مقاله پژوهشی

روابط ژنتیکی بین و درون گونه‌ای .*Lepidium* L با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR، ISSR و SCoT

نیلوفر جلوه‌گر[1]، سید مهدی میری (نویسنده مسئول)[2*]، خداداد مصطفوی[3] و عبداله محمدی[4]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، jelvehgarn@gmail.com

۲*- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران،smmiri@kiau.ac.ir

۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، mostafavi@kiau.ac.ir

۴- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، a-mohamadi@kiau.ac.ir

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۱

Inter- and intra-specific genetic relationships of *Lepidium* L. using SSR, ISSR and SCoT molecular markers

Niloufar Jelvehgar[1], Seied Mehdi Miri (Corresponding author)[2*] and Khodadad Mostafavi[3], Abdollah Mohammadi[3]

1- Ph.D Student, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. jelvehgarn@gmail.com

2*- Associate Professor, Department of Horticulture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. smmiri@kiau.ac.ir

3- Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. mostafavi@kiau.ac.ir

4- Associate Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. mohamadi@kiau.ac.ir

Received: August 2022 Accepted: December 2022

Abstract

Lepidium L. is one of the important genera of Brassicaceae family, which is mostly distributed in Central, Middle and Southwest Asia, and some of its species are used as medicinal plants or vegetables. The study of genetic diversity using molecular markers plays a very important role in breeding programs and preservation of genetic resources. In this regard, comparison of different molecular markers in diversity variation is very important. In the present research, inter- and intra-specific genetic relationships of 22 *Lepidium* spp. populations were evaluated using SSR (simple sequence repeats), ISSR (inter simple sequence repeats) and SCoT (start codon targeted) molecular markers. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed much higher variance within species than among species in all three markers. The highest intra-specific variance (88%) was obtained by SCoT markers. The results of genetic similarity matrix generated by SSR, ISSR and SCoT markers by Mantel's test showed that the correlation between SSR and ISSR was highest (r = 0.84), followed by ISSR and SCoT (r = 0.74), then by SSR and SCoT (r = 0.57). According to Nei's genetic distance among the 22 populations of *Lepidium* spp., the highest similarity (r = 1.00) was found between Tabas 3 (*L. latifolium*) and Khusf (*L. draba*) using SSR markers; Khatam and Mehriz (*L. latifolium*), Tabas 1 (*L. latifolium*) and Sarbisheh (*L. draba*), Tabas 3 (*L. latifolium*) and Khusf (*L. draba*), Nir and Saveh (*L. draba*), Isfahan and Arak (*L. sativum*), Tehran and Qazvin (*L. sativum*) using ISSR markers; and Khatam and Mehriz (*L. latifolium*) as well as Nir and Saveh (*L. draba*) using SCoT markers. Based on the genetic distances between the populations, we can use cross between Sarbisheh (*L. draba*) with Mashhad (*L. sativum*), Tabas 3 (*L. latifolium*) and Khusf (*L. draba*) with Tehran and Qazvin (*L. sativum*), and Sarbisheh (*L. draba*) with Arak (*L. sativum*) to obtain the highest amount of heterosis in future breeding programs. Overall, the results indicated the usefulness of these three markers to estimate genetic distance among *Lepidium* L. populations.

Keywords: Analysis of molecular variance, Brassicaceae family, Genetic relationship, Molecular markers

چکیده

یکی از جنس‌های مهم تیره شب‌بو .*Lepidium* L می‌باشد که بیشتر در آسیای مرکزی، میانه و جنوب غربی پراکنش داشته و برخی از گونه‌های آن به عنوان گیاه دارویی یا سبزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های بهنژادی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی نقش بسیار مهمی دارد. در تحقیق حاضر، روابط ژنتیکی بین و درون گونه‌ای ۲۲ توده .*Lepidium* spp با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR، ISSR و SCoT مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) حاکی از تنوع درون گونه‌ای بالاتری نسبت به بین گونه‌ای در هر سه نشانگر بود. بالاترین تنوع درون گونه‌ای (۸۸ درصد) نیز با نشانگرهای SCoT بدست آمد. نتایج ماتریس تشابه ژنتیکی نشانگرهای SSR، ISSR و SCoT توسط آزمون مانتل نشان داد که بالاترین همبستگی بین نشانگرهای SSR و ISSR (r= ۰/۸۴) وجود دارد و به دنبال آن ISSR و SCoT (r = ۰/۷۴) و سپس SSR و SCoT (r= ۰/۵۷) بودند. بر مبنای تشابه ژنی نی بین ۲۲ توده .*Lepidium* spp، بالاترین شباهت (r= ۱/۰۰) بین توده‌های طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*) با استفاده از نشانگرهای SSR، خاتم و مهریز (*L. latifolium*)، طبس ۱ (*L. latifolium*) و سربیشه (*L. draba*)، طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*)، نیر و ساوه (*L. draba*)، اصفهان و اراک (*L. sativum*) و نیز تهران و قزوین (*L. sativum*) بر اساس نشانگرهای ISSR و همچنین خاتم و مهریز (*L. latifolium*) و نیر و ساوه (*L. draba*) بر مبنای نشانگرهای SCoT مشاهده شد. با توجه به فاصله ژنتیکی توده‌ها نسبت به هم، در برنامه‌های بهنژادی برای بدست آوردن بالاترین مقدار هتروزیس، تلاقی توده‌های سربیشه (*L. draba*) با مشهد (*L. sativum*)، طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*) با تهران و قزوین (*L. sativum*) و سربیشه (*L. draba*) با اراک (*L. sativum*) قابل توجیه است.

