنوتیپی در دو گونه است. نتایج این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی یولاف و حفاظت از گونه‌ها و اکولوژی آن مورد استفاده قرار گیرد.

هر ژنوتیپ در یک کرت، متشکل از سه ردیف با فاصله ۲۰ سانتی‌متری، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه‌ی تحقیقاتی دانشگاه کردستان، کشت شد. در هر یک از ژنوتیپ‌های مورد بررسی، صفات فنوتیپی ارتفاع بوته (PH)، طول (FL) و عرض برگ پرچم (FW)، تعداد پنجه (TN)، تعداد گلچه (FN) و وزن صدانه (W100) نیز اندازه‌گیری شدند.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): برگ‌های جوان و سالم از گیاهچه‌های جوان (مرحله ۳ تا ۴ برگی) جمع‌آوری و تا قبل از استخراج DNA، برگ‌های هر ژنوتیپ ادغام و در فریزر با دمای °C ۴۰- نگه‌داری شدند. DNA از برگ‌ها با استفاده از روش CTAB (Porebski *et al.*, 1997)، استخراج و کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به‌ترتیب با استفاده از ژل آگارز ۰/۸ درصد و نانودراپ ۱۰۰۰ (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بر اساس نواحی هدف متفاوت در ژنوم یولاف، ۲۹ آغازگر SCoT (Collard

IRAP ۱۲ آغازگر (and Mackill 2009; Luo *et al.*, 2010) و ۱۲ آغازگر IRAP (Kalendar *et al.*, 1999) به‌صورت انفرادی و ترکیبی در واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲). واکنش PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل ۴/۷ میکرولیتر ddH₂O، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰ ng μL⁻¹)، ۲/۱ میکرولیتر مسترمیکس PCR (حاوی ۰/۲ واحد در میکرولیتر بافر PCR، ۳ میلی‌مولار MgCl₂ و ۰/۴ میلی‌مولار dNTPs) و ۱/۲ میکرولیتر (یک میلی‌مولار) از هر آغازگر SCoT یا IRAP انجام شد. مرحله واسرشته‌سازی اولیه به‌مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و متعاقباً ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک دقیقه، دمای اتصال ۶۳-۴۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک دقیقه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو دقیقه و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه برای واکنش PCR در نظر گرفته شد. محصولات تکثیر شده SCoT و IRAP روی ژل آگارز ۱/۳ درصد جداسازی شدند. کدهای صفر و یک برای امتیازدهی نوارهای SCoT و IRAP مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مولکولی مورد مطالعه

Table 2. Examined genetic markers and their distinctive characteristics

نشانه‌گر	توالی آغازگر	GC%	دمای اتصال	نشانه‌گر	دمای اتصال
Marker (SCoT)	Primer sequence 5' → 3'		Annealing temperature °C	Marker (SCoT)	Annealing temperature °C
SCoT1	CAACAATGGCTACCA	56	50	SCoT2/7	52.5
SCoT2	CAACAATGGCTACCA	53	56	SCoT2/70	53
SCoT7	CAACAATGGCTACCA	53	56	SCoT10/20	50
SCoT10	CAACAATGGCTACCA	50	56	SCoT12/31	59.5
SCoT12	ACGACATGGCGACCA	59	61	SCoT12/33	53
SCoT17	ACCATGGCTACCA	53	61	SCoT12/35	54
SCoT20	ACCATGGCTACCA	50	67	SCoT17/70	53
SCoT22	AACCATGGCTACCA	53	56	SCoT22/34	53
SCoT25	ACCATGGCTACCA	51	67	SCoT33/29	58
SCoT27	ACCATGGCTACCA	60	61	SCoT33/31	58
56SCoT29/57	CCATGGCTACCA	59	72	SCoT29/31	58
SCoT30	CCATGGCTACCA	54	72	SCoT33/35	60
SCoT31	CCATGGCTACCA	59	67	-	-
SCoT33	CCATGGCTACCA	60	67	-	-
SCoT34	ACCATGGCTACCA	53	61	-	-
SCoT35	CATGGCTACCA	60	73	-	-
SCoT36	GCAACAATGGCTACCA	49	56	-	-
SCoT70	ACCATGGCTACCA	53	67	-	-
Marker (IRAP)	Primer sequence 5' → 3'	GC%	Annealing temperature °C	Marker (IRAP)	Annealing temperature °C
Gaga	GGGAACCAACCGTCACA	59	49	Gaga/LTR6150	52
5' LTR1	ACAACCTTTATACGGGATCTCCGTT	44	45	Gaga/3LTR	53
LTR6150	ATGTACACACCTATGTATCTGTACCCCGCTTGGTC	49	59	Gaga/Sukkula	52.6
3LTR	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	54	60	LTR6150/3LTR	56
Nikita	CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC	45	52	LTR6150/Sukkula	56
Sukkula	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	60	56	3LTR/Sukkula	57.5

دسته‌بندی استیبینز (Stebbins, 1971) و شاخص‌های رومرو-زارکو (Romero Zarco, 1986) شامل عدم تقارن درون کروموزومی (A1) و عدم تقارن بین کروموزومی (A2) نیز بررسی شدند (Azizi et al., 2024). شاخص پراکندگی کروموزومی (DI) بر اساس معادلات زیر محاسبه شد (Paknia and Karimzadeh, 2011):

$$CG = \frac{S\bar{x}}{TL\bar{x}} \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad (\text{رابطه ۲})$$

در این معادلات CG معادل چگالی سانترومری، $S\bar{x}$ طول میانه‌ی بازوی کوتاه، $TL\bar{x}$ طول کل میانه‌ی کروموزوم، CV ضریب تغییرات طول کروموزوم، SD انحراف استاندارد و DI بر اساس نسبت CG به CV محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها: از روش بیزین (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) و نرم‌افزار STRUCTURE (نسخه ۲/۳/۴) (Pritchard et al., 2000)، برای تعیین تعداد زیرجمعیت‌های ممکن در ژنوتیپ‌های یولاف با استفاده از داده‌های ژنتیکی SCoT, IRAP و مجموع داده‌های IRAP و SCoT استفاده شد. طول دوره burn-in و تعداد MCMC بعد از burn-in، به ترتیب برابر با ۱۰۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ و تعداد تکرار سه در نظر گرفته شد (Eltaher et al., 2018). بهترین تعداد زیرجمعیت‌ها (K)، بر اساس روش وانو و همکاران (Evanno et al., 2005) با استفاده از ابزار برخط STRUCTURE Harvester تعیین شد (Earl and vonHoldt, 2005; Evanno et al., 2012). روش تجزیه به مختصات اصلی (Principal coordinates analysis: PCoA) بر اساس فاصله‌ی ژنتیکی Nei و تجزیه واریانس مولکولی (Analysis of molecular variance: AMOVA) با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx نسخه ۶/۵۰۱ نیز برای تعیین ساختار جمعیت مورد استفاده قرار گرفت (Peakall and Smouse, 2012). شاخص‌های تنوع ژنتیکی مورد انتظار (He)، درصد چندشکلی (P)، تعداد آل‌های مؤثر (Ne)، تعداد نوارهای خصوصی و فاصله‌ی ژنتیکی Nei با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx برآورد شدند. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، با استفاده از معادله‌ی $PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$

بررسی‌های کروموزومی: برای ارزیابی‌های کروموزومی، دوازده ژنوتیپ از ۱۸ ژنوتیپ یولاف مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۸). برای متوقف کردن سلول‌های سوماتیک در متافاز، قطعاتی به طول ۱-۱/۵ سانتی‌متر از ریشه‌های دارای رشد فعال با اسکالپل جدا و به میکروتیوب‌های حاوی آب مقطر منتقل شدند. میکروتیوب‌ها در ظروف آب یخ به مدت ۳۰-۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پیش‌تیمار و سپس، نمونه‌های ریشه در محلول تثبیت کننده‌ی کارنوی (Carnoy) (نسبت ۳ اسید استیک گلاسیال: ۱ اتانول، v/v)، به مدت حداقل ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال تثبیت شدند. عمل هیدرولیز در اسید کلریدریک یک مولار به مدت ۵-۴ دقیقه و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آبی انجام شده و سپس به مدت یک ساعت در محلول فولگن (Feulgen) در دمای اتاق قرار گرفتند. حداقل پنج صفحه‌ی متافازی گسترده در هر ژنوتیپ بررسی شد و سپس از بهترین صفحه‌ی متافازی با استفاده از دوربین دیجیتال (CH40)، متصل به میکروسکوپ نوری (Olympus Optical Co., Tokyo, Japon) عکس‌برداری انجام و کاربوتیپ‌ها با استفاده از نرم‌افزار Ideokar (نسخه ۱/۱) (Mirzaghaderi and Marzangi, 2015) تهیه شد. برای تجزیه و تحلیل کاربوتیپی، برخی پارامترهای کروموزومی مانند پارامترهای شکل کروموزوم (Levan et al., 1964) شامل نسبت بازو (Arm ratio (AR): L/S): بر اساس نسبت طول بازوی بلند کروموزوم (L) به بازوی کوتاه (S)؛ نسبت طول بازوی کوتاه کروموزوم به بازوی بلند (r-Value: S/L)؛ کل طول کروموزوم‌ها (TL)؛ درصد شکل کروموزوم (F%) $TF\% = \sum S / \sum TL \times 100$ ؛ درصد شکل کلی $(S/TL \times 100)$ و شاخص سانترومری (CI%) $(CI\% = S/TL)$ مورد استفاده قرار گرفتند. پارامترهای کاربوتیپی از جمله ضریب تغییرات طول کروموزوم (CVcl)، ضریب تغییرات شاخص سانترومری (CVci) و شاخص پراکندگی کروموزومی (DI)، درصد اختلاف دامنه‌ی طول نسبی کروموزوم (DRL%)، شاخص تقارن $(S\% = TL_{min}/TL_{max} \times 100)$ ،

تعداد نوارها به ازای هر آغازگر به‌طور متوسط برابر با $6/83$ و بین 3 ($SCoT_{17}$ ، $SCoT_2$) تا 12 ($SCoT_{29-31}$) تا 12 ($SCoT_{12}$) -35 متغیر بودند. بیشترین، کمترین و متوسط مقدار شاخص نشانگر (MI) به‌ترتیب برابر با $2/12$ ($SCoT_{12-35}$)، $0/14$ ($SCoT_{29-31}$) و $0/99$ بود. تنوع ژنتیکی دو گونه زراعی و وحشی با شاخص‌های Ne، He و PIC مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۳). میانگین Ne، He و PIC به‌ترتیب در گونه‌ی زراعی، برابر با $1/42$ ، $0/23$ و $0/18$ و در گونه‌ی وحشی، برابر با $1/41$ ، $0/24$ و $0/19$ بود. درصد چندشکلی در *A. fatua* ($65/37$) به نسبت *A. sativa* ($60/07$) و هم‌چنین، تعداد نوارهای خصوصی در *A. fatua* (13) بیشتر از *A. sativa* (8) برآورد شدند. بر اساس آغازگرهای SCoT، فاصله‌ی ژنتیکی Nei بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی برابر با $0/39$ به‌دست آمد (جدول ۳).

