ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
صفحه ۸۳ - ۷۳

بررسی تنوع ژنتیکی در سه گونه متفاوت کاکوتی (*Ziziphora* sp.) با استفاده از نشانگر ISSR

Investigating the genetic diversity of three different species of Ziziphora sp. using ISSR markers

اعظم بختیار[۱]، شهاب خاقانی[۲]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۳]، مسعود گماریان*[۲]، سعید چاوشی[۲]

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاهان دارویی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

۲- به‌ترتیب استاد، استادیار، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر قدس، تهران، ایران

Bakhtiar A[1], Khaghani Sh[2], Ghasemi Pirbalouti A[3], Gomarian M[*2], Chavoshi S[2]

1- PhD Student, Department of Horticulture Science (Medicinal and Aromatic Plants), Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
2- Professor, Assistant Professor, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
3- Professor, Research Center for Medicinal Plants, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Shahr-e-Qods, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:msgomarian@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۰۷)

چکیده

در این تحقیق با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR تنوع ژنتیکی در سه گونه کاکوتی شامل *tenuior* از ۱۹ منطقه *persica* از ۵ منطقه و *capitata* از ۵ منطقه جغرافیایی ایران مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۱۵۴ قطعه تکثیر شد که به‌ترتیب در گونه *tenuior*، *persica* و *capitata* ۸۶/۶۷، ۸۱/۱۳ و ۸۴ درصد از باندها چندشکل بودند. متوسط تعداد باند برای هر آغازگر در تمام گونه‌ها برابر ۱۰/۲۶ و متوسط تعداد باندهای چند شکل در گونه‌های *tenuior*، *persica* و *capitata* به‌ترتیب برابر ۳/۸، ۷/۶ و ۶/۸ بود. بیشترین محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) در گونه‌های *tenuior*، *persica* و *capitata* به‌ترتیب متعلق به آغازگرهای (۰/۴۶) UBC-۸۰۵، (۰/۳۵) UBC-۸۱۱ و (۰/۳۷) UBC-۸۲۴ بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای حاکی از آن بود که نشانگر ISSR توانست به راحتی گونه *tenuior* را از دو گونه دیگر یعنی *persica* و *capitata* تفکیک نماید، هرچند که در تفکیک دو گونه اخیر ناتوان بود. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد از کل تنوع ژنتیکی مشاهده شده، ۳۸ درصد مربوط به بین جمعیت‌ها و ۶۲ درصد مربوط به درون جمعیت‌ها می‌باشد. نتایج تجزیه به مختصات اصلی بیانگر آن بود که دو بردار اول در مجموع ۸۰/۳ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند، که نشان از همبستگی بالای آغازگرهای انتخابی داشت. بنابراین با تعداد کمتر آغازگر و در نتیجه هزینه، امکان تفکیک گونه *tenuior* از دو گونه دیگر نیز وجود دارد. با توجه به اینکه آغازگرهای UBC-۸۰۵، UBC-۸۱۱ و UBC-۸۱۲ در گونه *tenuior* حاوی بیشترین اطلاعات چند شکلی و شاخص نشانگر بودند و چند شکلی صد درصدی نیز نشان دادند، می‌توان آن‌ها را آغازگرهای کارآمدی برای بررسی تنوع ژنتیکی در این گونه در نظر گرفت. در کل تنوع ژنتیکی بالایی در گیاه کاکوتی در این مطالعه شناسایی شد که در مدیریت و نگهداری ذخایر توارثی این گیاه می‌تواند مفید باشد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه به مختصات اصلی
تجزیه خوشه‌ای
گیاه دارویی
نشانگر مولکولی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

یکی از گیاهان دارویی مهم در ایران که مصرف دارویی، عطری و ادویه‌ای دارد گیاه کاکوتی است (Naeini et al. 2010). کاکوتی به خانواده Lamiaceae، راسته Lamiales و زیر رده Asteridae تعلق دارد و پراکندگی این گونه بیشتر در نواحی مدیترانه تا مرکز آسیا و افغانستان و ایران می‌باشد (Najafi and Tavakkoli 2011). کاکوتی در ایران دارای ۴ گونه و چندین زیر گونه است که گونه‌های موجود در ایران شامل *Z. tenuior*، *Z. persica*، *Z. capitata* و *Z. clinopodioides* می‌باشند و در مناطق مختلف ایران پراکندگی وسیعی دارند (Mozaffarian 1996; Bakhtiar et al. 2021). گونه‌های *Z. tenuior*, *Z. persica* و *Z. capitata* یکساله، دیپلوییید (۲n=۲x=۱۶) و دگرگشن هستند (Zamani et al. 2016).