کلمات کلیدی: تجزیه واریانس مولکولی، تیره شب بو، روابط ژنتیکی، نشانگرهای مولکولی

مقدمه و کلیات

تیره شب‌بو (Brassicaceae) یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی در جهان و ایران می‌باشد. ناحیه ایرانی-تورانی اولین مرکز پیدایش بوم‌زادی در این تیره است و ۱۰۰ جنس و ۳۵۹ گونه آن در ایران وجود دارد. جنس *Lepidium* L. یکی از سه جنس این تیره هست که در همه قاره‌ها حضور دارد (میرزاده واقفی و محمودی، ۱۴۰۰) و در ایران ۱۶ (Nasseh and Joharchi, 2019) یا ۱۷ (میرزاده واقفی و محمودی، ۱۴۰۰) گونه شناسایی آن شده است. برخی از گونه‌ها همانند *L. draba* (ازمک) و *L. latifolium* (ترتیزک برگ پهن یا موچه) توسط اهالی ایران شناخته شده و در درمان بیماری‌های دستگاه‌های تنفسی، ادراری و تناسلی، گردش خون و نیز مغز و اعصاب و اختلالات متابولیسمی مصرف می‌شوند. برخی از گیاهان این جنس مثل *L. sativum* (شاهی) نیز جزو سبزی‌ها قرار دارند و توسط مردم به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند (دهشیری، ۱۳۹۹؛ Roughani and Miri, 2018). شناسایی و به کارگیری تنوع ژنتیکی در اصلاح گیاهان اهمیت ویژه‌ای دارد و با دانستن روابط ژنتیکی بین گونه‌ها یا ژنوتیپ‌ها می‌توان برای بهره‌گیری بهتر از منابع ژنتیکی در تلاقی‌ها بهره برد (مرتضوی مقدم و همکاران، ۱۳۹۴؛ Roughani *et al.*, 2018b). نشانگرهای مولکولی DNA یکی از قدرتمندترین ابزارها برای مطالعات تنوع ژنتیکی، روابط فیلوژنتیک و انتخاب گیاهان برتر هستند. هر کدام از این نوع نشانگرها مزایا و معایب خود را دارند. بنابراین، ترکیب چندین نوع نشانگر می‌تواند برای درک بهتر تنوع ژنتیکی مفیدتر باشد (Mirzaei, 2021). تاکنون مطالعات متعددی به بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های *Lepidium* L. با استفاده از نشانگرهای مولکولی پرداخته است (Jelvehgar *et al.*, 2021). با این حال به نظر می‌رسد بررسی نشانگرهای مولکولی مختلف و مقایسه کارایی آنها در برآورد تنوع و روابط ژنتیکی ضروری باشد. مطالعه حاضر به منظور بررسی روابط ژنتیکی توده‌های سه گونه *Lepidium* spp. با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR، ISSR و SCoT به اجرا درآمد.

فرآیند پژوهش

مواد گیاهی این پژوهش شامل ۲۲ توده از سه جنس *Lepidium* spp. بودند که بذر ۱۴ توده گونه‌های *L. draba* و *L. latifolium* از موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۶ توده *L. sativum* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران و ۶ توده *L. sativum* کشاورزان محلی تهیه شدند (جدول ۱).

جدول ۱- محل جمع‌آوری و کد ۲۲ توده *Lepidium* spp. مورد استفاده در این پژوهش

Table 1- The collection site and code of 22 populations of *Lepidium* spp. used in this research

شماره	گونه	استان، شهر	کد
۱	*L. latifolium*	یزد، خاتم	۳۳۸۴۵
۲	*L. latifolium*	یزد، طبس	۳۳۸۲۸
۳	*L. latifolium*	یزد، طبس	۳۳۷۶۰
۴	*L. latifolium*	یزد، طبس	۳۳۷۸۰
۵	*L. latifolium*	یزد، مهریز	۳۳۸۱۳
۶	*L. latifolium*	اصفهان، شهرضا	۲۷۲۶۲
۷	*L. latifolium*	یزد، تفت	۳۳۶۷۸
۸	*L. draba*	کهکیلویه و بویراحمد، یاسوج	۳۱۲۱۴
۹	*L. draba*	همدان، همدان	۴۳۶۹۹
۱۰	*L. draba*	خراسان جنوبی، سربیشه	۴۱۶۱۸
۱۱	*L. draba*	اردبیل، نیر	۳۶۸۳۴
۱۲	*L. draba*	همدان، اسدآباد	۳۳۱۶۹
۱۳	*L. draba*	خراسان جنوبی، خوسف	۴۴۴۸۵
۱۴	*L. draba*	مرکزی، ساوه	۳۵۴۱۸
۱۵	*L. sativum*	اصفهان، اصفهان	P۱۰۱۲۴۸۴
۱۶	*L. sativum*	تهران، تهران	P۱۰۱۳۴۷۳
۱۷	*L. sativum*	آذربایجان شرقی، تبریز	–*
۱۸	*L. sativum*	خراسان رضوی، مشهد	P۱۰۱۲۲۳۰
۱۹	*L. sativum*	مرکزی، اراک	P۱۰۱۲۴۴۰
۲۰	*L. sativum*	گیلان، رشت	P۱۰۱۲۲۷۶
۲۱	*L. sativum*	قزوین، قزوین	P۱۰۱۲۳۲۴
۲۲	*L. sativum*	آذربایجان غربی، ارومیه	–