آغازگرهای IRAP: در مجموع ۱۱۷ نوار و از بین آن‌ها، ۱۰۱ نوار چندشکل با استفاده از ۱۲ آغازگر IRAP تولید شدند. تعداد نوارها به ازای هر آغازگر به‌طور متوسط برابر با $9/75$ و بین 4 (LTR_{6150-3}) تا 14 (LTR_{3}) متغیر بودند. میانگین مقدار MI برابر با $1/78$ و در دامنه‌ی $0/65$ (LTR_{5}) و $3/60$ (LTR_{3}) برآورد شد. میانگین Ne، He و PIC به‌ترتیب در گونه‌ی زراعی، برابر با $1/44$ ، $0/25$ و $0/2$ و در گونه‌ی وحشی، برابر با $1/48$ ، $0/28$ و $0/22$ بود. درصد چندشکلی در *A. fatua* ($77/07$) به نسبت *A. sativa* ($69/23$) بیشتر بود؛ اما تعداد نوارهای اختصاصی در *A. sativa* (8) بیشتر از *A. fatua* (6) برآورد شد. بر اساس آغازگرهای IRAP، فاصله‌ی ژنتیکی Nei بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی $0/93$ به‌دست آمد (جدول ۴). با مقایسه دو نشانگر SCoT و IRAP بر اساس شاخص‌های تنوع ژنتیکی، هر دو نشانگر در بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌های یولاف زراعی و وحشی، تکرارپذیر و کارآمد بودند. بر اساس داده‌های SCoT و محاسبه‌ی شاخص‌های ژنتیکی و فاصله‌ی ژنتیکی Nei، دو گونه‌ی زراعی و وحشی، تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای از نظر تنوع ژنتیکی نداشتند؛ اما میزان تنوع ژنتیکی در گونه‌ی وحشی بیشتر از گونه‌ی زراعی برآورد شد.

در نرم‌افزار Excel محاسبه شد. در این معادله، $\sum_{i=1}^n p_i^2$ فراوانی نوارها است (Botstein et al., 1980). شاخص نشانگر (MI) برای ارزیابی سودمندی نشانگرهای مولکولی بر اساس فرمول $EMR \times PIC$ محاسبه شد. نسبت چندگانه مؤثر (EMR) نیز با حاصل ضرب نسبت آل‌های چندشکل (β) و تعداد کل آل‌ها به‌دست آمد (Powell et al., 1996).

برای تجزیه‌ی داده‌های فنوتیپی، ابتدا، مفروضات تجزیه‌ی واریانس، ارزیابی و پس از حصول اطمینان از برقرار بودن مفروضات، تجزیه‌ی واریانس بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) انجام شد. در مورد برخی صفات، مانند طول و عرض برگ‌پرچم و وزن صدانه مفروضات صادق نبودند؛ بنابراین، با استفاده از روش Box-Cox تبدیل داده صورت گرفت و مقایسه‌ی میانگین، با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)، انجام شد. همبستگی پیرسون بین صفات فنوتیپی با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) محاسبه شد. ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس صفات فنوتیپی، بعد از استاندارد کردن داده‌ها، با استفاده از روش کلاستر هیت‌مپ (Heatmaply package) بر اساس الگوریتم UPGMA، فاصله‌ی اقلیدسی و نرم‌افزار RStudio (نسخه‌ی $4/2/0$) گروه‌بندی شدند. برای تعیین بهترین روش گروه‌بندی از function dend_expnd و برای تعیین بهترین تعداد از function find_k استفاده شد. میزان ارتباط نشانگرهای مولکولی با هم و با صفات فنوتیپی با آزمون مانتل (Mantel, 1967) و به کمک نرم‌افزار XLSTAT (نسخه ۱۶) مورد بررسی قرار گرفت. برای ارزیابی سهم هر یک از پارامترهای کروموزومی در دسته‌بندی ژنوتیپ‌های یولاف، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal component analysis: PCA) با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT (نسخه ۱۶) انجام شد. آزمون t برای تعیین وجود تفاوت معنی‌دار بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی از نظر داده‌های فنوتیپی و پارامترهای کروموزومی مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

آغازگرهای SCoT: در مجموع با استفاده از ۲۹ آغازگر SCoT، ۲۸۳ نوار ایجاد شد که ۱۹۸ نوار چندشکل بودند.

جدول ۳- خصوصیات آغازگرهای SCoT شامل اندازه‌ی باند (Band size)، درصد چندشکلی (PP%)، شاخص نشانگر (MI)، اندازه‌ی مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در ژنوتیپ‌های دو گونه‌ی زراعی (*Avena sativa*) و وحشی (*Avena fatua*) یولاف

Table 3. Characteristics of SCoT primers, including band size, polymorphism percentage (PP%), marker index (MI), effective size (Ne), expected heterozygosity (He), and polymorphism information content (PIC), in the genotypes of two oat species, *Avena sativa* and *Avena fatua*

آغازگرها Primers	اندازه‌ی نواری Bands size (bp)	PP%	MI	<i>Avena sativa</i>			<i>Avena fatua</i>		
				Ne	He	PIC	Ne	He	PIC
SCoT1	1000-3000	0.83	0.89	1.61	0.33	0.26	1.56	0.31	0.24
SCoT2	300-1500	0.33	0.24	1.32	0.16	0.12	1.24	0.14	0.11
SCoT7	300-2400	0.60	0.64	1.27	0.17	0.14	1.24	0.17	0.14
SCoT10	350-2200	0.83	1.73	1.58	0.32	0.25	1.47	0.27	0.22
SCoT12	300-2100	0.71	0.61	1.36	0.21	0.17	1.32	0.21	0.17
SCoT17	400-1300	0.38	0.22	1.20	0.11	0.08	1.17	0.10	0.08
SCoT20	250-1700	0.91	1.97	1.64	0.36	0.28	1.48	0.27	0.22
SCoT22	400-1700	0.75	0.93	1.46	0.25	0.19	1.52	0.29	0.23
SCoT25	600-2800	0.75	0.82	1.41	0.25	0.20	1.37	0.23	0.18
SCoT29	400-3000	0.85	1.80	1.47	0.26	0.20	1.50	0.29	0.24
SCoT30	250-2500	0.55	0.58	1.28	0.16	0.13	1.26	0.16	0.13
SCoT31	500-3000	0.88	0.91	1.45	0.26	0.21	1.37	0.21	0.17
SCoT33	400-1700	0.71	0.92	1.67	0.35	0.26	1.64	0.34	0.26
SCoT34	500-2700	0.80	1.21	1.48	0.28	0.22	1.44	0.25	0.20
SCoT35	250-1500	0.78	1.21	1.38	0.21	0.17	1.50	0.27	0.21
SCoT36	600-2000	0.75	0.81	1.37	0.23	0.19	1.39	0.23	0.19
SCoT70	500-2700	0.50	0.37	1.31	0.19	0.15	1.21	0.14	0.12
SCoT2/7	150-800	0.50	0.62	1.40	0.22	0.17	1.42	0.22	0.17
SCoT2/70	200-2000	0.88	0.85	1.64	0.34	0.26	1.68	0.38	0.29
SCoT10/20	200-2000	0.64	0.85	1.45	0.24	0.19	1.29	0.19	0.15
SCoT12/31	100-1500	0.55	0.83	1.37	0.22	0.17	1.50	0.26	0.20
SCoT12/33	200-1500	0.89	1.38	1.45	0.26	0.20	1.52	0.27	0.21
SCoT12/35	100-3000	0.92	2.12	1.35	0.20	0.16	1.60	0.34	0.27
SCoT17/70	200-2700	0.79	1.85	1.51	0.28	0.22	1.49	0.29	0.23
SCoT22/34	350-2000	0.85	1.35	1.39	0.23	0.19	1.35	0.20	0.16
SCoT23/29	200-1700	0.75	1.54	1.43	0.23	0.17	1.58	0.31	0.24
SCoT23/31	200-2000	0.58	0.86	1.41	0.23	0.18	1.32	0.19	0.16
SCoT29/31	400-1500	0.38	0.14	1.14	0.10	0.08	1.13	0.07	0.06
SCoT33/35	100-1200	0.44	0.37	1.23	0.13	0.11	1.31	0.17	0.13
Mean		0.69	0.99	1.41	0.23	0.18	1.41	0.23	0.19

جدول ۴- خصوصیات آغازگرهای IRAP شامل اندازه‌ی باند (Band size)، درصد چندشکلی (PP%)، شاخص نشانگر (MI)، اندازه‌ی مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در ژنوتیپ‌های دو گونه‌ی زراعی (*Avena sativa*) و وحشی (*Avena fatua*) یولاف

Table 4. Characteristics of IRAP primers, including band size, polymorphism percentage (PP%), marker index (MI), effective size (Ne), expected heterozygosity (He), and polymorphism information content (PIC), in the genotypes of two oat species, *Avena sativa* and *Avena fatua*

آغازگرها Primes	اندازه‌ی نواری Band sizes	PP%	MI	<i>Avena sativa</i>			<i>Avena fatua</i> olumn8		
				Ne	He	PIC	Ne	He	PIC
Gaga	500-3000	100.00	2.53	1.47	0.29	0.23	1.42	0.27	0.22
5'LTR	400-1500	71.43	0.65	1.33	0.21	0.18	1.25	0.16	0.13
LTR6150	400-2700	90.00	1.78	1.45	0.27	0.22	1.45	0.27	0.22
3'LTR	150-1900	100.00	3.60	1.59	0.33	0.26	1.66	0.37	0.29
Nikita	300-3000	84.62	2.21	1.54	0.30	0.23	1.42	0.24	0.19
Sukkula	100-2000	75.00	1.53	1.40	0.23	0.18	1.33	0.19	0.15
Gaga-LTR6150	200-1500	75.00	1.15	1.46	0.24	0.18	1.44	0.25	0.19
Gaga-3'LTR	500-1400	83.33	0.87	1.42	0.23	0.18	1.33	0.19	0.15
Gaga-Sukkula	100-1500	87.50	1.71	1.18	0.10	0.08	1.64	0.36	0.28
LTR6150-3'LTR	250-1000	100.00	1.11	1.44	0.28	0.23	1.68	0.40	0.32
LTR6150-Sukkula	100-1700	90.00	2.19	1.51	0.29	0.23	1.62	0.35	0.27
3'LTR-Sukkula	250-2000	76.92	2.01	1.33	0.19	0.15	1.54	0.31	0.25
Mean		86.15	1.78	1.43	0.25	0.20	1.48	0.28	0.22

با استفاده از تکنیک SDS-PAGE میزان چندشکلی را در یولاف وحشی بیشتر برآورد کردند. میزان درصد چندشکلی نشانگرهای IRAP (۷۶/۰۷ درصد) در ژنوتیپ‌های زراعی در این مطالعه، نسبت به سایر نشانگرهای به کار رفته در مطالعات پیشین، بیشتر برآورد شد و میزان درصد چندشکلی نشانگرهای SCoT (۶۰/۳۷ درصد) نیز نسبت به سایر نشانگرها بیشتر و تقریباً با درصد چندشکلی نشانگرهای SCoT (۶۵/۶۷ درصد) گزارش شده در مطالعه شینیپاک و همکاران (Chňapek *et al.*, 2022) یکسان بود. در مطالعه‌ی پاکروس-گردا و بدنارک (Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014) با استفاده از نشانگرهای ISSR گونه‌های *A. sativa* و *A. fatua* میزان چندشکلی به ترتیب برابر با ۱/۷، ۴۴/۲۲ و ۷۰/۹ درصد برآورد شد؛ اما با وجود بیشتر بودن تنوع ژنتیکی *A. fatua* نسبت به *A. sativa* تفاوت زیادی از این لحاظ در بین این دو گونه وجود نداشت؛ بنابراین، می‌توان گفت که درصد چندشکلی شناسایی شده در جمعیت‌ها بسته به نوع گونه، درجه‌ی تفرق ژنتیکی و نوع آغازگرهای مورد استفاده متغیر است. در مطالعه‌ی داسیلوا و همکاران (Da-Silva *et al.*, 2011)، با استفاده از نشانگرهای SSR، تنوع ژنتیکی بیشتری بین ژنوتیپ‌های گونه *A. strigosa* در مقایسه با *A. sativa* آشکار شد؛ اما مقادیر PIC برآورد شده در این مطالعه، با مقادیر PIC برآورد شده در سایر مطالعات در گونه *A. sativa* و بر مبنای نشانگرهای ISSR (۰/۲ و ۰/۲۴) و AFLP (۰/۲۱)، RAPD (۰/۲۵) و همچنین در مورد گونه‌ی *A. fatua* مقادیر قابل مقایسه و تقریباً یکسانی بودند (Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014; Jan *et al.*, 2020; Cieplak *et al.*, 2021; Chňapek *et al.*, 2022). بر اساس متآنالیز مشخص شده است که در گونه‌های زراعی از جمله یولاف زراعی، تنوع ژنتیکی کاهش قابل توجهی داشته است (van de Wouw *et al.*, 2010). از دلایل کاهش تنوع ژنتیکی، انجام گزینش مداوم در پروژه‌های به‌نژادی و استفاده از ارقام گیاهی با اجداد یکسان است (Boczkowska *et al.*, 2014; Aziznia *et al.*, 2020). بنابراین، جستجوی منابعی با تنوع ژنتیکی بیشتر دارای

