ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی ارقام بهاره و پائیزه کلزا (*Brassica napus* L.) با استفاده از نشانگر مولکولی SSR

هادی کریم بیگی[۱]، فرهاد نظریان فیروزآبادی[۲،*]، میترا خادمی[۳] و الهام موسوی[۱]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

۳- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۰٦/۲۳ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱۰/۳۰)

چکیده

کلزا (*Brassica napus* L.)، گیاهی روغنی و زراعی متعلق به خانواده‌ی شب‌بو است. این خانواده دارای حدوداً ۳۵۰ جنس و بیش از ۳۰۰۰ گونه است. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱ رقم کلزا با استفاده از نشانگرهای مولکولی، از ۱۱جفت آغازگر اختصاصی ریزماهواره‌ی SSR استفاده شد. آغازگرها در مجموع ۷٦ باند واضح تولید نمودند که ٤٦ باند از آن‌ها چند شکل (٦۰/۵ درصد) بودند. میانگین تعداد باندهای تکثیری به ازای هر جفت آغازگر و ژنوتیپ به ترتیب ٦/۹ و ۳/٦ بود. هر جفت آغازگر به طور متوسط ٤/۲ باند چند شکل تولید نمود. در بین آغازگرها، بیشترین تعداد باند تکثیری مربوط به آغازگرهای Na10A09 وCB10036B با ۱۰ باند و کمترین تعداد باند مربوط به آغازگر CB10403 با ٤ باند بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و با استفاده از ماتریس تشابه دایس، ژنوتیپ‌های کلزا را به ۳ گروه اصلی تقسیم نمود. رقم Licord به تنهایی یک گروه را تشکیل داد، درحالی که از لحاظ خصوصیات مرفولوژیکی با بیشتر ژنوتیپ‌ها شباهت بالایی داشت. این موضوع احتمالاً به دلیل تفاوت در سطح پلوئیدی این ژنوتیپ و یا نامگذاری اشتباه آن می‌باشد. براساس نتایج حاصل از ماتریس تشابه، بیشترین شباهت (۰/۹۹) مربوط به ژنوتیپ‌های Zarfam و Gerinimo و کمترین تشابه (۰/۷۲) مربوط به ژنوتیپ‌های KS-11 و Licord بود. نتایج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی در یک گروه قرار گرفتند. این موضوع احتمالاً قرابت و خویشاوندی نزدیک ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تجزیه‌ی مولکولی (AMOVA) داده‌ها نشان داد که میزان تنوع درون گروهی (پائیزه- بهاره) بیشتر از تنوع بین گروهی است به طوری که ۹۷ درصد تنوع مربوط به تنوع درون گروه‌ها بود.

واژگان کلیدی: ریزماهواره، کلزا، خوشه‌بندی، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: **nazarian.f@lu.ac.ir**

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

مقدمه

شاید به جرأت بتوان گفت که مهمترین گیاهان زراعی-روغنی به جنس خردل تعلق دارند. در یک دهه‌ی گذشته، کلزای روغنی از نظر میزان تولید روغن در جهان از رتبه پنجم به رتبه‌ی سوم صعود کرده است. به علاوه، سطح زیر کشت این گیاه در جهان افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده است (Ash and Dohlman, 2006; Maliro, 2011). کلزا گیاهی یک ساله از خانواده شب‌بو و جنس خردل می‌باشد. این گیاه از تلاقی شلغم روغنی *B. campestris* (2n=20) و شلغم معمولی(2n=18) *B. oleracea* به دست آمده است (Azizi and Khavariy-khorasani, 1999). به طورکلی، روغن کلزا در مقایسه با روغن‌های حاصل از دانه‌های روغنی نظیر آفتابگردان، ذرت و سویا از کیفیت تغذیه‌ای بالاتری برخوردار است (Farzin *et al*., 2006). روغن کلزا حاوی ۱۲-۱۰ درصد امگا-۳، ۶۳-۵۶ درصد اسید اولئیک، ۲۲-۱۸ درصد اسید لینولئیک و ۱۲-۱۰ درصد اسید لینولنیک می‌باشد. همچنین این روغن فاقد کلسترول و اسیدهای ترانس و حاوی ۹۳ درصد اسیدهای چرب غیراشباع است و کنجالهِ آن علاوه بر ۳۸ تا ٤٤ درصد پروتئین، حاوی ۱۱ تا ۱۳ درصد فیبر می‌باشد (Azizi *et al*., 1999).

در اصلاح نباتات، انتخاب افراد برتر از درون جوامع متنوع گیاهی از اهمیت خاصی برخوردار است. موفقیت انتخاب بستگی به ارزیابی صحیح تنوع در جمعیت‌های گیاهی دارد. در همین راستا جهت تعیین و بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان می‌توان از روش‌های مختلفی مانند انواع نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی استفاده نمود. در بررسی تنوع ژنتیکی، داده‌های حاصل از نشانگرهای مولکولی نسبت به داده‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی (نظیرآلوزایم) برتری دارند (Yu *et al*., 2005). در این میان، نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA، مناسب‌ترین ابزار در برآورد تنوع ژنتیکی به شمار می‌روند (Maliro, 2011; O'Donoughue *et al*., 1994; Darvishian *et al*., 2016). مطالعات نشان می‌دهند که در بررسی تنوع ژنتیکی محصولات زراعی و باغی، از دو نشانگر AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisum) و SSR (Simple Sequence Repeats) بیشتر از سایر نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده شده است (Maguire *et al*., 2002). همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که بین فاصله ژنتیکی و میزان هتروزیس در کلزا ارتباط معنی‌داری وجود دارد (Quijada *et al*., 2006). به‌علاوه بین ژنوتیپ های روغنی بهاره و زمستانه کلزا اختلاف دیده می‌شود که می‌توان از آن‌ها به عنوان منابع مفیدی برای فراهم کردن پتانسیل هتروزیس در کلزای روغنی بهاره و زمستانه استفاده کرد. اگرچه کلزاهای روغنی زمستانه برای کشت بهاره مناسب نیستند، اما با وجود این، به واسطه برخورداری از تنوع ژنتیکی بالا، استفاده از آن‌ها به افزایش معنی‌دار محصول در هیبریدهای کلزای روغنی بهاره به واسطه اینترگرسیون با ژرم‌پلاسم ارقام زمستانه کمک شایانی کرده است (Butruille *et al*., 1999; Quijade *et al*., 2004; Udall *et al*., 2006).