*: تهیه شده از کشاورزان محلی

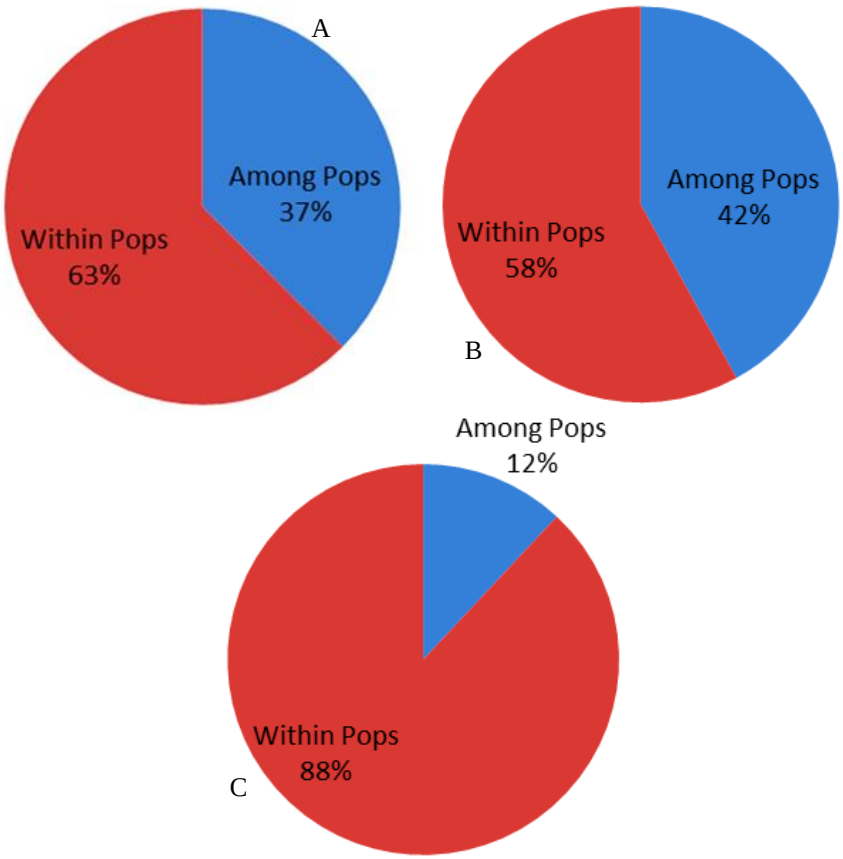
DNA ژنومی از ۰/۱ گرم بافت تازه برگ‌های جوان با استفاده از کیت تجاری Qiagen (Cat. No. 69104, USA) استخراج شد. کیفیت DNA نیز توسط اسپکتوفتومتر و ژل آگارز ۰/۷ درصد ارزیابی گردید. ۱۴ آغازگر از هر کدام از نشانگرهای SSR (Lowe *et al*., 2002; Tadesse *et al*., 2018)، ISSR (Kaur *et al*., 2015; Mohammed and Tesfaye, 2015; Srivastava *et al*., 2017) و SCoT (Luo *et al*., 2011; Pour-Aboughadareh *et al*., 2017) انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند. تکثیر PCR در حجم واکنش ۱۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA (با غلظت ۲۰ نانوگرم بر میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر آغازگر، ۵ میکرولیتر مسترمیکس Amplicon ۲x و ۳ میکرولیتر آب دیونیزه انجام گرفت. دمای اتصال بهینه هر آغازگر با استفاده از دستگاه Gradient PCR تعیین شد. تکثیر PCR در ترموسایکلر با واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشته سازی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر در دمای بهینه سازی شده برای هر آغازگر به مدت ۱ دقیقه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد. محصولات PCR در ژل آگارز ۲ درصد برای نشانگرهای SSR و ۱/۵ درصد برای

نشانگرهای ISSR و SCoT با بافر TAE به مدت یک ساعت در ولتاژ ۱۰۰ ولت از یکدیگر تفکیک شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید عکس برداری شدند. الگوهای باندی بر اساس معیار وجود باند (۱) و عدم وجود باند (۰) امتیازدهی شدند و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از نرم‌افزار GenALEx ver. 6.5 انجام شد. جهت بررسی همسویی نتایج داده‌های نشانگرهای مولکولی از آزمون مانتل (Mantel, 1967) و نرم‌افزار XLSTAT استفاده گردید. محاسبه ضرایب ماتریس تشابه ژنی نی (Nei, 1973) نیز به وسیله نرم‌افزار NTSYS انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