آغازگرهای IRAP نسبت به آغازگرهای SCoT تنوع ژنتیکی بیشتری را در بین و درون دو گونه شناسایی کردند. بر این اساس، میزان تنوع ژنتیکی در گونه‌ی وحشی نسبت به گونه‌ی زراعی بیشتر و فاصله ژنتیکی Nei نیز در بین دو گونه، به نسبت آغازگرهای SCoT بیشتر برآورد شد؛ اما در گونه‌ی زراعی نسبت به گونه‌ی وحشی تعداد نوارهای خصوصی (بی‌همتا) بیشتر بودند. نوارهای خصوصی موجود در هر دو گونه، شایان توجه و مطالعه‌ی بیشتری هستند؛ زیرا که می‌توانند برای تمایز دو گونه‌ی زراعی و وحشی مورد استفاده قرار گیرند (Li *et al.*, 2007). بزرگ‌تر بودن شاخص نشانگر (MI)، برای نشانگر IRAP (۱/۷۸) نسبت به نشانگر SCoT (۰/۹۹)، نشان‌دهنده‌ی کارآمدتر بودن نشانگرهای IRAP در مقایسه با SCoT در برآورد تنوع ژنتیکی است. ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از چند روش مولکولی، کارآمدتر و دقیق‌تر بوده و از میزان بروز اشتباه می‌کاهد؛ زیرا هر یک از نشانگرهای مولکولی، قسمت‌های متفاوتی از ژنوم را شناسایی کرده و دارای توزیع متفاوتی در سطح ژنوم هستند (Boczkowska *et al.*, 2014).

تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های یولاف زراعی (*A. sativa*) و یا وحشی (*A. fatua*) در مطالعات قبلی نیز با استفاده از نشانگرهای متعددی از جمله SCoT (Cieplak *et al.*, 2021; Chňapek *et al.*, 2022) و SSR (Li *et al.*, 2007; He and Bjørnstad, 2012; Arora *et al.*, 2021) و AFLP (Boczkowska and Tarczyk, 2013; Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014) و AFLP (Achleitner *et al.*, 2008; He and Bjørnstad, 2012; Cieplak *et al.*, 2021) و REMAP (Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014) و بیوشیمیایی (Ihsan *et al.*, 2021) مورد بررسی قرار گرفته است. در مجموع این مطالعات، میزان تنوع ژنتیکی کمتری در جمعیت‌های یولاف زراعی نسبت به جمعیت‌های وحشی گزارش شده است. احسان و همکاران (Ihsan *et al.*, 2021)، با بررسی و مقایسه تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های یولاف زراعی و یولاف *A. fatua* به کمک نشانگرهای بیوشیمیایی پروتئینی

زراعی عمدتاً در گروه سوم قرار گرفتند (شکل ۱). بر اساس PCoA و فاصله ژنتیکی Nei، ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های دسته‌بندی شده در هر یک از گروه‌ها با نتایج بیزین، ۸۳/۳۳ درصد مطابقت داشتند (شکل ۲). بر اساس نتایج AMOVA، تنوع موجود در درون و بین زیرجمعیت‌ها به ترتیب برابر با ۹۲/۳۹ و ۷/۶۱ درصد برآورد شد و در سطح معنی‌داری پنج درصد، بین گونه‌ها نیز تنوع معنی‌دار وجود داشت (جدول ۵).

بررسی ساختار جمعیت بر اساس مجموع داده‌های IRAP و SCoT: بر اساس روش بیزین (MCMC) و محاسبه ΔK با استفاده از مجموع داده‌های IRAP و SCoT، ژنوتیپ‌های یولاف به سه زیرجمعیت تقسیم شدند ($K=3$). همه‌ی ژنوتیپ‌های وحشی استان کردستان، همراه با دو ژنوتیپ زراعی S53 و S91098 در یک گروه مشابه (گروه دوم) قرار گرفتند و غالب ژنوتیپ‌های بانک ژن در گروه سوم دسته‌بندی شدند. دو گونه‌ی یولاف وحشی و زراعی بر اساس داده‌های مجزا و یا ترکیبی SCoT و IRAP به دو دسته‌ی کاملاً مجزا تفکیک نشدند (شکل ۱). بر اساس PCoA نیز، ژنوتیپ‌های یولاف در سه گروه جای گرفتند؛ که با نتایج روش بیزین ۱۰۰ درصد مطابقت داشتند (شکل ۲). بر اساس نتایج AMOVA، ۵/۳۳ درصد تنوع ژنتیکی در بین گونه‌های یولاف و ۹۴/۶۷ درصد در درون گونه‌ها وجود داشت (جدول ۵)؛ اما تنوع بین گونه‌های یولاف هم معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

با بررسی ساختار جمعیت بر اساس داده‌های هر دو آغازگر به‌طور مجزا یا ترکیب آن‌ها، ژنوتیپ‌های یولاف در گروه‌های متفاوتی قرار گرفتند؛ اما به‌طور کامل دو گونه‌ی زراعی و وحشی از هم جدا نشدند. با این حال، برخی از ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس داده‌های مولکولی مجزا و یا ترکیب آن‌ها، همواره در یک گروه دسته‌بندی شدند. ژنوتیپ S53 با ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از استان کردستان (Fsan1,2,3,4) در یک گروه یکسان، ژنوتیپ‌های S2، F2 و S91098 در گروه یکسان، ژنوتیپ‌های F2 و S115020 در گروه یکسان و ژنوتیپ‌های F115055، F5060، F27589 و F27611 نیز در گروه یکسان قرار گرفتند.

اهمیت بسیاری در پروژه‌های به‌نژادی است. ارقام قدیمی، ارقام بومی و گونه‌های وحشی با دارا بودن تنوع ژنتیکی بیشتر، در برنامه‌های به‌نژادی دارای اهمیت هستند؛ زیرا می‌توانند واجد ژن‌های سودمندی باشند که بتوانند اهداف به‌نژادی متعددی مانند ایجاد انطباق با شرایط محیطی مختلف، افزایش تحمل و یا مقاومت نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و امکان بهبود عملکرد را برآورده کنند (Boczkowska and Tarczyk, 2013; Cieplak et al., 2021; Hosseini et al., 2022; Koroluk et al., 2022).

بررسی ساختار جمعیت: برای بررسی ساختار جمعیت بر اساس داده‌های IRAP و SCoT، از روش‌های بیزین (MCMC)، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) استفاده شد.

بررسی ساختار جمعیت بر اساس آغازگرهای SCoT: بر مبنای داده‌های SCoT و محاسبه ΔK ، ژنوتیپ‌های یولاف به سه زیرجمعیت ($K=3$) تقسیم شدند (شکل ۱). اکثر ژنوتیپ‌های وحشی در گروه اول قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های دریافت شده از بانک ژن، عمدتاً در گروه اول و ژنوتیپ‌های گونه‌ی وحشی از استان کردستان با دو ژنوتیپ زراعی S53 و S5014 با هم در گروه سوم دسته‌بندی شدند. با انجام تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) بر اساس فاصله ژنتیکی Nei نیز، ژنوتیپ‌ها در سه گروه قرار گرفتند. گروه‌های تشکیل شده بر اساس PCoA با نتایج روش بیزین، ۸۸/۸۹ درصد مطابقت داشتند (شکل ۲). مجدداً بر اساس این روش نیز، ژنوتیپ‌های گونه‌ی وحشی استان کردستان و دو ژنوتیپ زراعی S53 و S115014 با هم گروه‌بندی شدند. بر اساس نتایج AMOVA، ۹۵/۲۹ درصد تنوع موجود در درون گونه‌ها و فقط ۴/۷۱ درصد تنوع در بین گونه‌ها وجود داشت و تفاوت بین گونه‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۵).

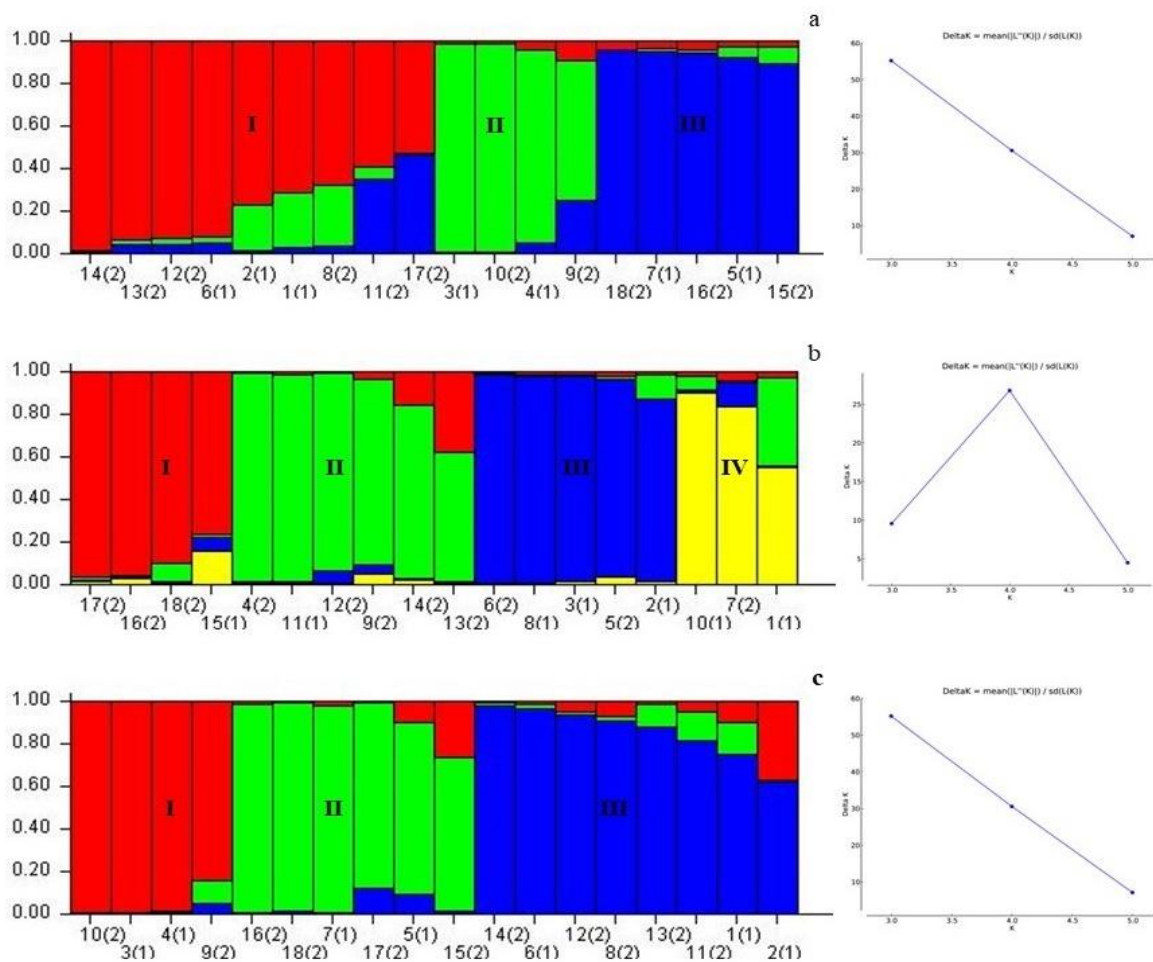
بررسی ساختار جمعیت بر اساس آغازگرهای IRAP: ژنوتیپ‌های یولاف، بر اساس داده‌های IRAP و محاسبه ΔK به چهار زیرجمعیت ($K=4$) تقسیم‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های وحشی شامل ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از استان کردستان به‌همراه ژنوتیپ زراعی S53 در زیرجمعیت یک گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های گونه‌ی وحشی دریافت شده از بانک ژن غالباً در زیرجمعیت دو و ژنوتیپ‌های