نشانگرهای اختصاصی SSR یا ریزماهواره‌ها شامل واحد های تکراری ۲ تا ۷ نوکلئوتیدی می‌باشند که در ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها پراکنده‌اند. از هر ده کیلو جفت باز از ردیف DNA، دست کم یک ردیف ریزماهواره‌ای دیده می‌شود (Powell *et al*., 1996). در گیاهان حضور ردیف های تکراری SSR اولین بار در ژنوم درختان گرمسیری به وسیله هیبریداسیون با کاوشگرهای الیگونوکلئوتیدی Poly (C-T) و Poly (A-C) به اثبات رسید (Condit and Hubbell, 1991). فراوانی ردیف‌های تکرارشونده در ژنوم‌های مختلف، اعم از یوکاریوت‌ها و تا حدودی پروکاریوت‌ها به اثبات رسیده است. پانود و همکاران (Panaud *et al*., 1995) گزارش دادند که ردیف $(G\text{-}A)_n$ به تعداد ۱۳٦۰ مرتبه و ردیف $(G\text{-}T)_n$ به تعداد ۱۲۳۰مرتبه در ژنوم برنج تکرار شده‌اند. تغییر در تعداد واحدهای تکرارشونده در هر یک از DNAهای تکرارشونده با یکی از دو سازکار کراسینگ‌اور نامساوی یا جفت شدن ناشی

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

از سرخوردن در طول رشته DNA صورت می‌گیرد (Schlötterer and Tautz, 1992; Smith, 1976).

از آنجایی که نواحی مجاور ریزماهواره‌ها در گونه‌های یک جنس و حتی در برخی موارد در جنس‌های نزدیک حفظ شده است، بر این اساس برای چنین نواحی می‌توان آغازگرهایی را طراحی کرد که در اصطلاح آغازگرهای مجاور ریزماهواره نامیده می‌شوند (Goldstein and Schlotterer, 1999).

با استفاده از نشانگرهای SSR تنوع ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ کلزا و تعدادی لاین اصلاحی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه از ٦١ جفت آغازگر استفاده شد که در مجموع ۱۹۸ باند قابل امتیازبندی تولید کردند. به طور متوسط به ازای هر مکان ژنی ٤ آلل آشکار گردید. این مطالعه نشان داد که با بهره‌گیری از نشانگر SSR می‌توان ارقام بهاره و زمستانه کلزا را از همدیگر تفکیک نمود و همچنین این نشانگر از کارآمدی بالایی برای برآورد تنوع ژنتیکی در خزانه ژنی کلزا برخوردار بود (Plieske and Struss, 2001).

بررسی تنوع ژنتیکی کلزا توسط محققان متعددی در سایر نقاط دنیا صورت گرفته است. برای مثال، تنوع ژنتیکی ۱۱ ژنوتیپ کلزای چینی و ۱۲ ژنوتیپ سوئیسی نشان داد که واریته‌های چینی از تنوع بیشتری نسبت به واریته‌های سوئیسی برخوردار هستند. به‌علاوه نتایج این تحقیق نشان داد که از نشانگر SSR می‌توان به خوبی برای انتخاب والدین مناسب جهت تولید هیبرید در گونه‌های کلزا و همچنین تعیین تنوع ژنتیکی استفاده نمود (Zhou *et al.*, 2006). حسن و همکاران (Hasan *et al.*, 2006) با بهره-گیری از این نشانگر تنوع ژنتیکی ۹٦ ژنوتیپ کلزا را مورد بررسی قرار دادند و این ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه کلی؛ ۱) ژنوتیپ‌های علوفه‌ای- روغنی بهاره ۲) روغنی زمستانه ۳) علوفه‌ای بهاره ٤) رویشی (سبزی) طبقه‌بندی نمودند. بیشترین تنوع آللی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های علوفه ای بهاره، ژنوتیپ‌های رویشی بهاره و دو ژنوتیپ از کره و ژاپن بود (Hasan *et al.*, 2006). محققان دیگری نیز از این نشانگر برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده کرده‌اند و به مفید بودن و توانایی آن در برآورد تنوع ژنتیکی اشاره نموده‌اند (Duran *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009).

درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱ رقم کلزا از ۲۰ جفت آغازگر اختصاصی SSR و نیمه تصادفی ISJ استفاده کردند. آغازگرها در مجموع ۱۵۸ (۸۱/۰۵ درصد) باند چند شکل (۵۱ باند SSR و ۱۰۷ باند ISJ) تولید کردند. متوسط تعداد باند چند شکل برای آغازگرهای ISJ، SSR و ترکیب آن‌ها به ترتیب ۱۰/۷، ۵/۱ و ۷/۹ عدد برآورد شد. نمودار درختی حاصل از تجزیه‌ی خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس با استفاده از آغازگرهای ISJ، SSR و ترکیب آن‌ها، ژنوتیپ‌های کلزا را به ترتیب در سه، شش و چهار گروه اصلی تقسیم نمود. نتایج این تحقیق نشان داد که تنوع ژنتیکی از الگوی پراکنش جغرافیایی تبعیت نمی‌کند و ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی در گروه‌های مجزا طبقه‌بندی نشدند. این موضوع قرابت و خویشاوندی ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی را نشان داد (Darvishnia *et al.*, 2015). از آنجایی که ممکن است نوع و تعداد آغازگر روی تشخیص میزان تنوع ژنتیکی اثر بگذارد، تحقیق حاضر با استفاده از ۱۱ جفت آغازگر SSR متفاوت روی ۲۱ ژنوتیپ کلزا صورت گرفت.

مواد وروش‌ها

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و شناسایی چند شکلی مولکولی ژنوتیپ‌های کلزا در خزانه ژنتیکی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، بذر تعداد ۲۱ ژنوتیپ از این مرکز تهیه شد (جدول ۱).