به منظور بررسی میزان تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای، تجزیه واریانس مولکولی انجام و نتایج آن در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده بر اساس ماتریس داده‌های هر سه نشانگر، بیشترین سهم تنوع ژنتیکی مربوط به درون گونه‌ها بود. درصد سهم واریانس درون گونه‌ای بر اساس نشانگرهای SSR، ISSR و SCoT به ترتیب برابر ۶۳، ۵۸ و ۸۸ درصد برآورد شد. بالا بودن واریانس درون گونه‌ای مشاهده شده می‌تواند بیانگر تنوع آللی گسترده در هر سه گونه *Lepidium* L. باشد؛ زیرا ایران به عنوان یکی از مراکز تنوع *Lepidium* L. مطرح بوده که این امر می‌تواند سبب بروز سطح بالایی از تنوع درون گونه‌ای نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه شود. تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و گونه‌های *Lepidium* L. جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران قبلاً با استفاده از نشانگرهای مورفولوژی (دیانت و حسینی، ۱۳۹۶؛ Roughani *et al*., 2018a & 2018c)، میکرومورفولوژی (Roughani *et al*., 2021)، RAPD (مرتضوی مقدم و همکاران، ۱۳۹۴) و حجم DNA هسته‌ای (Roughani *et al*., 2021) گزارش شده است.

از طرف دیگر، اگر چه هر سه نشانگر سهم بالایی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای را نشان دادند، با این حال آغازگرهای SCoT موفق به ارائه میزان تنوع درون گونه‌ای بیشتری بودند که ممکن است مربوط به ماهیت این سیستم نشانگری باشد که به واسطه استفاده از آغازگرهایی بر اساس نواحی کوتاه حفاظت شده اطراف کدون آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی شده است (Collard and Mackill, 2009). این نتایج با یافته‌های پورابوقداره و همکاران (۱۳۹۸) روی *Aegilops sp.* و Guo و همکاران (۲۰۱۸) روی *Bletilla striata* مطابقت دارد.

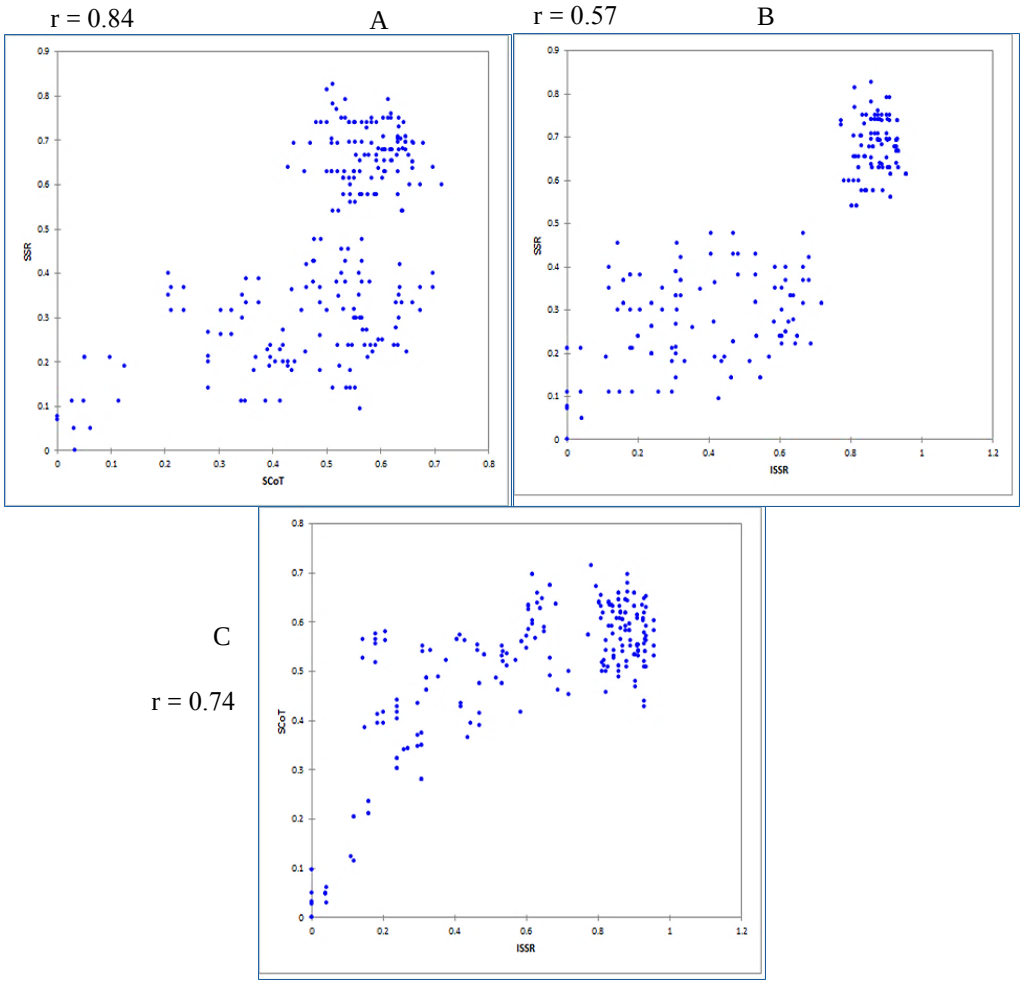


شکل ۱- برآورد نسبت واریانس ژنتیکی بین و درون گونه‌ای *Lepidium* spp. توسط نشانگرهای SSR (A)، ISSR (B) و SCoT (C)

Fig 1- Estimated of the genetic variance among and within of *Lepidium* spp. by SSR (A), ISSR (B) and SCoT (C) markers