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی بر اساس داده‌های SCoT، IRAP و مجموع داده‌های IRAP و SCoT
 Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) based on SCoT and IRAP data, as well as their combined dataset

نشانهگر Marker	منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات MS	واریانس Variance	PhiPT
SCoT	درون گونه‌ای Between species	1	45.44	4.71%	0.047 ^{ns}
	بین گونه‌ای Within species	16	35.26	95%	
IRAP	درون گونه‌ای Between species	1	30.38	7.61%	0.076*
	بین گونه‌ای Within species	16	17.82	92.39%	
CoT & IRAP	درون گونه‌ای Between species	1	70.35	5.33%	0.053*
	بین گونه‌ای Within species	16	52.97	94.67%	

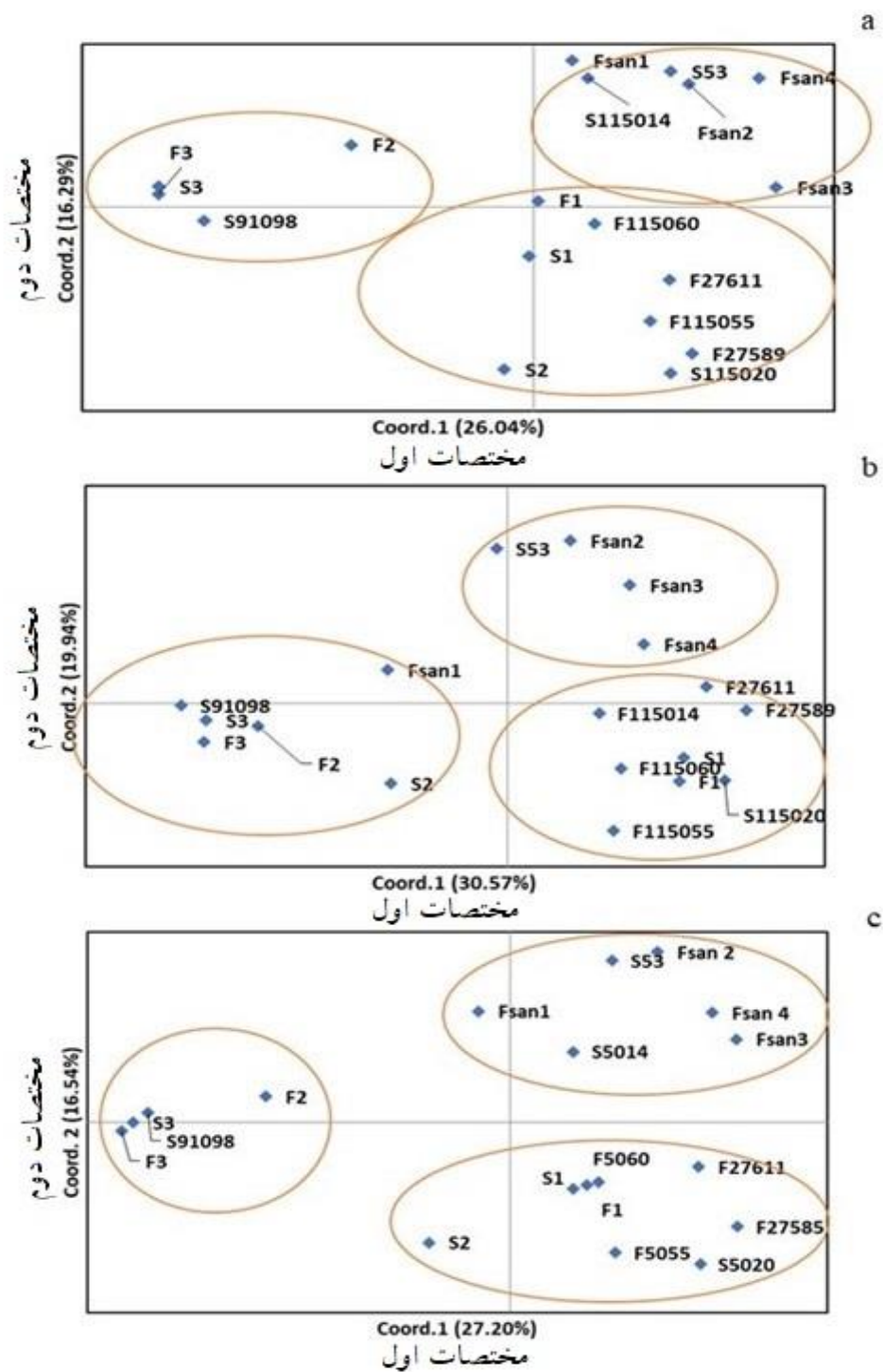
^{ns} و * : به ترتیب نشان‌دهنده‌ی غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۰/۰۵.

^{ns} and * : Indicate non-significant and significant at the 0.05 level, respectively.



شکل ۱- دسته‌بندی ۱۸ ژنوتیپ یولاف در سه، چهار و سه زیرجمعیت به ترتیب بر اساس داده‌های SCoT (a)، IRAP (b) و ترکیب SCoT و IRAP (c) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE. بر اساس داده‌های SCoT (a)، IRAP (b) و ترکیب SCoT و IRAP (c) مقادیر ΔK برای تعیین تعداد زیرجمعیت‌ها محاسبه شدند.

Figure 1. Classification of 18 oat genotypes into three, four, and three subpopulations based on SCoT (a), IRAP (b), and SCoT and IRAP combination (c) data using STRUCTURE software, respectively. Based on SCoT, IRAP and their combination data, the ΔK values were estimated to specified the number of groups in the wheat genotypes.



شکل ۲- دسته‌بندی ۱۸ ژنوتیپ یولاف بر اساس فاصله‌ی نی و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) با استفاده از داده‌های

(a) SCoT، (b) IRAP و ترکیب SCoT و IRAP (c)

Figure 2. Clustering of 18 oat genotypes using Nei's genetic distance and Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on SCoT (a), IRAP (b), and combined SCoT-IRAP (c) marker data.

اساس داده‌های IRAP و مجموع داده‌های IRAP و SCoT، تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها (زراعی و وحشی) نیز معنی‌دار بود. این نتیجه در مطالعات پیشین هم در مورد جمعیت‌های

تجزیه‌ی واریانس مولکولی (AMOVA)، بر مبنای داده‌های هر دو آغازگر نشان داد که قسمت عمده‌ی تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها (زراعی و وحشی) وجود داشت؛ اما بر

به گونه‌های وحشی خویشاوند، دچار تنگنای ژنتیکی (Genetic Bottleneck) شده و در اثر فرآیندهای به‌نژادی، در آن، رانش ناشی از گزینش (Selective Sweep) نیز به‌ویژه در مورد صفات مرتبط با عملکرد رخ داده است که منجر به کاهش تنوع ژنتیکی در این گونه شده است (Yan et al., 2020; Nan et al., 2023).

بررسی خصوصیات فنوتیپی: خصوصیات فنوتیپی ارتفاع بوته، طول و عرض برگ‌پرچم، تعداد پنجه، تعداد گلچه و وزن صددانه در هر یک از ژنوتیپ‌های مورد بررسی اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، ژنوتیپ‌های یولاف از نظر خصوصیات فنوتیپی ارتفاع بوته، طول و عرض برگ‌پرچم، تعداد پنجه، تعداد گلچه ($p < 0.001$) و وزن صددانه ($p < 0.05$) با هم دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۶). مقایسه میانگین صفات فنوتیپی در جدول ۷ آورده شده است. بر این اساس، صفات ارتفاع بوته، عرض برگ‌پرچم و تعداد گلچه در ژنوتیپ زراعی S1 بیشترین مقدار را داشتند. ژنوتیپ وحشی F3 کمترین ارتفاع و ژنوتیپ وحشی F2 دارای کمترین مقدار صفات طول برگ‌پرچم، تعداد پنجه و تعداد گلچه بودند. بیشترین مقادیر طول برگ‌پرچم در ژنوتیپ‌های F115055 و F27611 و بیشترین تعداد پنجه در ژنوتیپ S2 اندازه‌گیری شدند. وزن صددانه، در ژنوتیپ‌های وحشی Fsan1 و F27611 بیشترین مقدار و در ژنوتیپ‌های زراعی S1، S2، S3 و ژنوتیپ وحشی F115055 کمترین مقدار را داشتند (جدول ۷). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات ارتفاع بوته، طول و عرض برگ‌پرچم، تعداد پنجه و تعداد گلچه برآورد شد ($p < 0.001$)؛ اما وزن صددانه فقط با صفت ارتفاع بوته همبستگی منفی و معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$).

تجزیه کلاستر هیت‌مپ بر اساس متوسط فاصله‌ی اقلیدسی و الگوریتم متوسط همسایه انجام شد. بر اساس متوسط عرض Silhouette، ژنوتیپ‌ها در سه گروه دسته‌بندی شدند. در گروه اول (از بالا به پایین شکل ۳)، دو ژنوتیپ از دو گونه‌ی متفاوت زراعی (S1) و وحشی (F27611) قرار گرفتند.