در ابتدا، بذور ضدعفونی و به تعداد ۵-۱۰ عدد در هر گلدان و در سه تکرار کاشته شدند. به منظور استخراج DNA در مرحله‌ی هشت برگی، برگ‌های جوان از تعداد ۳ گیاهچه هر ژنوتیپ به تصادف برداشت شد. برای هر ژنوتیپ استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش دلاپورتا و همکاران صورت گرفت (Dellaporta *et al.*, 1983).

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

جدول ۱- لیست ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق به همراه منشاء آن‌ها

Table 1. List of genotypes used in this study with their origin

ردیف Row	رقم cultivar	منشاء Origin	ردیف Row	رقم cultivar	منشاء Origin
1	PF	Germany	12	Fornax	Germany
2	Licord	Germany	13	Elvis	France
3	Orient	Germany	14	Gerinimo	France
4	Option504	Germany	15	Zarfam	Iran
5	Colvert	France	16	Ks-11	Iran
6	Sari gol	Germany	17	Kiloz	Iran
7	Heros	Germany	18	SLM096	Germany
8	Modena	Denmark	19	Talaye	Iran
9	Okapi	France	20	Opera	Germany
10	RGS 003	Germany	21	19-H	Pakistan
11	KS-7	Germany			

کمیت و کیفت DNA با استفاده از دو روش اسپکتوفتومتری (Eppendorf, Germany) و الکتروفورز ژل آگارز (۰/۸درصد) تعیین شد. محتوی DNAی ژنومی نمونه‌ها با استفاده از ۱۱ جفت آغازگر اختصاصی (جدول۲) تکثیر شدند که بیشترین چندشکلی را در آزمایش‌های قبلی تولید کرده بودند (Darvishnia *et al.*, 2015).

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای SSR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۰/۲۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۵ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم)، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرها (pm ۰/۵)، یک میکرولیترdNTP (pm ۰/۵) ۲ میکرولیتر بافر (×10) از نوع بافر کامل صورت گرفت. به منظور جلوگیری از تکثیرهای غیراختصاصی، از برنامه Touch down PCR (واسرشته‌سازی اولیه: یک چرخه سه دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ چرخه اولیه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۵-۵۶ درجه سانتیگراد به ازای هر چرخه یک درجه کاهش دما، به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، ۳۰ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه و نهایتا یک چرخه بسط نهائی به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد) صورت گرفت. با توجه به اختلاف بسیار جزئی در آلل‌های SSR در ژنوتیپ‌های یک گونه، برای تفکیک باندها از ژل آکریل آمید استفاده شد. از آکریل آمید ۶٪ برای تفکیک آلل‌ها استفاده شد. رنگ آمیزی ژل‌ها با استفاده از روش نیترات نقره صورت گرفت. الگوی باندی حاصل از تجزیه SSR براساس وجود یا عدم وجود باند خاص در نمونه‌ها، به صورت یک یا صفر امتیازبندی شد. تنها از باندهای چند شکل، واضح و تکرارپذیر برای تشکیل ماتریس داده‌ها استفاده شد. به منظور بررسی کارایی آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه از فرمول PICi = 1-ΣP2ij استفاده شد که در آن PIC میانگین اطلاعات چندشکل هر آغازگر و P_i فراوانی باندها است (Mohamadi and Prasanna, 2003). گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش اتصال میانگین یا الگوریتم UPGMA صورت گرفت.

تشابه ژنتیکی با استفاده از نرم افزار NTSYS-PC (Rohlf, 1992) محاسبه شد. دندروگرام با کمک نرم افزار NTSYS-pc ویرایش ۲/۰۱ ترسیم شد. تنوع ژنتیکی درون و بین گروهی با آغازگرهای اختصاصی SSR به کمک نرم‌افزار GeneAlex محاسبه گردید. برآورد فراوانی پارامترهای تنوع ژنتیکی با استفاده از نرم افزار Popgene32 محاسبه گردید. آنالیز تجزیه واریانس جهت اندازه‌گیری تنوع بین و درون گروهی از طریق نرم‌افزار GeneAlex انجام شد.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

جدول ۲- فهرست آغازگرهای اختصاصی SSR

Table 2. List of SSR specific primers

نام‌آغازگر Primer name	منشاء Origin	موتیف Motif	اندازه قطعات PCR Product size	منبع Reference
Na14H12	*B.napus*	$(AC)_{16}$	205-207	Lowe *et al*., 2002
Na14E11	*B.napus*	$(AG)_{23}$	64-74	Lowe *et al*., 2002
NA14G02	*B.napus*	$(AG)_{17}$	Nd	Lowe *et al*. .2002
Na10A09	*B.napus*	$(GA)_{26}$	124	Piquemal *et al*., 2005
CB10403	*B.napus*	-	150-195	Piquemal *et al*., 2005
BRAS051A	*B.napus*	-	Nd	Piquemal *et al*., 2005
BRAS029	*B.napus*	-	Nd	Piquemal *et al*., 2005
CB10036B	*B.napus*	-	Nd	Piquemal *et al*., 2005
Na14E02A	*B.napus*	$(CT)_{42}/(AT)_{11}$	Nd	Piquemal *et al*., 2005
BRMS002	*B.napus*	(CT)22	Nd	Piquemal *et al*., 2005
Na14H11	*B.oleracea*	$(CA)_{10}$	Nd	Piquemal *et al*., 2005