نتایج همبستگی ماتریس‌های شباهت ژنتیکی بین داده‌های نشانگرهای مولکولی با استفاده از آزمون مانتل نشان داد که بیشترین همبستگی بین نشانگرهای SSR و ISSR (r = ۰/۸۴) و کمترین همبستگی بین SSR و SCoT (r= ۰/۵۷) وجود دارد (شکل ۲). ضرایب r ≥ ۰/۹، ۰/۸ ≤r< ۰/۹، ۰/۷ ≤r< ۰/۸، r< ۰/۷ به ترتیب نشان دهنده همبستگی معنی‌دار، متوسط، ضعیف و بدون معنی می‌باشد (Zhang *et al.*, 2018). بر این اساس، همبستگی ماتریس تشابه داده‌های نشانگرهای مولکولی SSR و ISSR متوسط، ISSR و SCoT ضعیف و SSR و SCoT بی‌معنی است. Zhang و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند که همبستگی بین ماتریس شباهت ژنتیکی بر اساس EST-SSR و SCoT کمتر از EST-SSR و SRAP بود. آغازگرهای SSR یا ریزماهواره‌ها بر مبنای نواحی DNA غیر کد کننده ۱ تا ۶ جفت بازی پشت سر هم تکرار شونده طراحی می‌شوند و آغازگرهای ISSR بر اساس بخش‌های حدود ۱۰۰-۳۰۰۰ جفت بازی بین دو منطقه ریزماهواره می‌باشند (De Pace *et al.*, 2013)، در حالیکه نشانگرهای SCoT بر اساس تنوع در ناحیه حفظ شده کدون آغاز ATG عمل می‌کنند (Collard and Mackill, 2009). بنابراین، استفاده از نشانگرهای مختلف جهت برآورد تنوع ژنتیکی و

گروه‌بندی گونه‌های گیاهی به دلیل پوشش مناطق مختلفی از ژنوم حائز اهمیت است (Marakli, 2018).



شکل ۲- همبستگی ماتریس‌های شباهت ژنتیکی بین داده‌های نشانگرهای مولکولی SSR-ISSR (A)، SSR-SCoT (B) و ISSR-SCoT (C) توسط آزمون مانتل

Fig 2- The correlation of genetic similarity matrices between molecular markers data of SSR-ISSR (A), SSR-SCoT (B) and ISSR-SCoT (C) using Mantel's test

ضرایب تشابه ژنی نی بین ۲۲ توده *Lepidium* spp. در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس ماتریس تشابه ژنتیکی نی در نشانگرهای SSR، نزدیک‌ترین توده‌ها طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*) بودند (r = ۱/۰۰). ضریب تشابه ژنی نی بین توده‌های خاتم و مهریز (*L. latifolium*)، طبس ۱ (*L. latifolium*) و سربیشه (*L. draba*)، طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*)، نیر و ساوه (*L. draba*)، اصفهان و اراک (*L. sativum*) و نیز تهران و قزوین (*L. sativum*) بر اساس نشانگرهای ISSR برابر ۱ بدست آمد. بر مبنای نشانگرهای SCoT، نزدیک‌ترین تشابه توده‌ها بین خاتم و مهریز (*L. latifolium*) و همچنین نیر و ساوه (*L. draba*) مشاهده شد (r = ۱/۰۰). شباهت بالای برخی از توده‌های مربوط به دو گونه مختلف مشابه نتایج روغنی (۱۳۹۶) بر اساس صفات مورفولوژیک بذر *Lepidium* spp. بوده است. دیانت و حسینی (۱۳۹۶) نیز گزارش کردند جمعیت‌های *L. draba* به دلیل وجود تنوع ژنتیکی بالا، بر اساس صفات مورفولوژیکی به طور کامل از هم تفکیک نشدند. این امر می‌تواند به دلیل وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای، جریان ژنی موجود در توده‌ها و نیز احتمال وجود اجداد مشترک بین گونه‌ها باشد.

جدول ۲- ضرایب تشابه ژنی نی بین ۲۲ توده *Lepidium* spp. توسط نشانگرهای SSR (A)، ISSR (B) و SCoT (C). شماره توده‌ها مطابق جدول ۱ است.

Table 2- Nei gene similarity coefficients among 22 populations of *Lepidium* spp. using SSR (A), ISSR (B) and SCoT (C) markers. The number of populations is according to Table 1.