مطالعه ژنتیکی یکی از اهداف با ارزش برای حفاظت از گونه‌ها و اصلاح آن‌ها می‌باشد (Grime 2002). در مطالعات ژنتیکی با ورود ژن‌های مطلوب از ژرم‌پلاسم‌های متنوع به درون پایه ژنتیکی می‌توان مقدار و کیفیت محصول را افزایش داد (Mohammadi and Prasanna 2003: Mandoulakani et al. 2006). بر این اساس روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گیاهان استفاده می‌شود. بهره‌گیری از دانش مناسب و همچنین الگوهای تنوع ژنتیکی برای حفاظت و بهره‌برداری مناسب از منابع ژنتیکی کاملاً ضروری است (Ovesena et al. 2002). در حال حاضر برای تعیین تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های حفاظت شده، علاوه بر شیوه‌های مبتنی بر نشانگرهای سیتوژنتیک، از ابزارها و نشانگرهای نوین مولکولی از جمله نشانگرهای DNA استفاده می‌شود. بنابراین میزان چند شکلی حاصل از این نشانگرهای ژنتیکی یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌ها و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین آن‌ها محسوب می‌شود (Bagheri et al. 2002). محدودیت‌هایی که ممکن است، در بین نشانگرها وجود داشته باشد شامل تکرارپذیری اندک مانند نشانگر RAPD، هزینه‌های بالا مانند نشانگر AFLP و نیاز به شناخت توالی‌های پیرآمونی برای توسعه آغازگرهای اختصاصی گونه‌ها مانند نشانگر SSR است. تکنیک ISSR-PCR اغلب بر این محدودیت‌ها غلبه می‌کند (Bornet and Branchard 2001). نشانگر ISSR از نشانگرهای غالب مبتنی بر PCR بوده و به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حضور یک آغازگر مکمل و با یک توالی ریزماهواره در ژنوم تکثیر می‌شود. به‌دلیل فراوانی این نشانگر در مناطق تکرار شونده در ژنوم، چند شکلی بیشتری را نسبت به آغازگرهای RAPD نشان داده و باندهای حاصله اطلاعات بیشتری از ژنوم را در اختیار می‌گذارند (Terzopoulos and Bebeli 2008).

Hassani et al. (2016) با استفاده از نشانگر ISSR تنوع ژنتیکی در مامیران کبیر را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای آن‌ها نشان داد که بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی ارتباط نزدیکی وجود ندارد. نتایج آن‌ها بیانگر آن بود که نشانگر ISSR می‌تواند با موفقیت، تنوع ژنتیکی را در توده‌های مامیران ایران نشان دهد. در بررسی تنوع ژنتیکی گیاه دارویی پونه با نشانگر ISSR چندشکلی کافی در بین اکوتیپ‌های پونه گزارش شده است (Torkaman et al. 2021). در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام سیب ایرانی با نشانگر ISSR نتایج حاکی از آن بود که قرار گرفتن ژنوتیپ‌های مناطق مختلف در گروه‌های یکسان احتمالاً به‌دلیل انتقال ژنوتیپ‌ها بین مناطق در زمان گذشته بوده است (Moghbeli and Davarani 2018). در تحقیقی ۲۰ ژنوتیپ سیب‌زمینی با ۱۶ آغازگر ISSR مطالعه شدند و رابطه این نشانگرها با برخی صفات وابسته به عملکرد مورد بررسی قرار گرفتند (Kianiferiz et al. 2013). در این تحقیق بیشترین باند چند شکل به آغازگر ISSR UBC-827 تعلق داشت. Tabaripoor et al. (2016) با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR به بررسی تنوع ژنتیکی در ۱۰۷ نمونه کاکوتی از گونه tenuior از ۲۰ جمعیت که از ۱۷ استان ایران جمع‌آوری شده بودند، پرداختند. نتایج نشان از وجود تنوع درون و بین جمعیت‌ها داشت. همچنین نتایج نشان داد که دو خزانه ژنی در ایران برای این گونه وجود دارد که به‌وسیله فاصله و محدود شدن جریان ژنی ایجاد شده است. Tabaripoor et al. (2018) با استفاده از داده‌های مورفولوژی، گرده‌شناسی و مولکولی با نشانگرهای ISSR و کلروپلاستی به بررسی تاکسونومی دو زیر گونه احتمالی *Z. capitata* پرداختند. نتایج آن‌ها بیانگر آن بود که این دو زیر گونه کاملاً از هم متمایز هستند. Zamani et al. (2016) تنوع ژنتیکی گیاه *Z. tenuior* را با استفاده از نشانگر SCoT مطالعه نمودند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