Nd: اندازه معلوم نیست

Nd: Size unclear

نتایج و بحث

به منظور بررسی چند شکلی حاصل از تکثیر قطعات DNA در بین ۲۱ ژنوتیپ گیاه کلزا از ۱۱ جفت آغازگر SSR استفاده شد. این آغازگرها در مجموع ۷۶ باند واضح و قابل امتیازدهی تکثیر نمودند. میانگین تعداد باندهای تکثیری به ازای هر جفت آغازگر و ژنوتیپ به ترتیب ۶/۹ و ۳/۶ بود. از تعداد کل باندها، ٤٦ باند (٦٠/٥ درصد) چند شکل بودند که به طور متوسط هر جفت آغازگر ٤/٢ باند چند شکل تولید نمود. درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al*., 2015) در مطالعه‌ی با استفاده از ده جفت آغازگر SSR متوسط تعداد باندهای تولیدی به ازای هر جفت آغازگر، هر ژنوتیپ و تعداد باندهای چند شکل را به ترتیب ۳/۳، ۷/۳ و ۵۱ عدد گزارش نمودند (Darvishnia *et al*., 2015). همچنین، محمدی و همکاران (Mohammad *et al*., 2009) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام کلزا، متوسط تعداد باندهای تولیدی به ازای هر آغازگر را ۱۱/۹۲ باند گزارش نمودند. در مطالعات دیگری متوسط تعداد باند تکثیری به ازای هر جفت آغازگر دو (Uzunova and Ecke, 1999)، ۳/۹ Rudolph (*et al*., 2000)، ٤/٤٤(Tonguc and Griffiths, 2004) و ۷/۳(Hasan *et al*., 2006) گزارش شده است. در مطالعه‌ی دیگری، روی گیاه کلزا متوسط تعداد باندهای تولیدی به ازای هر جفت آغازگر ١٤/٦ عدد گزارش شد (Yim *et al*., 2009). همانطور که از جدول ۳ مشاهده می‌شود، تعداد باندهای تولیدی توسط هر جفت آغازگر متفاوت در این مطالعه متفاوت بود. در بین آغازگرها، بیشترین تعداد باند تکثیری مربوط به آغازگرهای Na10A09 و CB10036B با ۱۰ باند و کمترین تعداد مربوط به آغازگر CB10403 با ٤ باند بود. در مطالعه درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al*., 2015) بیشترین تعداد باند ۱۰عدد و کمترین تعداد باند ۲ عدد بود. جدول ۳ فهرست مربوط به تعداد باندهای چند شکل و یک شکل را برای تک تک آغازگرها نشان می‌دهد. میزان درصد چند شکلی در بین آغازگرها از صفر تا ۱۰۰ متغیر بود. اختلاف تعداد باند-های تکثیری و تعداد باندهای چند شکل در این مطالعه با مطالعات محققان دیگر می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع و تعداد آغازگرها و ژنوتیپ‌ها مورد استفاده باشد.

گروه‌بندی ارقام مورد بررسی: براساس داده‌های حاصل از ضرایب تشابه، گروه‌بندی ۲۱ ژنوتیپ کلزا به روش UPGMA انجام گرفت. در این پژوهش با استفاده از ۱۱ جفت آغازگر SSR، تعداد ۷٦ باند قابل امتیازدهی (شامل باندهایی با وضوح بالا و وضوح کم) تولید شد.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

جدول ۳- تنوع آللی در مکان‌های ژنی SSR شامل تعداد باندهای چند شکل، یک شکل و کل به تفکیک آغازگرها برای ۲۱ ژنوتیپ کلزا

Table 3. Allelic diversity at SSR loci including the total number of bands, Number of polymorphic and monomorphic bands and percentage of diversity for each primer using 21 canola genotypes

ردیف Row	نام آغازگر Primer name	کل باندها Scored bands	باند چند شکل Polymorphic bands	باند یک شکل Monomorphic band	تنوع (٪) Diversity (%)
1	Na14E11	8	8	0	100
2	Na14G02	6	6	0	100
3	Na14H11	9	7	2	77.7
4	Na14H12	5	0	5	0
5	Na10A09	10	5	5	50
6	CB10403	4	0	4	0
7	BRAS051A	6	0	6	0
8	BRASo29	6	6	0	100
9	CB10036B	10	6	4	60
10	Na14E02A	5	3	2	60
11	BMRS002	7	5	2	74.4

با توجه به جدول ضرایب تشابه (نشان داده نشده) کمترین شباهت در بین ژنوتیپ‌ها، مربوط به ژنوتیپ‌های KS-11 و Licord (۷۲%) بود. همچنین بیشترین میزان شباهت بین دو ژنوتیپGerinimo و Zarfam (۹۹%) مشاهده گردید که نشان دهنده شباهت بسیار بالای این دو ژنوتیپ بود. درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) بیشترین شباهت را بین دو ژنوتیپ Zarfam و Talaye به کمک نشانگر SSR و بین دو ژنوتیپ KS-11 و KILOZ با استفاده از نشانگر ISJ گزارش نمودند. علت این تفاوت می‌تواند به دلیل اختلاف در نوع آغازگرها، و همچنین نوع نشانگر مولکولی باشد.

در وضعیت قطع دندروگرام در ضریب ۰/۸۸ گروه‌بندی بهتری از ژنوتیپ ها به دست آمد و بر این اساس، ژنوتیپ‌ها در سه گروه اصلی قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول شامل دو ژنوتیپ آلمانی(PF) و فرانسوی (Elvis) بود که دارای شباهت ژنتیکی ۸۹٪ بودند. هر دو رقم بیشترین فاصله ژنتیکی را با ژنوتیپ آلمانی (licord) داشتند. گروه دوم خود شامل دو زیر گروه بود؛ زیر گروه اول خود به تنهایی شامل ۸ ژنوتیپ آلمانی (Orient، Option504، Sarigol، Heros، RGSOO3، KS-7، Fornax، Slm096) و سه ژنوتیپ فرانسوی (Colvert،Okopi، Gerinimo) و ٤ ژنوتیپ ایرانی (Zarfam، KS-11، Kiloz، Talaye) بود که شباهت ژنتیکی آن‌ها در حدود ۹۰٪ بود. در این پژوهش ژنوتیپ‌های ایرانی (Zarfam و Talaye) در یک زیر گروه و در کنار ژنوتیپ‌های خارجی قرار گرفتند. این موضوع می‌تواند قرابت و خویشاوندی آن‌ها را نشان دهد. در این گروه ژنوتیپ آلمانی(Orient) و دانمارکی (Modena) در یک خوشه با ضریب تشابه ۰/۹۸ قرار گرفتند، در حالی که دو ژنوتیپ آلمانی (Orient،Sarigol) ضریب تشابه ۰/۹٦ داشتند. همچنین ژنوتیپ آلمانی (Option) دارای بیشترین شباهت ژنتیکی با ژنوتیپ ایرانی (Talaye) و فرانسوی (Okopi) بود که هر سه در یک خوشه با ضریب تشابه ۰/۹۸ قرار گرفتند. در این زیرگروه ژنوتیپ‌های فرانسوی (Colvert) و آلمانی (KS-7) با هم ضریب تشابه ۰/۹۸ داشتند. هچنین ژنوتیپ آلمانی (SLM096) بیشترین شباهت را با ژنوتیپ آلمانی (RGS003) و ژنوتیپ ایرانی (Kiloz) با ضریب تشابه ۰/۹۷ داشت. ژنوتیپ فرانسوی (Gerinimo) و ژنوتیپ ایرانی (Zarfam) در بین تمام ژنوتیپ‌ها دارای بیشترین شباهت (۰/۹۹) بودند. همچنین ژنوتیپ های آلمانی Heros و Fornax دو ژنوتیپ آخر در این زیر گروه هستند که اولی بهاره و دومی پائیزه می‌باشد و در یک خوشه قرار گرفته‌اند. زیرگروه دوم تنها شامل دو ژنوتیپ آلمانی (Opera) و پاکستانی (19-H) بود که شباهت ژنتیکی بین آنها ۹٤ درصد بود و با ژنوتیپ آلمانی (RGS 003) ضریب تشابه ۰/۹۵ داشتند. گروه سوم تنها شامل