A

توده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
۲	۰/۸۷																				
۳	۰/۸۵	۰/۹۱																			
۴	۰/۸۷	۰/۹۳	۰/۹۸																		
۵	۰/۹۸	۰/۸۹	۰/۸۷	۰/۸۹																	
۶	۰/۸۰	۰/۹۱	۰/۹۷	۰/۹۵	۰/۸۲																
۷	۰/۸۵	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۸۷	۰/۸۹															
۸	۰/۸۰	۰/۸۷	۰/۹۳	۰/۹۱	۰/۸۲	۰/۹۳	۰/۹۳														
۹	۰/۸۵	۰/۹۱	۰/۹۳	۰/۹۵	۰/۸۷	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۸۹													
۱۰	۰/۸۷	۰/۹۷	۰/۹۱	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۸۷	۰/۸۷	۰/۹۱												
۱۱	۰/۹۵	۰/۸۹	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۷	۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۲	۰/۸۷	۰/۸۵											
۱۲	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۵۴	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۶۴										
۱۳	۰/۸۷	۰/۹۳	۰/۹۸	۱/۰۰	۰/۸۹	۰/۹۵	۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۵۷									
۱۴	۰/۹۳	۰/۸۷	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۹۵	۰/۸۵	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۹	۰/۸۷	۰/۹۸	۰/۶۰	۰/۹۱								
۱۵	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۶۴	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۷۲	۰/۶۰	۰/۶۷	۰/۵۰	۰/۶۴	۰/۸۰	۰/۶۴	۰/۶۰							
۱۶	۰/۶۰	۰/۶۴	۰/۶۰	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۵۴	۰/۷۲	۰/۶۷	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۹۷	۰/۶۴	۰/۶۰	۰/۸۵						
۱۷	۰/۵۴	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۵۷	۰/۵۴	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۹۷	۰/۵۷	۰/۵۴	۰/۸۵	۰/۹۷					
۱۸	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۴۶	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۴۶	۰/۴۲	۰/۶۴	۰/۹۳	۰/۵۰	۰/۶۰	۰/۸۰	۰/۸۹	۰/۹۳				
۱۹	۰/۶۷	۰/۶۴	۰/۶۷	۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۶۰	۰/۷۲	۰/۶۰	۰/۶۷	۰/۵۷	۰/۷۰	۰/۸۹	۰/۷۰	۰/۶۷	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۸۹	۰/۸۵			
۲۰	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۹۳	۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۸۹	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۹۳	۰/۹۱	۰/۸۷	۰/۶۰	۰/۹۱	۰/۸۵	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۵۴	۰/۶۷		
۲۱	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۵۴	۰/۷۲	۰/۶۷	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۶۴	۰/۹۳	۰/۶۴	۰/۶۷	۰/۸۵	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۵۴	
۲۲	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۶۰	۰/۵۷	۰/۵۷	۰/۵۴	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۹۷	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۸۰	۰/۹۳	۰/۹۷	۰/۹۳	۰/۸۹	۰/۵۴	۰/۹۷

بررسی اثر پوسته های زیستی (Biological crusts) بر برخی خصوصیات خاک. **۹**

B

توده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
۲	۰/۹۳																				
۳	۰/۹۷	۰/۹۵																			
۴	۰/۹۶	۰/۹۵	۰/۹۹																		
۵	۱/۰۰	۰/۹۳	۰/۹۷	۰/۹۶																	
۶	۰/۹۰	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۸۷	۰/۹۰																
۷	۰/۶۸	۰/۷۴	۰/۷۳	۰/۷۱	۰/۶۸	۰/۷۸															
۸	۰/۸۵	۰/۸۳	۰/۸۶	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۹۳	۰/۸۵														
۹	۰/۷۹	۰/۷۹	۰/۸۳	۰/۸۲	۰/۷۹	۰/۹۲	۰/۸۴	۰/۹۰													
۱۰	۰/۹۳	۱/۰۰	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۸۵	۰/۷۴	۰/۸۳	۰/۷۹												
۱۱	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۸۷	۰/۷۱	۰/۸۳	۰/۷۹	۰/۹۳											
۱۲	۰/۴۷	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۴۹	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۵										
۱۳	۰/۹۶	۰/۹۵	۰/۹۹	۱/۰۰	۰/۹۶	۰/۸۷	۰/۷۱	۰/۸۵	۰/۸۲	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۴۳									
۱۴	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۸۷	۰/۷۱	۰/۸۳	۰/۷۹	۰/۹۳	۱/۰۰	۰/۵۵	۰/۹۵								
۱۵	۰/۴۷	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۵	۰/۹۶	۰/۴۳	۰/۵۵							
۱۶	۰/۴۵	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۴۹	۰/۵۳	۰/۹۹	۰/۴۱	۰/۵۳	۰/۹۵						
۱۷	۰/۴۷	۰/۵۵	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۴۹	۰/۵۵	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۹۶	۰/۴۳	۰/۵۵	۰/۹۵	۰/۹۵					
۱۸	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۶۷	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۷۰	۰/۵۹	۰/۶۴	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۷۴	۰/۷۷	۰/۶۵	۰/۷۴	۰/۷۷	۰/۷۵	۰/۷۹				
۱۹	۰/۴۷	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۵۵	۰/۹۶	۰/۴۳	۰/۵۵	۱/۰۰	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۷۷			
۲۰	۰/۷۵	۰/۷۸	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۸۸	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۹۷	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۵۷	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۵۳	۰/۵۹	۰/۵۳	۰/۶۴	۰/۵۳		
۲۱	۰/۴۵	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۳	۰/۴۹	۰/۵۳	۰/۹۹	۰/۴۱	۰/۵۳	۰/۹۵	۱/۰۰	۰/۹۵	۰/۷۵	۰/۹۵	۰/۵۹	
۲۲	۰/۵۳	۰/۶۰	۰/۵۱	۰/۴۹	۰/۵۳	۰/۵۵	۰/۵۷	۰/۵۹	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۶۰	۰/۹۴	۰/۴۹	۰/۶۰	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۷	۰/۸۳	۰/۹۲	۰/۵۹	۰/۹۳