زراعی و یا وحشی یولاف بر اساس نشانگرهای مولکولی متفاوت مانند SSR، JSSR، REMAP گزارش شده است (Li et al., 2007; Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014). در مطالعه‌ی، با انجام AMOVA بر مبنای داده‌های ISSR و REMAP، تنوع معنی‌داری بین گونه‌های *A. sativa*، *A. fatua* و *A. strerilis* گزارش شد. نتایج این مطالعه نشان داد که *A. sativa* و *A. fatua* نسبت به *A. strerilis* از نظر ژنتیکی به هم نزدیک‌ترند و ژنوم A در آن‌ها یکسان است (Paczos-Grzeda and Bednarek, 2014). یکی از عواملی که می‌توان برای توجیه تنوع ژنتیکی بیشتر درون گونه‌ها ذکر کرد؛ وجود جریان ژنی بالا در بین گونه‌ها است. جریان ژنی از طریق اختلاط بذر، از مکانیسم‌های ممکن برای مهاجرت بین گونه‌ها است (Li et al., 2007; Mirza et al., 2007). بر اساس مطالعات مختلف مشخص شده است که دو گونه تفاوت زیادی با هم ندارند و آمیزش بین این دو گونه به‌راحتی انجام می‌شود (Ladizinsky, 1968; Koroluk et al., 2022). در مطالعه‌ی فو (Fu, 2018)، با انجام آنالیز فیلوژنی مبتنی بر ژنوم‌های کلروپلاست و میتوکندری در ۲۵ گونه‌ی جنس *Avena*، دو گونه‌ی هگزاپلوئید *A. sativa* و *A. fatua* بر اساس هر دو ژنوم میتوکندری و کلروپلاست، با دارا بودن ژنوم هسته‌ای ACD در یک گروه (Clade) یکسان قرار گرفتند که نشان دهنده‌ی قرابت ژنتیکی آن‌ها است. در به‌نژادی مدرن، باید به‌طور هم‌زمان هم عملکرد بالا و هم سایر صفات مطلوب زراعی، مانند مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی را در نظر گرفت. اجداد و خویشاوندان وحشی یولاف، منبع غنی از ژن‌های سودمند محسوب می‌شوند. همه‌ی گونه‌های جنس *Avena* در سه خزانه‌ی ژنی دسته‌بندی می‌شوند. انتقال موفقیت‌آمیز ژن‌ها از خزانه‌ی ژنی ثانویه و ثالثیه به *A. sativa*، هگزاپلوئید، بسیار زمان‌بر و نیازمند به روش‌های ویژه‌ای است؛ بنابراین، هگزاپلوئیدهای وحشی مانند *A. fatua* که متعلق به خزانه ژنی اولیه هستند؛ منبع قابل‌دسترسی برای افزایش تنوع ژنتیکی محسوب می‌شوند؛ زیرا به‌سادگی با گونه‌ی زراعی آمیزش و نتاج بارور تولید می‌کنند (Badaeva et al., 2011; Koroluk et al., 2022). در طول زمان، یولاف زراعی نسبت

جدول ۶- تجزیه واریانس بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای صفات ارتفاع بوته (PH)، طول برگ پرچم (FL)، عرض برگ پرچم (FW)، تعداد گلچه (FN)، تعداد پنجه (TN) و وزن صددانه (W100).

Table 6. Analysis of variance using a randomized complete block design for traits including plant height (PH), flag leaf length (FL), flag leaf width (FW), floret number (FN), tiller number (TN), and 100- seed weight (W100).

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of Squares					
		PH	FL	FW	FN	TN	W100
بلوک Block	2	125.63 ^{ns}	7.26 ^{ns}	0.15 ^{ns}	987.17*	128.46**	0.46 ^{ns}
ژنوتیپ Genotype	17	1110.54***	65.07***	0.52***	1091.06***	97.17***	0.65*
خطا Error	34	166.51	9.99	0.057	229.03	20.95	0.28
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		14.86	18.04	19.19	24.19	22.25	14.48

ns, *, **, and ***: به ترتیب نشان‌دهنده‌ی غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱.

ns, *, **, and ***: Indicate non-significant and significant at the 0.05, 0.01 and 0.001 levels, respectively.

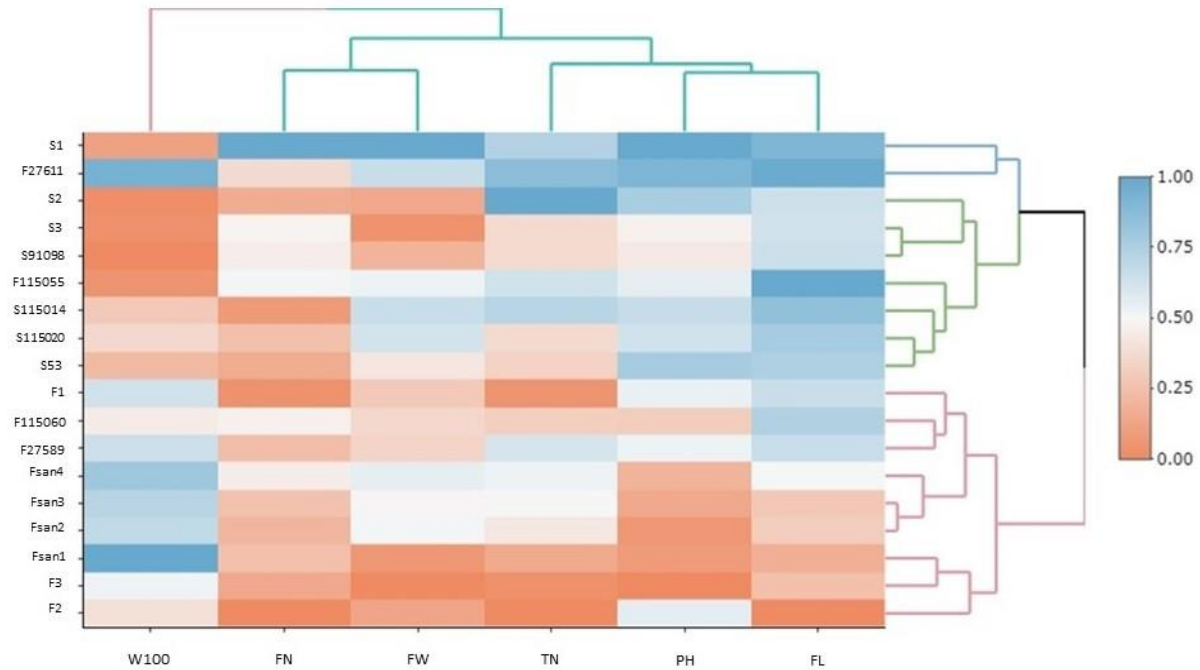
جدول ۷- مقایسه‌ی ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس متوسط ارتفاع بوته (PH)، طول برگ پرچم (FL)، عرض برگ پرچم (FW)، تعداد گلچه (FN)، تعداد پنجه (TN) و وزن صددانه (W100) با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۰/۰۱.

Table 7. Comparing oat genotypes using averages of plant height (PH), flag leaf length (FL), flag leaf width (FW), floret numbers (FN), tiller numbers (TN), and 100- seed weight (W100) traits, assessed by least significant differences (LSD) at the 0.01 significance level.

ژنوتیپ‌ها Genotypes	PH	FL	FW	FN	TN	W100
F1	90.77 ^{bcdef}	18.43 ^{bcde}	1.10 ^{cdefg}	41.00 ^{cd}	12.67 ^{ef}	3.30 ^{ab}
F2	92.03 ^{bcdef}	7.83 ^g	0.83 ^{efg}	37.67 ^d	11.67 ^f	2.97 ^{ab}
F3	55.57 ^h	11.90 ^{efg}	0.63 ^g	49.33 ^{bcd}	12.33 ^{ef}	3.15 ^{ab}
Fsan1	60.90 ^{gh}	10.67 ^{fg}	0.73 ^g	57.67 ^{bcd}	14.67 ^{def}	3.83 ^a
F115060	75.67 ^{defgh}	19.80 ^{abcd}	1.20 ^{bcdef}	76.33 ^b	18.00 ^{cdef}	3.04 ^{ab}
F115055	91.80 ^{bcdef}	24.00 ^a	1.47 ^{bcd}	79.00 ^b	24.33 ^{abcd}	2.47 ^b
F27611	115.00 ^{ab}	23.77 ^{ab}	1.67 ^b	68.00 ^{bcd}	29.00 ^{ab}	3.75 ^a
F27589	90.20 ^{bcdef}	18.50 ^{bcde}	1.17 ^{bcdef}	57.00 ^{bcd}	24.00 ^{abcd}	3.33 ^{ab}
Fsan2	59.73 ^{gh}	12.83 ^{defg}	1.43 ^{bcd}	54.33 ^{bcd}	20.33 ^{bcdef}	3.38 ^{ab}
Fsan3	64.93 ^{fgh}	12.47 ^{efg}	4.70 ^{bcd}	58.67 ^{bcd}	21.67 ^{abcdef}	3.42 ^{ab}
Fsan4	68.47 ^{efgh}	16.00 ^{cdef}	1.50 ^{bc}	74.67 ^b	22.33 ^{abcde}	3.55 ^{ab}
S1	120.50 ^a	22.67 ^{abc}	2.20 ^a	118.67 ^a	26.33 ^{abc}	2.56 ^b
S2	105.57 ^{abc}	18.20 ^{bcde}	0.86 ^{efg}	50.67 ^{bcd}	31.67 ^a	2.43 ^b
S3	86.30 ^{cdefg}	18.00 ^{bcde}	0.70 ^{fg}	76.67 ^b	19.00 ^{bcdef}	2.45 ^b
S91098	84.10 ^{cdefgh}	18.30 ^{bcde}	0.94 ^{defg}	74.33 ^{bc}	19.00 ^{bcdef}	2.40 ^b
S115014	98.93 ^{abcd}	21.60 ^{abc}	1.67 ^b	43.67 ^{cd}	26.00 ^{abc}	2.82 ^{ab}
S115020	96.67 ^{abcde}	20.37 ^{abc}	1.60 ^{bc}	57.67 ^{bcd}	19.00 ^{bcdef}	2.91 ^{ab}
S53	105.80 ^{abc}	19.97 ^{abc}	1.30 ^{bcde}	50.67 ^{bcd}	18.33 ^{cdef}	2.72 ^{ab}
LSD (0.01)	28.78	17.02	0.53	33.75	10.21	1.19

حروف یکسان به معنی عدم اختلاف معنی‌دار است.

Identical letters indicate no significant differences.



شکل ۳- نقشه حرارتی ترسیم شده روابط بین ۱۸ ژنوتیپ یولاف و صفات ارتفاع بوته (PH)، طول برگ پرچم (FL)، عرض برگ پرچم (FW)، تعداد گلچه (FN)، تعداد پنجه (TN) و وزن صددانه (W100) را نشان می‌دهد. دندروگرام‌های رنگی سمت راست تعداد گروه‌ها را مشخص می‌کنند. طبق شرح سمت راست، رنگ‌های آبی نشان‌دهنده حداکثر مقادیر هر صفت و رنگ‌های قرمز نشان‌دهنده حداقل مقادیر هستند.

Figure 3. The heat map illustrates the relationships among 18 oat genotypes and plant height (PH), flag leaf length (FL), flag leaf width (FW), number of florets (FN), number of tillers (TN), and hundred grain weight (W100) traits. The colored dendrograms on the right indicate the number of groups. According to the legend, blue colors signify the maximum values of each trait, while red colors denote the minimum values.

Fsan4 و Fsan3 دسته‌بندی شدند. صفات ارتفاع بوته، طول و عرض برگ پرچم، تعداد پنجه و تعداد گلچه در این ژنوتیپ‌ها، متغیر اما اکثراً دارای مقادیر متوسط و یا کمتر از حد متوسط بودند. وزن صددانه در این ژنوتیپ‌ها نسبت به میانگین بیشتر و یا حداکثر بود (شکل ۳). با استفاده از آزمون t اختلاف بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی از نظر داده‌های فنوتیپی بررسی شد. بر اساس این آزمون، دو گونه از لحاظ ارتفاع بوته ($p < 0.05$) و وزن صددانه ($p < 0.01$) با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. ارتفاع بوته در ژنوتیپ‌های زراعی و وزن صددانه در ژنوتیپ‌های وحشی بیشتر بود. اگرچه، ژنوتیپ‌های یولاف از نظر خصوصیات فنوتیپی دارای تنوع قابل‌ملاحظه‌ای بودند؛ اما بر اساس کلاستر هیت‌مپ، دو گونه‌ی زراعی و وحشی به‌طور کامل از هم

ارتفاع بوته (PH)، طول برگ پرچم (FL)، عرض برگ پرچم (FW)، تعداد پنجه (TN) و تعداد گلچه (FN) در این دو ژنوتیپ دارای حداکثر مقدار بودند. در حالی که وزن صددانه در ژنوتیپ F27611 بیشترین (۳/۷۵) و در S1 کمتر از حد متوسط بود. در گروه دوم، هفت ژنوتیپ یولاف، شامل شش ژنوتیپ زراعی (S2، S3، S91098، S115014، S115020 و S53) و یک ژنوتیپ وحشی (F115055) قرار گرفتند. کمترین مقدار وزن صددانه در ژنوتیپ‌های این گروه مشاهده شد، اما طول و عرض برگ پرچم و تعداد پنجه در این ژنوتیپ‌ها، متغیر و اکثراً بیشتر از حد متوسط تا حداکثر و تعداد گلچه، متغیر و غالباً کمتر از متوسط بودند. در گروه سوم، نه ژنوتیپ از گونه‌ی وحشی (F1، F2، F3، F115060، F27589، Fsan1، Fsan2، Fsan3، Fsan4، F27611، S1، S2، S3، S91098، S115014، S115020، S53، F115055) قرار گرفتند.