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

یک ژنوتیپ آلمانی (Licord) بود که ژنوتیپی پائیزه می‌باشد. این ژنوتیپ کمترین شباهت (۰/۷٦) را با سایر ژنوتیپ‌ها داشت و به تنهایی یک گروه مجزا را تشکیل داد. در مطالعه‌ای درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) نیز این ژنوتیپ به صورت جداگانه‌ای در یک گروه قرار گرفت که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد.

تجزیه به مختصات اصلی: به منظور بررسی توزیع فضایی ژنوتیپ‌های این مطالعه بر اساس فاصله آن‌ها از همدیگر، از روش تجزیه به مختصات اصلی نیز استفاده گردید. مقایسه‌ی فواصل فضایی حاصل از نمودار سه‌بعدی و دوبعدی نشان داد که در این روش نیز، ژنوتیپ‌ها به طور مشابهی از همدیگر تفکیک شده‌اند. در این روش ژنوتیپ‌های که در تجزیه خوشه‌ای به طور جداگانه گروه‌های مجزایی را به خود اختصاص داده بودند در فاصله دورتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول در مجموع ۹٦ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند. سهم مؤلفه اول ۹۱/۷۲ درصد، مؤلفه دوم ۲/۷ و مؤلفه سوم ۱/۳درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند.

نتایج حاصل از تجزیه‌ی مولکولی (جدول ٤) داده‌ها نشان داد که میزان تنوع درون گروهی (پائیزه- بهاره) بیشتر از تنوع بین گروهی است به طوری که ۹۷ درصد تنوع مربوط به تنوع درون گروه‌ها بود. نتایج این مطالعه در این خصوص با نتایج مطالعه‌ی درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) مشابه بود. وجود تنوع درون گروهی بیشتر بدان معنی است که هتروزیگوسیتی بالایی در درون ژنوتیپ‌های یک سطح وجود دارد. علت این امر را می‌توان به مهاجرت‌های جغرافیایی و دگرگرده افشانی نسبتا بالای ارقام کلزا (۳۰%) نسبت داد.

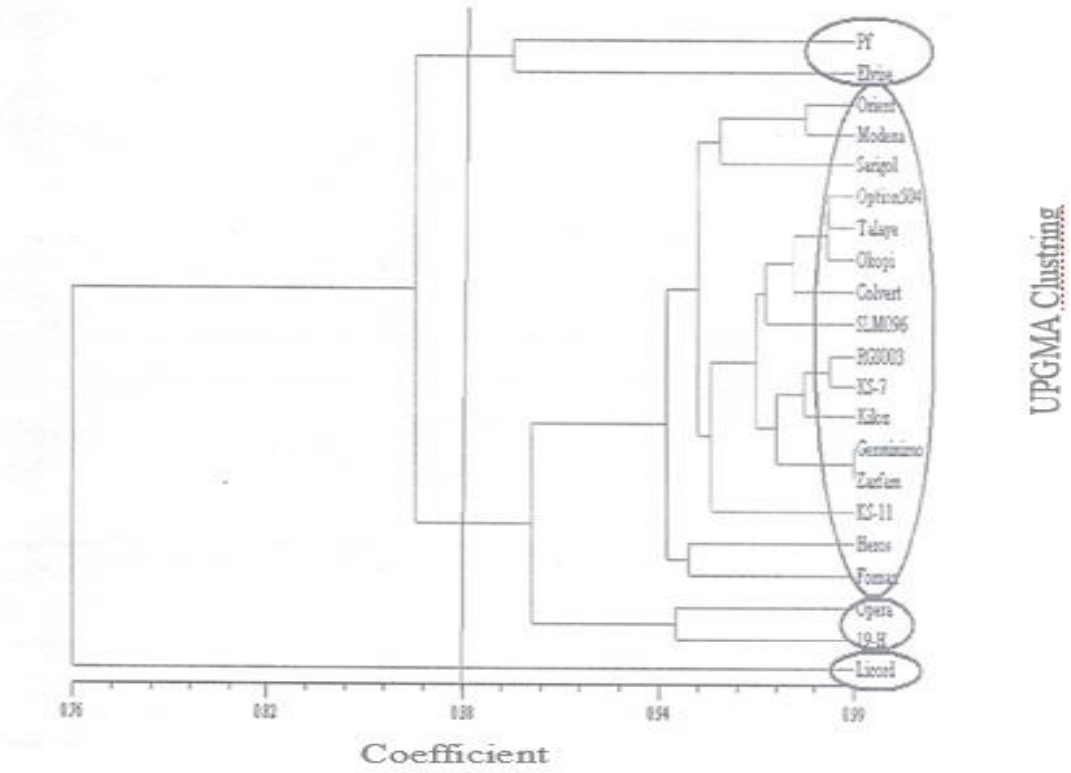
شکل ۲ نحوه‌ی پراکندگی دو جمعیت بهاره و پائیزه کلزا با استفاده از روش تجزیه به مختصات اصلی را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، جمعیت‌های بهاره بجز در یک مورد، در مجاورت هم و در یک نقطه متمرکز شده‌اند. رقم بهاره‌یH-19 از بقیه متمایز بود. منشاء این رقم پاکستان می‌باشد، در حالی که سه رقم دیگر از مناطق جغرافیایی یکسان منشا گرفته‌اند. همچنین ارقام پائیزه‌ای که دارای مناطق جغرافیایی یکسان بودند در مجاورت هم قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که گروه‌بندی حاصل از تجزیه‌ی مختصات اصلی با گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت.