میزان بالای چندشکلی مشاهده شده در قطعات حاصل از آغازگرهای SCoT و مقدار بالای شاخص PIC_D حکایت از توانایی مناسب این تکنیک در بررسی تنوع ژنتیکی گیاه کاکوتی داشت. در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی در گیاه کاکوتی براساس نشانگرهای مورفولوژیکی و RAPD مورد بررسی قرار گرفت که هر دو نشانگر درجه بالایی از چندشکلی را در بین نمونه‌ها نشان دادند (Hatari et al. 2013). در مطالعه حاضر، تنوع ژنتیکی در ۲۹ اکسشن مختلف از گیاه کاکوتی متعلق به سه گونه *Z. tenuior*، *Z. persica* و *Z. capitata* با استفاده از نشانگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این تحقیق علاوه بر ارزیابی تنوع ژنتیکی، بررسی امکان تفکیک این گونه‌ها با این نشانگر و ارتباط تنوع جغرافیایی و مولکولی آن‌ها بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۲۹ اکسشن گیاه کاکوتی که به‌ترتیب شامل ۱۹، ۵ و ۵ اکسشن متعلق به گونه‌های *tenuior*، *persica* و *capitata* بودند، استفاده شد. و استفاده شد (جدول ۱).

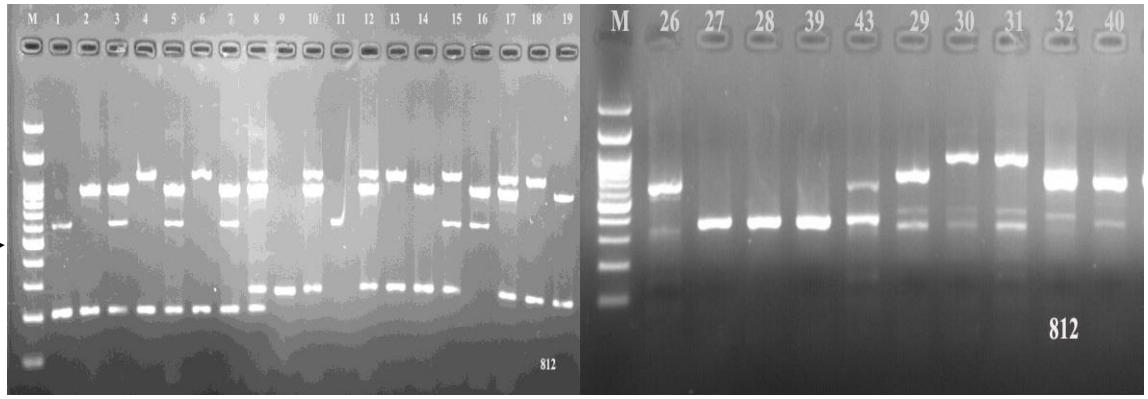
استخراج DNA در هر نمونه از برگ‌های جوان چند بوته به‌منظور نشان دادن اطلاعات کامل نمونه‌های هر منطقه، با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت یکتا تجهیز آزما و بر اساس پروتکل مربوطه انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده به‌وسیله الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۲ درصد و غلظت به روش اسپکتروفتومتری با دستگاه نانودرآپ تعیین شد. در این تحقیق از ۱۵ آغازگر ISSR که دارای تکرارهای دوتایی بودند استفاده شد (جدول ۲). واکنش PCR در حجم‌های ۵۰ میکرولیتری و با ترکیب ۳۵ میکرولیتر آب استریل، ۵ میکرولیتر PCR بافر ۱۰X، ۳ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی‌مولار، ۱/۲ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار، ۲/۵ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم در لیتر، ۳ میکرولیتر از آغازگرهای ISSR با غلظت ۲۵ میکرومولار و ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراز ۵ Unite با استفاده از دستگاه ترمال‌سایکلر شرکت Bio Rad انجام شد. مراحل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل یک دوره‌ی ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ دوره در دماهای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۳۸ درجه سانتی‌گراد برای آغازگرهای UBC-805، UBC-808، UBC-811، UBC-828، UBC-836 و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه و ۳۰ دوره در دماهای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای آغازگرهای UBC-814، UBC-815، UBC-820 و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ ثانیه و ۳۳ دوره در دماهای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای آغازگرهای UBC-824، UBC-827، UBC-856 و ۴۳ درجه سانتی‌گراد برای آغازگرهای UBC-802، UBC-807 ، UBC-812، UBC-818 و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ ثانیه و یک دوره ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. محصولات PCR درون چاهک‌های ژل آگارز ۱/۲ درصد ریخته شد. ژل مورد نظر درون بافر TBE (تریس بوریک اسید- EDTA) به مدت ۱۵۰ دقیقه و شدت جریان ۸۰ ولت الکتروفورز شد. سپس ژل به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اتیدیوم بروماید به‌منظور رنگ‌آمیزی قرار گرفته و پس از شستشو با آب‌مقطر نوارهای تولید شده در دستگاه عکس‌برداری از ژل (تحت اشعه ماورای بنفش) مشاهده و عکس‌برداری شد (شکل ۱).

با توجه به اینکه نشانگر ISSR دارای الگوی غالب است بنابراین امتیازدهی باندهای حاصل بر روی ژل آگارز به‌صورت صفر (عدم حضور) و یک (حضور) در نرم‌افزار Excel برای هریک از آلل‌ها انجام شد. محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگر با استفاده از فرمول $PIC = 1-(p^2+q^2)$ برآورد شد (Serrote et al. 2020). در این رابطه p برابر فراوانی آلل iام و q=1-p می‌باشد. همچنین شاخص نشانگری MI از رابطه MI=PIC ×N×B به‌دست آمد که N تعداد کل باندها و B نسبت چندشکلی برای هر آغازگر بود (Powell et al. 1996). شاخص نسبت چندگانه مؤثر (EMR) از رابطه EMR=NPB×B که از درصد چندشکلی (B) ضرب در تعداد نوارهای چندشکل (NPB) به‌دست آمد (Kumar et al. 2009). محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک و خوشه‌بندی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS v.pc 2.02 انجام شد. از نرم‌افزار GenALEx 6.4 برای محاسبه تجزیه واریانس مولکولی و از نرم‌افزار DARwin ver. 6 جهت تجزیه به مختصات اصلی استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۱- نام گونه و مؤلفه‌های جغرافیایی اکسشن‌های مختلف کاکوتی مورد مطالعه