۰/۳۹ (در ژنوتیپ‌های F1, S1, S2, S3 و Fsan1) و ۰/۴۲ (در ژنوتیپ‌های S115014 و F115060) متغیر بود. شاخص پراکندگی (DI) با میانگین ۱/۱۹ در دامنه‌ی ۰/۸۸ (S115014) و ۱/۴۲ (S115020) متفاوت بود. در همه‌ی ژنوتیپ‌های یولاف مورد بررسی، بر اساس نام‌گذاری لوان و همکاران (Levan *et al.*, 1964)، کروموزوم‌ها به‌عنوان "m" (سانترومر در ناحیه‌ی میانی کروموزوم) تعیین شدند. به‌طور مشخص کاریوتیپ همه‌ی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، از نوع m (متاستریک) بودند و تمایزی از این لحاظ، در بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی وجود نداشت. بلندترین طول کروموزوم در یولاف وحشی و کوتاه‌ترین طول کروموزوم در یولاف زراعی دیده شد. با این حال، تفاوت معنی‌داری از نظر طول کروموزوم بین این دو گروه وجود نداشت.

تقارن کاریوتیپی با استفاده از شاخص‌های TF% (درصد شکل کلی کاریوتیپ)، S% (شاخص تقارن)، CV% (ضریب تغییرات)، DI (شاخص پراکندگی) و DRL (اختلاف دامنه طول نسبی کروموزوم‌ها) مورد سنجش قرار گرفت (جدول ۸). مقارن‌ترین کاریوتیپ با بیشترین مقدار شاخص TF%، مربوط به ژنوتیپ S115014 (۴۱/۴۱ درصد) و نامتقارن‌ترین کاریوتیپ مربوط به ژنوتیپ F1 با کمترین مقدار شاخص TF% (۳۸/۲۷ درصد) بود. شاخص تقارن (S%) در ژنوتیپ S2 (۶۱/۳۳ درصد) بیشترین و در ژنوتیپ S115014 (۵۸/۵۹ درصد) کمترین بود. بیشترین و کمترین مقدار شاخص تقارن (S%)، به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی مقارن‌ترین و نامتقارن‌ترین کاریوتیپ است. بر اساس آماره درصد ضریب تغییرات طول کروموزوم‌ها (CV_{cl}%)، ژنوتیپ F115055 با بیشترین مقدار CV_{cl}% (۲۰/۷۴ درصد)، دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و ژنوتیپ S53 با کمترین مقدار CV_{cl}% (۱۴/۲۵ درصد)، دارای مقارن‌ترین کاریوتیپ بود. ژنوتیپ S115014 با بیشترین مقدار شاخص DRL% (۳/۱۳ درصد) دارای نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و ژنوتیپ S91098 با کمترین مقدار DRL% (۲/۱ درصد) دارای مقارن‌ترین کاریوتیپ بودند.

مجزا نشدند. با این وجود، ۸۶ درصد ژنوتیپ‌های دسته‌بندی شده در گروه دوم، متشکل از گونه‌ی زراعی و در گروه سوم، منحصراً متشکل از ژنوتیپ‌های وحشی بودند.

مطابق با دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای مولکولی (IRAP, SCoT) و مجموع داده‌های IRAP و SCoT (بر اساس داده‌های فنوتیپی نیز دو ژنوتیپ S1 و F27611 با هم در یک گروه یکسان، ژنوتیپ‌های F5060 و F27589 در یک گروه یکسان و ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از استان کردستان مجدداً در یک گروه یکسان قرار گرفتند. در مطالعات قبلی نیز گزارش شده است که انواع متفاوت نشانگرهای مولکولی در تطابق با صفات فنوتیپی متغیر عمل می‌کنند (Boczkowska *et al.*, 2014). بر اساس آزمون مانتل، ارتباط معنی‌داری بین گروه‌بندی بر اساس داده‌های فنوتیپی و نشانگرهای مولکولی به‌دست نیامد.

بین دو گونه‌ی زراعی و وحشی از نظر ارتفاع بوته و وزن صددانه اختلاف معنی‌داری وجود داشت. عوامل پیچیده‌ای مانند تنوع ژنتیکی بیشتر در گونه‌های وحشی نسبت به گونه‌های زراعی، سازگاری بیشتر گونه‌های وحشی نسبت به شرایط محیطی و عوامل محیطی می‌توانند توجیه‌کننده‌ی وزن بیشتر دانه در گونه‌های وحشی باشد (Meyer and Purugganan, 2013). در شرایط محیطی دشوارتر که گونه‌های وحشی با آن بیشتر مواجه هستند؛ اندازه بزرگ و در نتیجه وزن بیشتر دانه‌ها، به‌دلیل تأثیر گذاشتن بر استقرار و بقای گیاه، یک مزیت محسوب می‌شود (Meyer and Purugganan, 2013).

بررسی‌های کروموزومی: همه‌ی دوازده ژنوتیپ یولاف مورد بررسی، هگزاپلوئید ($2n=6x=42$) بودند. پارامترهای کروموزومی مورد بررسی در جدول ۸ آمده است. تنوع کروموزومی در بین ژنوتیپ‌های یولاف وجود داشت. میانگین طول کل کروموزوم‌ها (TL)، برابر با $12/75 \mu\text{m}$ و در کل بین $15/31 \mu\text{m}$ - $6/8 \mu\text{m}$ متغیر بود. بلندترین و کوتاه‌ترین طول کل کروموزوم‌ها، به‌ترتیب در ژنوتیپ‌های F27611 ($15/31 \mu\text{m}$) و S53 ($8/6 \mu\text{m}$) برآورد شد. میانگین شاخص سانترومری (CI) برابر با ۰/۴ و در کل بین

جدول ۸- میانگین پارامترهای کروموزومی و شاخص‌های رومرو-زارکو بررسی شده در ژنوتیپ‌های یولاف دو گونه‌ی زراعی و وحشی

Table 8. Average chromosomal parameters and Romero-Zarco indices investigated in oat genotypes of cultivated and wild species.

Genotypes types	S	L	TL	AR	r-value	F%	DRL%	CI	TF%	XCI	S%	CVcl	Cvci	DI	A1	A2	ST	Range
F1	4.51	7.13	11.64	1.6	0.65	38.73	2.63	0.39	38.27	0.23	61.28	16.98	14.65	1.41	0.35	0.17	2A	6.6-15.6
Fsan1	5.45	8.65	14.09	1.62	0.66	38.69	2.94	0.39	38.94	0.22	61.06	16.81	20.23	1.29	0.33	0.17	2A	7.6-15.76
F115060	5.53	7.7	13.23	1.41	0.74	41.93	2.98	0.42	41.36	0.17	58.64	15.55	14.59	1.09	0.27	0.16	2A	9.1-17.3
F115055	5.83	8.9	14.72	1.55	0.67	39.57	3.01	0.4	39.56	0.21	60.44	20.74	17.44	1.03	0.33	0.21	2A	7.78-17.53
F27611	6.08	9.23	15.31	1.55	0.67	39.74	2.2	0.4	40.34	0.19	59.66	19.16	15.65	1.01	0.31	0.19	2A	8.86-17.23
S1	4.81	7.52	12.33	1.57	0.65	39	2.88	0.39	38.98	0.22	61.02	19.31	14.44	1.15	0.35	0.19	2A	5.4-15.1
S2	5.22	8.28	13.5	1.63	0.65	38.68	3.12	0.39	38.67	0.23	61.33	16.44	18.37	1.38	0.35	0.16	2A	8.5-17.2
S3	5.41	8.48	13.89	1.73	0.66	38.94	2.61	0.39	38.93	0.23	61.07	18.01	27.29	1.28	0.34	0.18	2A	6.2-12.2
S91098	4.73	7.17	12	1.59	0.67	39.79	2.1	0.4	39.77	0.22	60.23	19.89	23.58	1.08	0.32	0.2	2A	8.1-17.7
S115014	3.81	5.4	9.21	1.41	0.73	41.46	3.13	0.42	41.41	0.17	58.59	19.33	14.44	0.88	0.27	0.19	2A	9.5-18.8
S115020	5.71	8.81	14.52	1.57	0.67	39.35	2.58	0.4	39.38	0.21	60.62	14.79	15.19	1.42	0.33	0.15	2A	7.26-18.93
S53	3.49	5.11	8.6	1.49	0.71	40.54	3.04	0.41	40.58	0.18	59.42	14.25	15.22	1.28	0.29	0.14	2A	5.6-10.7
Mean	5.05	7.70	12.75	1.56	0.68	39.70	2.77	0.40	39.68	0.21	60.28	17.61	17.59	1.19	0.32	0.18		

S: بازوی کوتاه، L: بازوی بلند، TL: طول کروموزوم کلی، AR: نسبت بازو (L/S)، r-value: طول نسبی (S/L)، F%: درصد شکل کروموزوم، DRL%: تفاوت طول نسبی $(TL_{min}/TL_{max}) \times 100$ ، CI: شاخص سانترومیری $(TL_{min}/TL_{max}) \times 100$ ، TF%: درصد شکل کلی $(\sum S/\sum TL) \times 100$ ، XCI: شاخص میانگین سانترومیری، S%: شاخص تقارن، CVcl: ضریب تغییرات طول کروموزوم، Cvci: ضریب تغییرات شاخص سانترومیری، DI: شاخص پراکندگی $(A1 + A2) / 2$ ، A1: شاخص عدم تقارن درون کروموزومی، A2: شاخص عدم تقارن بین کروموزومی، ST: طول ماهواره.

S: Short arm, L: Long arm, TL: Total chromosome length, AR: Arm ratio (calculated as L/S), r-value: Relative length (calculated as S/L), F%: Form percentage of chromosome, DRL%: difference of relative length (calculated as $(TL_{min}/TL_{max}) \times 100$), CI: Centromeric index (calculated as $(S/TL) \times 100$), TF%: the total form percentage (calculated as $(\sum S/\sum TL) \times 100$), XCI: Mean centromeric index, S%: Symmetry index, CVcl: Coefficient of variation of chromosome length, Cvci: Coefficient of variation of centromeric index, DI: Ddispersion index (calculated as $(A1 + A2) / 2$), A1: Intrachromosomal asymmetry index, A2: Interchromosomal asymmetry index, ST: Satellite length.