شکل ۳ الگوی باندی برای داده‌های دوتایی در بین دو جمعیت کلزا را نشان می‌دهد. مقادیر عددی تعداد باند-های متفاوت و تعداد باندهای متفاوت با فراوانی بزرگتر یا مساوی ۵٪ در هرگونه را نشان می‌دهد. بیشترین تعداد باند در جمعیت‌های پائیزه و بهاره به ترتیب ۷۱ و ۷٦ باند می‌باشد. تعداد باندهای منحصر به فرد نیز برای جمعیت‌های پائیزه ۵ باند محاسبه شد. نرم افزار GeneAlex توانایی محاسبه تعداد باندهای مشترک در ۲۵٪ و ۵۰٪ جمعیت‌ها را نیز دارد. بر این اساس، نتایج نشان داد که هم در ۲۵٪ و هم در ۵۰٪ باند مشترکی مشاهده نشده است.

درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) نیز تعداد باندهای متفاوت، با فراوانی بزرگتر از ۵٪ را در جمعیت‌های بهاره و پائیزه به ترتیب ٦۵ و ۷۱ و تعداد باندهای منحصر به فرد برای گونه‌ها در جمعیت‌های بهاره و پائیزه را به ترتیب ۲ و ۸ عدد گزارش نمودند. این اختلاف جزئی می‌تواند به دلیل اختلاف در نوع آغازگر مورد استفاده باشد.

برآورد فراوانی پارامترهای تنوع ژنتیکی: جدول ۵ پارامترهای مربوط به ساختار ژنتیکی بین گروه‌ها (تنوع ژنتیکی کل، شاخص تنوع ژنی، ضریب تمایز ژنی و جریان ژنی) و درون گروه‌ها (تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های مؤثر، تنوع ژنی و شاخص شانون) را نشان می‌دهد. میانگین تنوع ژنتیکی نهایی ۰/۲۱۳٤ برآورد شد. همچنین متوسط شاخص تنوع ژنی در درون گروه‌ها مقدار ۰/۱٦۵٤ محاسبه گردید. ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها ۰/۱۳۰۱ و جریان ژنی ۳/۱۷۵٦ محاسبه شد.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]



شکل ۱- فنوگرام حاصل از روش UPGMA و ضریب تشابه Dice برای ۲۱ ژنوتیپ کلزا

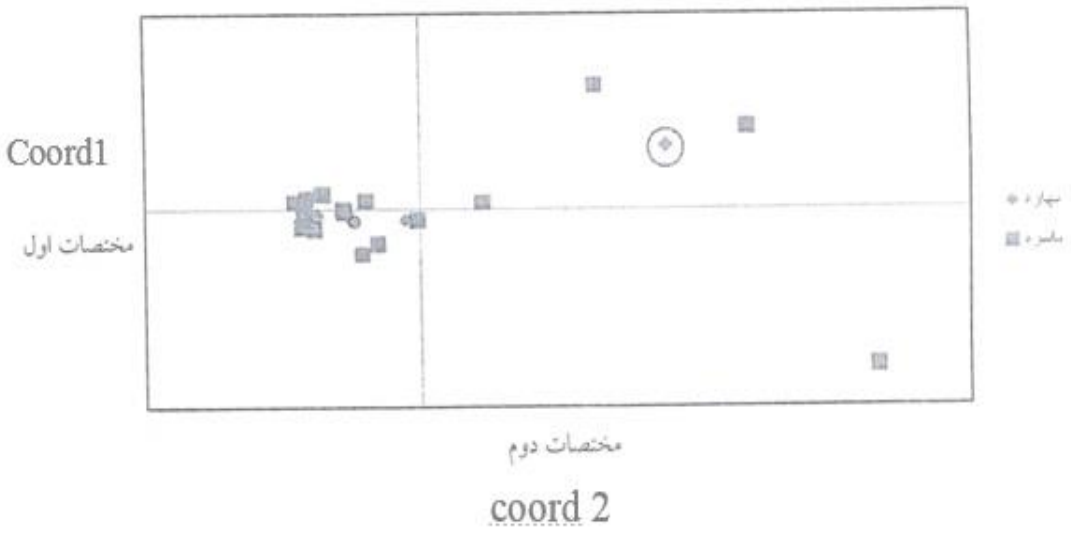
Figure 1. Phenogram of UPGMA method and Dice genetic similarity for 21 canola genotypes

جدول٤ - تجزیه واریانس مولکولی تنوع بین و درون گروهی ژنوتپ‌های کلزا به کمک نرم افزار GeneAlex

Table 4. Analysis of molecular variance (AMOVA) to measure the variation between and within groups, using GeneAlex

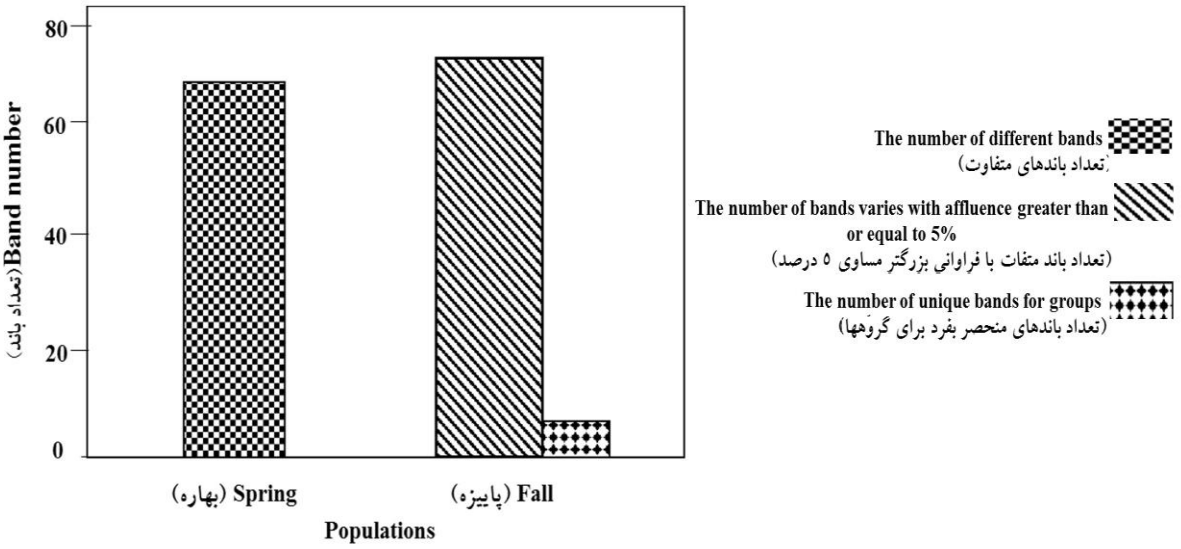
منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	اجزا واریانس Variance components	واریانس (٪) Variance (%)
بین گروه‌ها Between groups	1	3.429	3.429	0.23	3
درون گروه‌ها Within groups	19	105.809	5.569	5.569	97
کل Total sum	20	109.238	-	5.799	100