C

توده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
۲	۰/۸۷																				
۳	۰/۹۴	۰/۸۴																			
۴	۰/۹۴	۰/۸۴	۰/۹۸																		
۵	۱/۰۰	۰/۸۷	۰/۹۴	۰/۹۴																	
۶	۰/۷۵	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۵																
۷	۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۲	۰/۸۴															
۸	۰/۸۱	۰/۷۳	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۸۴														
۹	۰/۷۸	۰/۶۹	۰/۸۱	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷۶	۰/۸۷	۰/۸۰													
۱۰	۰/۸۸	۰/۹۹	۰/۸۵	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۷۵	۰/۶۷	۰/۷۵	۰/۶۸												
۱۱	۰/۹۲	۰/۸۱	۰/۹۰	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۷۸	۰/۷۱	۰/۸۳	۰/۷۵	۰/۸۳											
۱۲	۰/۷۵	۰/۷۸	۰/۷۳	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۹	۰/۶۸	۰/۷۷	۰/۶۸										
۱۳	۰/۹۳	۰/۸۳	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۳	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۸۶	۰/۸۰	۰/۸۴	۰/۹۱	۰/۷۲									
۱۴	۰/۹۲	۰/۸۱	۰/۹۰	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۷۸	۰/۷۱	۰/۸۳	۰/۷۵	۰/۸۳	۱/۰۰	۰/۶۸	۰/۹۱								
۱۵	۰/۷۲	۰/۵۹	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۲	۰/۷۵	۰/۷۷	۰/۷۹	۰/۷۶	۰/۶۱	۰/۶۸	۰/۷۲	۰/۷۵	۰/۶۸							
۱۶	۰/۷۵	۰/۸۰	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۷۵	۰/۶۴	۰/۶۴	۰/۶۹	۰/۶۸	۰/۷۹	۰/۶۸	۰/۹۸	۰/۷۵	۰/۶۸	۰/۷۲						
۱۷	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۶۵	۰/۶۲	۰/۶۸	۰/۷۲	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۸۵	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۷۱	۰/۸۳					
۱۸	۰/۷۷	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۸	۰/۷۷	۰/۷۲	۰/۶۴	۰/۶۷	۰/۶۵	۰/۷۵	۰/۷۳	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۳	۰/۷۵	۰/۷۷	۰/۶۲				
۱۹	۰/۷۲	۰/۵۶	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۲	۰/۷۵	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۶	۰/۵۸	۰/۶۸	۰/۶۹	۰/۷۵	۰/۶۸	۰/۹۸	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۷۲			
۲۰	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۷۹	۰/۷۷	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۸۵	۰/۷۸	۰/۹۷	۰/۷۱	۰/۶۹	۰/۶۸	۰/۷۸	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۶۸	۰/۷۲	۰/۶۵	۰/۷۶		
۲۱	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۹	۰/۶۸	۰/۷۵	۰/۶۸	۰/۹۸	۰/۷۲	۰/۶۸	۰/۶۹	۰/۹۷	۰/۸۵	۰/۷۵	۰/۶۹	۰/۶۸	
۲۲	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۷۷	۰/۷۵	۰/۷۸	۰/۶۵	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۷۵	۰/۸۷	۰/۷۶	۰/۷۵	۰/۷۳	۰/۸۵	۰/۹۷	۰/۶۸	۰/۷۳	۰/۶۹	۰/۸۷

از طرفی دیگر، کمترین ضریب تشابه ژنتیکی نی در نشانگرهای SSR بین توده‌های سربیشه (*L. draba*) با مشهد (*L. sativum*) (r= ۰/۴۲)، در نشانگرهای ISSR بین دو توده طبس ۳ (*L. latifolium*) و خوسف (*L. draba*) با تهران و قزوین (*L. sativum*) (r= ۰/۴۱) و در نشانگرهای SCoT بین توده‌های سربیشه (*L. draba*) با اراک (*L. sativum*) (r= ۰/۵۸) مشاهده شد (جدول ۲) که از آنها در صورت داشتن صفات مطلوب می‌توان جهت بدست آوردن بیشترین مقدار هتروزیس در تلاقی‌های بین و درون گونه‌ای بهره برد (Roughani *et al.*, 2018a & 2018c).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالای توده‌های *Lepidium* spp. بوده که می‌تواند در برنامه-های اصلاحی و حفاظت ژرم‌پلاسم مورد استفاده قرار گیرد. فاصله ژنتیکی مشاهده شده نیز می‌تواند برای انجام تلاقی بین توده‌ها به منظور بالا بردن کیفیت و کمیت عملکرد در برنامه‌های تولید دورگ به کار رود.

منابع

۱) پورابوقداره، ع.، اطمینان، ع.، شوشتری، ل. و ن، ملکی‌تبریزی. ۱۳۹۸. ارزیابی مقایسه‌ای نشانگرهای CBDP و SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های مختلف *Aegilops* مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. ۱۱(۴): ۱۵۳-۱۷۴.

۲) دهشیری، م م. ۱۳۹۹. مروری بر کاربردهای سنتی گیاهان دارویی تیره شب‌بو در ایران. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۳(۴): ۹۱۸-۹۰۷.

۳) دیانت، م. و. س م، حسینی. ۱۳۹۶. تغییرات مورفولوژیکی جمعیت‌های ازمک (*Lepidium draba* L.) در ایران. مجله پژوهشهای گیاهی، ۳۰(۱): ۹۸-۸۵.