مقدار $A_2 = 0.14$ در ژنوتیپ S53 مشاهده شد (جدول ۸). با استفاده از آزمون t تفاوت دو گونه‌ی زراعی و وحشی از نظر همه‌ی پارامترهای کروموزومی مورد بررسی قرار گرفت؛ اما از این لحاظ، بین دو گونه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

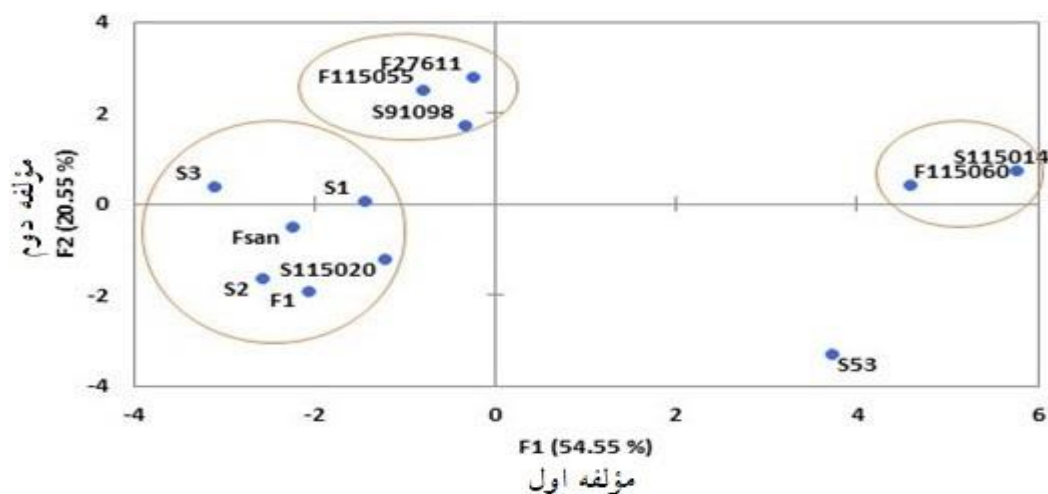
در اکثر موارد، ژنوتیپ‌های یولاف زراعی دارای کاریوتیپ‌های متقارن‌تر نسبت به کاریوتیپ ژنوتیپ‌های یولاف وحشی بودند؛ اما بر اساس شاخص دسته‌بندی استبینز، همه‌ی ژنوتیپ‌های یولاف در یک دسته‌ی مشابه تقریباً متقارن یا 2A قرار گرفتند. بر اساس دسته‌بندی رومرو-زارکو نیز تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای از نظر متقارن یا نامتقارن بودن کاریوتیپ‌ها در بین دو گونه‌ی یولاف وحشی و زراعی وجود نداشت و بر اساس آزمون t نیز تفاوت معنی‌داری

ژنوتیپ S115020 با بیشترین مقدار شاخص پراکندگی (DI%) برابر با $1/42$ نامتقارن‌ترین و ژنوتیپ S115014 با کمترین مقدار DI% (0.88 درصد) دارای متقارن‌ترین کاریوتیپ بودند. همه‌ی ژنوتیپ‌های یولاف مورد بررسی، در کلاس 2A (کاریوتیپ تقریباً متقارن) دسته‌بندی استبینز (ST) قرار گرفتند (Stebbins, 1971). برای بررسی دقیق عدم تقارن، از شاخص‌های A1 و A2 رومرو-زارکو (Romero Zarco, 1986)، نیز استفاده شد. نامتقارن‌ترین کاریوتیپ و بیشترین اختلاف درون کروموزومی با حداکثر مقدار $A_1 = 0.35$ در ژنوتیپ‌های S1، S2 و F1 و متقارن‌ترین کاریوتیپ با حداقل مقدار $A_1 = 0.27$ در ژنوتیپ‌های F115060 و F115014 تعیین شد. نامتقارن‌ترین کاریوتیپ با حداکثر مقدار $A_2 = 0.21$ مربوط به ژنوتیپ F115055 و متقارن‌ترین کاریوتیپ با حداقل

بیشتر از سایر مؤلفه‌ها بود. در مؤلفه‌ی اول، خصوصیات r-value, F%, DRL%, CI و IF% دارای ضرایب عاملی مثبت بودند. با توجه به بیشترین ضریب عاملی مثبت مربوط به CI (۹۷ درصد) در مؤلفه‌ی اول، به نظر می‌رسد؛ این مؤلفه به موقعیت سانترومر تأکید دارد و مؤلفه‌ی دوم (با واریانس تجمعی برابر با ۳۴/۱۹ درصد) و بیشترین ضریب عاملی مثبت برای شاخص A2 (۸۵ درصد)، بیانگر عدم تقارن بین کروموزومی است. ضرایب عاملی در مؤلفه‌ی سوم، برای S, L, TL مثبت و برای CVci و A2 منفی بود؛ بنابراین، به نظر می‌رسد این مؤلفه، ژنوتیپ‌های یولاف را از این لحاظ متمایز می‌کند. ژنوتیپ‌های یولاف در سه گروه متمایز در نمودار دویبعدی PCA قرار گرفتند؛ اما بر اساس شاخص‌های کروموزومی نیز دو گونه‌ی یولاف زراعی و وحشی از هم مجزا نشدند. در گروه اول، ژنوتیپ‌های F27611, F115055 و S91098 قرار گرفتند. در گروه دوم ژنوتیپ‌های S1, S2, S3, Fsan1, F115020 و F1 و در گروه سوم ژنوتیپ‌های S115014 و F115060 دسته‌بندی شدند و ژنوتیپ S53 کاملاً نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها مجزا شد.

بین این دو گونه مشاهده نشد. بیشتر بودن نسبی برخی از پارامترهای کروموزومی در گونه‌ی وحشی نسبت به گونه‌ی زراعی، می‌تواند ناشی از تغییرات در شرایط محیطی باشد (Ebadi-Almas *et al.*, 2012). تغییرات تدریجی در تغییر مقادیری مانند TF% ممکن است به دلیل ناهنجاری‌های کروموزومی مانند تغییرات ساختاری در مورفولوژی کروموزوم و یا جابجایی کروموزوم‌ها در مراحل اولیه تکامل باشد (Paknia and Karimzadeh, 2011).

به‌منظور تعیین تنوع کلی بین ژنوتیپ‌های یولاف بر اساس شاخص‌های کروموزومی مورد مطالعه (S, L, TL, AR, r-value, F%, DRL%, CI, CVci, CVcl, S%, IF%, A1 و A2)، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد. سه مؤلفه‌ی اول از یازده مؤلفه‌ی اصلی (PCs)، دارای مقادیر ویژه‌ی بزرگ‌تر از یک بودند و در ۹۴/۷۲ درصد از واریانس تجمعی بین ژنوتیپ‌های یولاف مشارکت داشتند. دو مؤلفه‌ی اول، در یک نمودار دویبعدی نمایش داده شده‌اند (شکل ۴). سهم مؤلفه‌ی اول (PC1) در تبیین تغییرات کروموزومی برابر با ۵۶۷۸ درصد،



شکل ۴- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس ۱۶ پارامتر کروموزومی در ۱۲ ژنوتیپ یولاف. این پارامترها شامل طول بازوی کوتاه (S)، طول بازوی بلند (L)، طول کروموزوم کلی (TL)، نسبت بازو (AR)، طول نسبی (r-value)، درصد شکل کلی کروموزوم (F%)، تفاوت در طول نسبی (DRL%)، شاخص سانترومری (CI)، درصد شکل کلی (TF%) شاخص میانگین سانترومری (XCI)، شاخص تقارن (S%)، ضریب تغییرات طول کروموزوم (CVcl)، ضریب تغییرات شاخص سانترومری (CVci)، شاخص پراکنندگی (DI)، شاخص عدم تقارن درون کروموزومی (A1)، شاخص عدم تقارن بین کروموزومی (A2) بودند.

Figure 5. Principal component analysis (PCA) was performed using 16 chromosomal parameters from 12 oat genotypes. These parameters included: S (Short arm), L (Long arm), TL (Total chromosome length), AR (Arm ratio), r-value (Relative length), F% (Form percentage of chromosome), DRL% (Difference of relative length percentage), CI (Centromeric index), TF% (Total form percentage), XCI (Mean centromeric index), S% (Symmetry index), CVcl (Coefficient of variation of chromosome length), CvcI (Coefficient of variation of centromeric index), DI (Dispersion index), A1 (Intrachromosomal asymmetry index), and A2 (Intrachromosomal asymmetry index).

پارامترهای کروموزومی به‌دلیل مورفولوژی مشابه کروموزوم‌ها دشوار است. با این‌حال، بررسی تفاوت‌ها در اندازه ژنوم، توالی‌های تکراری DNA و رفتار میوزی با استفاده از روش‌های سیتوژنتیک مولکولی پیشرفته، می‌تواند بینش ارزشمندی را برای تمایز این گونه‌های نزدیک به هم ارائه دهد. درحالی‌که هر دو گونه دارای کاریوتیپ‌های کلی مشابه هستند؛ ممکن است بازآرایی‌های کروموزومی جزئی وجود داشته باشد که آن‌ها را متمایز کنند. این بازآرایی‌ها می‌توانند شامل جابجایی‌های کوچک، وارونگی‌ها یا حذف‌هایی باشند که به‌راحتی از طریق روش‌های تعیین کاریوتیپ مرسوم قابل تشخیص نیستند (Badaeva et al., 2011; Fu, 2018; Peng et al., 2018). گونه‌ی *A. fatua* به‌طورکلی، به‌دلیل طبیعت وحشی و سازگاری‌های زیست‌محیطی گسترده‌تر، تنوع ژنتیکی بالاتری را در مقایسه با *A. sativa* نشان می‌دهد. این تنوع ممکن است در تغییرات جزئی در شاخص‌های کروموزومی و کاریوتیپی در میان جمعیت‌های مختلف *A. fatua* منعکس شود.

به‌طور کلی با مقایسه تنوع ژنتیکی دو گونه‌ی یولاف معمولی زراعی و وحشی بر اساس روش‌های مولکولی، فنوتیپی و کروموزومی در این مطالعه، اگرچه، تنوع نسبتاً بیشتری در گونه‌ی وحشی در مقایسه با زراعی برآورد شد؛ اما دو گونه زراعی و وحشی به‌طور کامل از هم متمایز نشدند. این نتایج بر اهمیت استفاده از خویشاوندان وحشی در برنامه‌های به‌نژادی هدفمند تأکید می‌کند. با توجه به تنوع ژنتیکی بیشتر موجود در گونه یولاف وحشی، می‌توان از آن به‌عنوان منبع ژنتیکی بالقوه و با ارزش برای بهبود ارقام برتر و پایدار یولاف بهره برد.

دو ژنوتیپ زراعی S1 و S115020 بر مبنای همه‌ی روش‌های مولکولی، کروموزومی و فنوتیپی، همواره با هم در یک گروه دسته‌بندی شدند و ژنوتیپ‌های وحشی F27611 و F5055 نیز هم بر اساس آغازگرهای مولکولی و هم پارامترهای کروموزومی، با هم در یک گروه جای گرفتند. همان‌طور که مشاهده شد، بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز دو گونه‌ی زراعی و وحشی از نظر شاخص‌های کروموزومی از همدیگر تفکیک نشدند. در مطالعه‌ای، با مقایسه‌ی شش گونه هگزاپلوئید جنس *Avena* (با ژنوم ACD) توسط روش‌های نواریندی C کروموزومی و هیبریداسیون درجا (FISH) با استفاده از کاوشگرهای 45S و 5S rRNA مشخص شد که همه‌ی گونه‌های هگزاپلوئید یولاف، دارای منشأ یکسانی هستند. گونه‌های *A. sativa* و *A. fatua* فقط تغییرات جزئی در مورفولوژی و الگوی نواریندی C در کروموزوم C2 نشان دادند (Badaeva et al., 2011). در مطالعه دیگری نیز با استفاده از تکنیک نواریندی C، تفاوت زیادی در بین دو گونه زراعی و وحشی گزارش نشد (Jellen et al., 1993). بر اساس نتایج حاصل از مطالعات کروموزومی و خصوصیات گیاه‌شناسی، به نظر می‌رسد *A. fatua* و *stirilis* فرم وحشی گونه‌های زراعی باشند (Badaeva et al., 2011). با ارزیابی روابط فیلوژنتیکی در ۷۶ آرایه *Avena* توسط پنگ و همکاران (Peng et al., 2018)، با استفاده از ژن پلاستید ۳- فسفولگلیسرات کیناز هسته‌ای (*Pgk1*) نیز دو گونه‌ی *A. fatua* و *A. sativa* با هم در یک گروه (Clade) دسته‌بندی شدند. تمایز بین *A. fatua* و *sativa* تنها بر اساس روش تعیین کاریوتیپ و

References

- Achleitner, A., Tinker, N.A., Zechner, E. and Buerstmayr, H. (2008). Genetic diversity among oat varieties of worldwide origin and associations of AFLP markers with quantitative traits. *Theoretical and Applied Genetics*, **117**: 1041-1053.
- Alikhani, L., Rahmani, M.S., Shabani, N., Badakhshan, H. and Khadivi-Khub, A. (2014). Genetic variability and structure of *Quercus brantii* assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. *Gene*, **552(1)**: 176-183.
- Amosova, A.V., Nosov, N.N., Gnutikov, A.A., Rodionov, A.V., Loskutov, I.G., Yurkevich, O.Y., Samatadze, T.E., Zoshchuk, S.A. and Muravenko, O.V. (2024). Genome variability in artificial allopolyploid hybrids of *Avena sativa* L. and *Avena macrostachya* Balansa ex Coss. et Durieu based on marker sequences of satellite DNA and the ITS1-5.8S rDNA Region. *International Journal of Molecular Science*, **25**: 5534.
- Androsiuk, P., Eryka, S., Justyna, M., Wioleta, D. and Sopyła, K. (2023). The comparison of polymorphism among *Avena* species revealed by retrotransposon-based DNA markers and soluble carbohydrates in seeds. *Journal of Applied Genetics*, **64**: 247-264.