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]



شکل ۲- نمودار دو بعدی پراکندگی ژنوتیپ‌های بهاره و پاییزه کلزا با استفاده از آزمون تجزیه به مختصات اصلی

Figure 2. Two-dimensional distribution of spring and winter oilseed rape genotypes, using principal coordinate analysis



شکل ۳- الگوهای باندی با استفاده از آغازگر SSR در جمعیت‌های کلزا

Figure 3. Banding pattern, using SSR primer among oilseed rape genotypes

مقدار جریان ژنی متأثر از ضریب تمایز ژنی بین گونه‌ها بوده که با آن همبستگی منفی دارد. درویش‌نیا و همکاران (Darvishnia *et al.*, 2015) میانگین تنوع ژنتیکی نهایی را ۰/۲۱۴۵ و متوسط شاخص تنوع ژنی در درون گروه‌ها را ۰/۱۸۵۹ برآورد نمودند. ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها ۰/۱۳۳ و جریان ژنی ۳/۲۵۸۷ محاسبه شده بود که پارامترهای اندازه‌گیری شده در این دو مطالعه همخوانی نزدیکی را نشان می‌دهند.

همانطور که در جدول ٦ مشاهده می‌شود در میان جمعیت‌ها، بیشترین تعداد آلل‌های مؤثر مربوط به جمعیت های پائیزه بود. در مجموع میانگین تنوع ژنی و شاخص شانون در کل جمعیت‌ها به ترتیب ۰/۱۷۵ و ۰/۲۵٦

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

محاسبه شد که نشان می‌دهد تنوع نسبتا خوبی در درون گروه وجود دارد. میانگین تعداد آلل‌های موثر در هر لوکوس ۱/۳۱۱ برآورد شد که نزدیکی این مقدار به عدد ۲ نشان دهنده تاثیر خوب آلل‌ها در تنوع ژنتیکی و چند شکلی بالای آنهاست.

جدول ۵- شاخص‌های اندازه‌گیری شده تنوع بین گروه‌ها با استفاده از نرم افزار Popgene32

Table 5. Indicators for measuring the variation between groups using the software Popgene32

شاخص Index	تنوع ژنتیکی کل Total genetic diversity	شاخص تنوع ژنی Gene Diversity index	ضریب تمایز ژنی Coefficient of gene differentiation	جریان ژنی Gene flow
میانگین Mean	0.2134	0.1654	0.1301	3.1756
انحراف معیار Standard deviation	0.027	0.01989	–	–

جدول ٦- تخمین پارامترهای تنوع ژنتیکی در بین دو گروه کلزای بهاره و پائیزه

Table 6. Genetic diversity parameters estimations in spring and autumn groups of canola

جمعیت‌ها Population	تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)	تعداد آلل‌های موثر (Ne)	تنوع ژنی (H0)	شاخص شانون (I)
بهاره Spring	1.311	1.224	0.120	0.171
پاییزه Autumn	1.605	1.397	0.231	0.341

References

Ash, M. and Dohlman, E. (2006). *Oil crops situation and outlook yearbook. Electronic outlook report from the economic research service*. US Department of Agriculture. USA.

Azizi, M. and Khavariy-Khorasani, S. (1999). *Canola physiology, agronomy, plant breeding and biotechnology*. One Printing, Jahad Daneshgahi of Mashhad. Mashhad, Iran (In Persian).

Butruille, D.V., Guries, R.P. and Osborn, T.C. (1999). Linkage analysis of molecular markers and quantitative trait loci in populations of inbred backcross lines of Brassica napus L. *Genetics*, **153**: 949-964.

Condit, R. and Hubbell, S.P. (1991). Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. *Genome*, **34**: 66-71.

Darvishnia, F., Fakheri, B.A., Nazarian-Firouzabadi, F. and Panjehkeh, N. (2015). Genetic diversity of rapeseed (*Brassica napus* L.) using SSR and ISJ molecular markers. *Journal of Field Crop Science*, **46(1)**: 1-14 (In Persian).

Darvishian, A., Ismaili, A., Nazarian-Firouzabadi, F. and Mirdrikvand, R. (2016). Assessment of genetic diversity among wheat genotypes of west Iran, using randomized markers. *Plant Genetic Researches*, **2(2)**: 47-56 (In Persian).

Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. (1983) A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, **1**: 19-21.

Duran, C., Appleby, N., Edwards, D. and Batley, J. (2009) Molecular genetic markers: discovery, applications, data storage and visualisation. *Current Bioinformatics*, **4**: 6-27.

Farzin, A., Nourmohammadi, G. and Shiranirad, A.H. (2006). An investigation on quantitative and qualitative characters of 25 winter Rapeseed cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, **12(2):** 429-437.

Goldstein, D.B. and Schlotterer, C. (1999). *Microsatellites: evolution and applications*. Oxford university press. UK.

Quijada, P.A., Udall, J.A., Polewicz, H., Vogelzang, R.D. and Osborn, T.C. (2004). Phenotypic effects of introgressing French winter germplasm into hybrid spring canola. *Crop Science*, **44(6)**: 1982-1989.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

Hasan, M., Seyis, F., Badani, A., Pons-Kühnemann, J., Friedt, W., Lühs, W. and Snowdon, R. (2006). Analysis of genetic diversity in the Brassica napus L. gene pool using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, **53**: 793-802.