۴) روغنی، ا. ۱۳۹۶. مطالعه تنوع مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی برخی از جمعیت‌ها و گونه‌های *Lepidium*. رساله دکتری تخصصی باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات تهران.

۵) مرتضوی مقدم، ف. ا.، شریفی‌سیرچی، غ ر. و. ا، قادری. ۱۳۹۴. ارزیابی تنوع ژنتیکی میان جمعیتهای مختلف ترتیزک (*Lepidium sativum*). زیست فناوری گیاهان دارویی، ۱(۲): ۱۱۱-۹۷.

۶) میرزاده‌واقفی، س س. و. م، محمودی. ۱۴۰۰. تیره Brassicaceae (شب‌بو) در ایران. نشریه طبیعت ایران، ۶(۶): ۶۳-۵۱.

7) Collard, B.C.Y. and D.J, Mackill. 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.

8) De Pace, C., Ricciardi, L., Kumar, A., Pavan, S., Lotti, C., Dixit, S. and C, Emani. 2013. Genomics and breeding for climate-resilient crops, Vol. 1. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg.*

9) Guo, Y., Zhai, L., Long, H., Chen, N., Gao, Ch., Ding, Zh. and B. Jin. 2018. Genetic diversity of *Bletilla striata* assessed by SCoT and IRAP markers. *Hereditas*, 155: Article number 35.

10) Jelvehgar, N., Miri, S.M., Mostafavi, Kh. and A, Mohammadi. 2021. Genetic analysis of *Lepidium* spp. by SSR and ISSR molecular markers. *Plant Gene*, 28(100332).

11) Kaur, A., Kumar, R., Rani, S. and A, Grewal. 2015. Genetic diversity analysis of *Lepidium sativum* (Chandrasur) using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Forestry Research*, 26: 107-114.

12) Lowe, A., Jones, A.E., Raybould, A.F., Trick, M., Moule, C.L. and K.J, Edwards. 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.

13) Luo, C., He, X.H., Chen, H., Ou, S.J., Gao, M.P., Brown, J.S., Tondo, C.T. and R.J, Schnell. 2011. Genetic diversity of mango cultivars estimated using SCoT and ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39: 676-84.

14) Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.

15) Marakli, S. 2018. A brief review of molecular markers to analyse medically important plants. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(1): 29-36.

16) Mirzaei, S. 2021. Application of molecular markers in plant sciences; an overview. *Central Asian Journal of Plant Science Innovation*, 1(4): 192-200.

17) Mohammed, S. and K, Tesfaye. 2015. Molecular genetic diversity study of *Lepidium sativum* population from Ethiopia as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 14: 1461-1470.

18) Nasseh, Y. and M.R, Joharchi. 2019. A new record of *Lepidium* (Brassicaceae) for the flora of Iran. *Nova Biologica Reperta*, 6(3): 347-51.

19) Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 70: 3321-3323.
20) Pour-Aboughadareh, A., Ahmadi, J., Mehrabi, A.A., Etminan, A. and M, Moghaddam. 2017. Assessment of genetic diversity among Iranian *Triticum* germplasm using agro morphological traits and start codon targeted (SCoT) markers. *Cereal Research Communications*, 45(4): 574-86.
21) Roughani, A. and S.M, Miri. 2018. *Lepidium* species as antidiabetic herbal medicines. The First National Congress and International Fair of Medicinal Plants and Strategies for Persian Medicine that Affect Diabetes, Mashhad, Iran.
22) Roughani, A., Miri, S.M., Hassandokht, M.R., Moradi, P. and V, Abdossi. 2018a. Agro-morphological study on several accessions of garden cress (*Lepidium sativum*–Brassiaceae) in Iran. *Pakistan Journal of Botany*, 50: 655-660.
23) Roughani, A., Miri, S.M., Hassandokht, M.R., Moradi, P. and V, Abdossi. 2018b. Genetic variation within Iranian *Lepidium* species using morphological traits. Proceedings of the First National Congress and International Fair of Medicinal Plants and Strategies for Persian Medicine that Affect Diabetes, Mashhad, Iran.
24) Roughani, A., Miri, S.M., Hassandokht, M.R., Moradi, P. and V, Abdossi. 2018c. Morphological variation of some *Lepidium draba* and *L. latifolium* populations. *Taiwania*, 63: 41-48.
25) Roughani, A., Miri, S.M., Hassandokht, M.R., Moradi, P. and V, Abdossi. 2021. Cytogenetic and micro–morphological studies on several accessions of some *Lepidium* L. species in Iran. *Iranian Journal of Science and Technology Transaction A-science*, 45: 417-426.
26) Srivastava, S., Krishna, R., Sinha, R.P. and M, Singh. 2017. TDZ-induced plant regeneration in *Brassica oleracea* L. var. Botrytis: effect of antioxidative enzyme activity and genetic stability in regenerated plantlets. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 53: 598-605.
27) Tadesse, L., Mekbib, F., Wakjira, A. and Z, Tadele. 2018. Genetic diversity in the Ethiopian garden cress (*Lepidium sativum* L.) using microsatellite markers. *Current Plant Biology*, 16: 32-40.
28) Zhang, Y., Zhang, X., Chen, X., Sun, W. and J, Li. 2018. Genetic diversity and structure of tea plant in Qinba area in China by three types of molecular markers. *Hereditas*, 155: 22.