- Arora, A., Kundu, S., Dilbaghi, N., Sharma, I. and Tiwari, R. (2014). Population structure and genetic diversity among Indian wheat varieties using microsatellite (SSR) markers. *Australian Journal of Crop Science*, **81**: 281-1289.
- Arora, A., Sood, V.K., Chaudhary, H.K., Banyal, D.K., Kumar, S., Devi, R., Kumari, A., Khushbu, P. and Yograj, S. (2021). Genetic diversity analysis of oat (*Avena sativa*) germplasm revealed by agromorphological and SSR markers. *Range Management and Agroforestry*, **42**: 38-48.
- Azizi, E., Salehan, N., Rahbarian, R. and Masoomi, A. (2024). Cytogenetic analysis of different landraces of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Plant Genetic Researches*, **10(2)**: 35-46 (In Persian).
- Aziznia, R., Badakhshan, H., Javadi, T. and Zamani, S. (2020). Assessment of diversity in barley genotypes (*Hordeum vulgare* L) based on beta-glucan content and ISSR markers. *Plant Genetic Researches*, **6(2)**: 97-110 (In Persian).
- Badaeva, E.D., Shelukhina, O.Y., Dedkova, O.S., Loskutov, I.G. and Pukhalskiy, V.A. (2011). Comparative cytogenetic analysis of hexaploid *Avena* L species. *Plant Genetics*, **47**: 783-795.
- Boczkowska, M. and Tarczyk, E. (2013). Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L). *Genetic Resources and Crop Evolution*, **60**: 2157-2169.
- Boczkowska, M., Nowosielski, J., Nowosielska, D. and Podyma, W. (2014). Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **61**: 927-941.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, **32**: 314-331.
- Chňapek, M., Mikolášova, L., Vivodík, M., Gálová, Z., Hromadová, Z., Ražná, K. and Balážová, Ž. (2022). Genetic diversity of oat genotypes using SCoT markers. *Biology and Life Science Forum*, **11**: 29.
- Cieplak, M., Okon, S. and Werwinska, K. (2021). Genetic similarity of *Avena sativa* L varieties as an example of a narrow genetic pool of contemporary cereal species. *Plants*, **10**: 1-10.
- Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J. (2009). Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, **27**: 86-93.
- Da-Silva, P.R., Milach, S.C.K. and Tisian, L.M. (2011). Transferability and utility of white oat (*Avena sativa*) microsatellite markers for genetic studies in black oat (*Avena strigosa*). *Genetics and Molecular Research*, **10**: 2916-2923.
- Earl, D.A. and VonHoldt, B.M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4**: 359-361.
- Ebadi-Almas, D., Karimzadeh, G. and Mirzaghaderi, G. (2012). Karyotypic variation and karyomorphology in Iranian endemic ecotypes of *Plantago ovata* forsk. *Cytologia*, **77**: 215-223.
- Eltaher, S., Sallam, A., Belamkar, V., Emar, H.A., Nower, A.A., Salem, K.F.M., Poland, J. and Baenziger, P.S. (2018). Genetic diversity and population structure of F3:6 Nebraska winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Frontiers in Genetics*, **91**: 9.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, **14**: 2611-2620.
- Fu, Y.B. (2018). Oat evolution revealed in the maternal lineages of 25 *Avena* species. *Scientific Reports*, **8(1)**: 4252.
- He, X. and Bjørnstad, Å. (2012). Diversity of North European oat analyzed by SSR, AFLP and DArT markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **125**: 57-70.
- Hosseini, S., Rahgozar, M.R. and Badakhshan, H. (2022). Study of genetic diversity of some *Allium* L. species based on ISSR markers in Kurdistan province. *Plant Genetic Researches*, **8(2)**: 57-68 (In Persian).
- Ihsan, M., Nazir, N., Ghafoor, A., Khalil, A.A.K., Zahoor, M., Nisar, M., Khames, A., Ullah, R. and Shah, A.B. (2021). Genetic diversity in local and exotic *Avena sativa* (oat) germplasm using multivariate analysis. *Agronomy*, **1**: 11-18.
- Ihsan, M., Nisar, M., Nazir, N., Zahoor, M., Khalil, A.A.K., Ghafoor, A., Khan, A., Mothana, R.A., Ullah, R. and Ahmad, N. (2022). Genetic diversity in nutritional composition of oat (*Avena sativa* L) germplasm reported from Pakistan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **29**: 1487-1500.
- Jan, S.F., Khan, M.R., Iqbal, A., Khan, F.U. and Ali, S. (2020). Genetic diversity in exotic oat germplasm & resistance against barley yellow dwarf virus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **27**: 2622-2631.
- Jellen, E.N., Phillips, R.L. and Rines, H.W. (1993). C-banded karyotypes and polymorphisms in hexaploid oat accessions (*Avena spp*) using Wright's stain. *Genome*, **36**: 1129-1137.
- Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A. and Schulman, A. (1999). IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, **98**: 704-711.
- Kalendar, R., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., Šjakste, T., Moisy, C. and Schulman, A.H. (2011). Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers. *Heredity*, **106**: 520-530.
- Koroluk, A., Paczos-Grzeda, E., Sowa, S., Boczkowska, M. and Toporowska, J. (2022). Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives. *Agriculture*, **12(10)**: 2423.
- Ladizinsky, G. (1968). Chromosome rearrangements in the hexaploid oats. *Notes and Comments*, **69**: 457-462.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A.A. (1964). Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, **52**: 201-220.

- Li, R., Wang, S., Duan, L., Li, Z., Christoffers, M.J. and Mengistu, L.W. (2007). Genetic diversity of wild oat (*Avena fatua*) populations from China and the United States. *Weed Science*, **55**: 95-101.
- Luo, C., He, X.H., Chen, H., Ou, S.J. and Gao, M.P. (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, **38**: 1176-1184.
- Mantel, N. (1967). The Detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, **27**: 209-220.
- Meyer, R.S. and Purugganan, M.D. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews Genetics*, **14**: 840-852.
- Mirza, B., Shoaib, M., Ahmad, M. and Fu, Y.B. (2007). Genetic diversity in Pakistani populations of *Avena fatua* revealed by seed storage protein polymorphism. *Communications in Biometry and Crop Science*, **2**: 41-48.
- Mirzaghaderi, G. and Marzangi, K. (2015). IdeoKar: an ideogram constructing and karyotype analyzing software. *Caryologia*, **68**: 31-35.
- Montilla-Bascón, G., Sánchez-Martín, J., Rispail, N., Rubiales, D., Mur, L., Langdon, T., Griffiths, I., Howarth, C. and Prats, E. (2013). Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. *Plant Molecular Biology Reporter*, **31**: 1305-1314.
- Nan, J., Ling, Y., An, J., Wang, T., Chai, M., Fu, J., Wang, G., Yang, C., Yang, Y. and Han, B. (2023). Genome resequencing reveals independent domestication and breeding improvement of naked oat. *GigaScience*, **12**: 1-13.
- Nasrollahi, S., Badakhshan, H. and Sadeghi, A. (2019). Analyzing sunn pest resistance in bread wheat genotypes using phenotypic characteristics and molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, **25**: 765-778.
- Nikoloudakis, N., Bladenopoulos, K. and Katsiotis, A. (2016). Structural patterns and genetic diversity among oat (*Avena*) landraces assessed by microsatellite markers and morphological analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **63**: 801-811.
- Paczos-Grzeda, E. and Bednarek, P.T. (2014). Comparative analysis of hexaploid *Avena* species using REMAP and ISSR methods. *Turkish Journal of Botany*, **38**: 1103-1111.
- Paknia, R. and Karimzadeh, G. (2011). Karyotypic study and chromosome evolution in some Iranian local onion populations. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, **1(1)**: 49-62.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, **28**: 2537-2539.
- Peng, Y., Zhou, P., Zhao, J., Li, J., Lai, S., Tinker, A., Liao, S. and Id, H.Y. (2018). Phylogenetic relationships in the genus *Avena* based on the nuclear *Pgk1* gene. *PLoS One*, **13**: 1-18.
- Porebski, S., Bailey, L.G. and Baum, B.R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, **15**: 8-15.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, **2**: 225-238.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. and Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**: 945-959.
- Rahmani, M.S., Shabaniyan, N., Khadivi-Khub, A., Woeste, K.E., Badakhshan, H. and Alikhani, L. (2015). Population structure and genotypic variation of *Crataegus pontica* inferred by molecular markers. *Gene*, **572(1)**: 123-129.
- Romero Zarco, C. (1986). A new method for estimating karyotype asymmetry. *Taxon*, **35**: 526-530.
- Sanchez-Martín, J., Mur, L.A.J., Rubiales, D. and Prats, E. (2012). Targeting sources of drought tolerance within an *Avena* spp collection through multivariate approaches. *Planta*, **236**: 1529-1545.
- Tanhuanpää, P., Kalendar, R., Laurila, J., Schulman, A. H., Manninen, O. and Kiviharju, E. (2006). Generation of SNP markers for short straw in oat (*Avena sativa* L). *Genome*, **49**: 282-287.
- Stebbins, G.L. (1971) *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold LTD, London, UK.
- Tomás, D., Rodrigues, J., Varela, A., Veloso, M.M., Viegas, W. and Silva, M. (2016). Use of repetitive sequences for molecular and cytogenetic characterization of *Avena* species from Portugal. *International Journal of Molecular Sciences*, **17**: 1-14.
- Tomaszewska, P., Schwarzacher, T. and Heslop-harrison, J.S.P. (2022). Oat chromosome and genome evolution defined by widespread terminal intergenomic translocations in polyploids. *Frontiers in Plant Science*, **1**: 21.
- van de Wouw, M., van Hintum, T., Kik, C., van Treuren, R. and Visser, B. (2010). Genetic diversity trends in twentieth century crop cultivars: A meta analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, **120**: 1241-1252.
- Yan, H., Zhou, P., Peng, Yun, Bekele, W.A., Ren, C., Tinker, N.A. and Peng, Y. (2020). Genetic diversity and genome-wide association analysis in Chinese hullless oat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, **133**: 3365-3380.