Lowe, A.J., Jones, A.E., Raybould, A.F., Trick, M., Moule, C.L. and Edwards, K.J. (2002). Transferability and genome specificity of a new set of microsatellite primers among Brassica species of the U triangle. *Molecular Ecology Notes*, **2**: 7-11.

Maguire, T., Peakall, R. and Saenger, P. (2002). Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species Avicennia marina (Forsk.) Vierh.(Avicenniaceae) detected by AFLPs and SSRs. *Theoretical and Applied Genetics*, **104**: 388-398.

Maliro, D. (2011). *Comparison of Agricultural Input Subsidies and Social Cash Transfersas Policies for Reducing Vulnerability to Hunger in Malawi*. University of East Anglia, UK.

Mohammadi, S.A., Mohebalipour, N., Toorchi, M., Aharizad, S. and Javidfar, F. (2009). Assessment of genetic diversity in rapeseed cultivars as revealed by RAPD and microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*, **8**: 3160-3167.

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

O'Donoughue, L., Souza, E., Tanksley, S. and Sorrells, M. (1994). Relationships among North American oat cultivars based on restriction fragment length polymorphisms. *Crop Science*, **34**: 1251-1258.

Panaud, O., Chen, X. and McCouch, S.R. (1995). Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome*, **38**: 1170-1176.

Piquemal, J., Cinquin, E., Couton, F., Rondeau, C., Seignoret, E., Perret, D., Villeger, M.J., Vincourt, P. and Blanchard, P. (2005). Construction of an oilseed rape (*Brassica napus* L.) genetic map with SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **111**:1514-1523.

Plieske, J. and Struss, D. (2001). Microsatellite markers for genome analysis in Brassica. I. Development in Brassica napus and abundance in Brassicaceae species. *Theoretical and Applied Genetics*, **102**: 689-694.

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.

Quijada, P.A., Udall, J.A., Lambert, B. and Osborn, T.C. (2006). Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): 1. Identification of genomic regions from winter germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, **113**: 549-561.

Rohlf, F.J. (1992). *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Applied Biostatistics. Setauket, New York, USA.

Rudolph, B., Uzunova, M. and Ecke, W. (2000). Development of microsatellite markers for the analysis of genetic diversity in rapeseed (*Brassica napus* L.), 3rd ISHS International Symposium on Brassica, 12th Crucifer Genetics Workshop, AUS.

Schlötterer, C. and Tautz, D. (1992). Slippage synthesis of simple sequence DNA. *Nucleic Acids Research*, **20**: 211-215.

Smith, G.P. (1976). Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. *Science*, **191**: 528-535.

Tonguç, M. and Griffiths, P.D. (2004). Genetic relationships of Brassica vegetables determined using database derived simple sequence repeats. *Euphytica*, **137**: 193-201.

Udall, J.A., Quijada, P.A., Lambert, B. and Osborn. T.C. (2006). Quantitative trait analysis of seed yield and other complex traits in hybrid spring rapeseed (*Brassica napus* L.): 2. Identification of alleles from unadapted germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, **113**: 597-609.

Uzunova, M. and Ecke, W. (1999). Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Plant Breeding*, **118**: 323-326.

Wang, J., Kaur, S., Cogan, N., Dobrowolski, M.P., Salisbury, P., Burton, W., Baillie, R., Hand, M., Hopkins, C. and Forster, J. (2009). Assessment of genetic diversity in Australian canola (*Brassica napus* L.) cultivars using SSR markers. *Crop and Pasture Science*, **60**: 1193-1201.

Yim, G., Ding, D., Wang, C., Leong, W. and Hong, Y. (2009). Microsatellite markers to complement distinctness, uniformity, stability testing of Brassica chinensis (*Xiao Baicai*) varieties. *The Open Horticulture Journal*, **2**: 54-61.

Yu, C., Hu, S., Zhao, H., Guo, A. and Sun, G. (2005). Genetic distances revealed by morphological characters, isozymes, proteins and RAPD markers and their relationships with hybrid performance in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **110**: 511-518.

Zhou, W., Zhang, G., Tuvesson, S., Dayteg, C. and Gertsson, B. (2006). Genetic survey of Chinese and Swedish oilseed rape (*Brassica napus* L.) by simple sequence repeats (SSRs). *Genetic Resources and Crop Evolution*, **53**: 443-447.

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

Assessment of Genetic Diversity Among some Oilseed Rape (*Brassica nupus* L.) Plants, using Single Sequence Repeats (SSR) Molecular Markers

Hadi Karimbeigi[1], Farhad Nazarian-Firouzabadi[2,*], Mitra Khademi[3] and Elham Mousavi[1]

1- Former M.Sc. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3- Ph.D Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: September 14, 2015 – Accepted: January 20, 2016)

Abstract

Oilseed rape (*Brassica nupus* L), a member of Brassicaceae family, is an important crop regarding oil production worldwide. Brassicaceae is an economically important family of flowering plants with about 350 genera and more than 3000 species. Eleven pairs of single sequence repeat (SSR) primers were used to identify the genetic diversity among 21 oilseed rape genotypes. Results of SSR molecular marker analysis revealed that SSR primers produced a total number of 76 scorable bands of which 46 (60.5%) bands were polymorphics. The average number of bands for each primer and genotype was 6.9 and 3.6, respectively. Both CB10036B and Na10A09 primers produced 10 and Cb10403 primer produced 4 polymorphic bands, respectively. UPGMA cluster analysis based on Dice similarity matrix showed that Zarfam and Gerinimo genotypes had the highest (0.99%) and Licord and KS-11 genotypes had the lowest (0.72%) similarity. Both Iranian and foreign genotypes were grouped together in one major cluster, indicating presumably they may have the same origin and/or common pedigree. Results of AMOVA analysis within and between groups (spring – Autumn) revealed that almost 97% of total genetic diversity belonged to within group genotypes.

Keywords: Microsatellite, Canola, Clustering, Polymerase chain reaction

[Downloaded from journals.lu.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.23831367.1395.3.1.4.3]
[DOI: 10.29252/pgr.3.1.45]

* **Corresponding Author, E-mail: nazarian.f@lu.ac.ir**