نام گونه	شماره	شهرستان نقاط نمونه برداری	استان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
	۱	آذربایجان شرقی	تبریز	۴۶°، ۱۸´	۳۸°،۰۴ ´
	۲	اصفهان	گلپایگان	۵۰°،۲۷ ´	۳۳°،۴۵ ´
	۳	اصفهان	میمه	۳۳°،۱ ´	۵۱°،۱۱ ´
	۴	اردبیل	مشکین شهر	۴۷°،۱ ´	۳۸°،۲۳ ´
	۵	اردبیل	خلخال	۴۸°،۳۲ ´	۳۷°،۲۷ ´
	۶	کرمان	کرمان	۵۷°،۶ ´	۳۰°،۲۹ ´
	۷	مرکزی	اراک	۴۹ °،۳۴ ´	۳۴ °،۴ ´
	۸	چهارمحال بختیاری	شهرکرد	۴۹°،۲۲ ´	۵۰°،۴۹ ´
	۹	یزد	یزد	۵۶°،۳۶ ´	۳۱°،۲۲ ´
Z. tenuior	۱۰	اردبیل	اردبیل	۴۸°،۵۵ ´	۴۷°،۱۷ ´
	۱۱	مرکزی	کمیجان	۴۹°،۶ ´	۳۴°،۳۱ ´
	۱۲	مرکزی	محلات	۵۰°،۳۰ ´	۵۳°،۲۲ ´
	۱۳	مرکزی	شازند	۴۶°،۴۵ ´	۴۹°،۱۳ ´
	۱۴	اذربایجان غربی	ارومیه	۴۵°،۷ ´	۳۷°،۵۴ ´
	۱۵	آذربایجان شرقی	میانه	۴۷°،۴۲ ´	۴۷°،۲۰ ´
	۱۶	اردبیل	پارس آباد و مغان	۴۷°،۳۰ ´	۳۹°،۴۲ ´
	۱۷	اصفهان	نجف آباد	۵۱°،۳۱ ´	۳۲°،۳۸ ´
	۱۸	اردبیل	سرعین	۴۸°،۴ ´	۳۸°،۹ ´
	۱۹	کرمان	رفسنجان	۳۰°،۰۰ ´	۵۵°،۰۰ ´
	۲۰	آذربایجان غربی	چالدران	۴۴°،۲۲ ´	۳۹°،۴ ´
	۲۱	آذربایجان غربی	خوی	۴۵°،۱۵ ´	۳۸°،۴۵ ´
Z. persica	۲۲	کرمانشاه	کرمانشاه	۴۷°،۴ ´	۳۴°،۱۸ ´
	۲۳	آذربایجان غربی	ارومیه	۴۵°،۷ ´	۳۷°،۵۴ ´
	۲۴	آذربایجان غربی	خلخال	۴۸°،۳۲ ´	۳۷°،۳۷ ´
	۲۵	ایلام	ایلام	۴۸°،۳ ´	۳۴°،۲۰ ´
	۲۶	کرمانشاه	کرمانشاه	۴۷°،۴ ´	۳۴°،۱۸ ´
Z. capitata	۲۷	گیلان	سیاهکل	۵۰°،۳۴ ´	۳۸°،۲۷ ´
	۲۸	گیلان	رشت	۴۹°،۴۶ ´	۳۷°،۱۶ ´
	۲۹	گیلان	رودبار	۴۹°،۱۱ ´	۳۶°،۳۲ ´



شکل ۱- نمونه الگوی باندهی نمونه‌های کاکوتی توسط آغازگر UBC-812 مربوط به نشانگر ISSR (شماره‌گذاری ژنوتیپ‌ها به‌ترتیب جدول ۱ می‌باشد)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

نتایج و بحث

در ابتدا براساس مرور منابع آغازگرهای مناسب جهت تولید چندشکلی بیشتر مورد انتخاب قرار گرفتند که در این بررسی در نهایت ۱۵ آغازگر انتخاب شدند. چون در اکثر منابع ذکر شده بود که نشانگرهای ISSR با تکرار دوتایی پلی‌مورفیسم بیشتری را نشان می‌دهند، در این تحقیق هم تمامی آغازگرهای انتخاب شده جزء آغازگرهای با تکرار دوتایی بودند (Reddy et al. 2002). گزارش شده است که آغازگرهای ISSR دارای تکرارهای CA، AC، GA، AG، CT و TC نسبت به سایر تکرارهای دو، سه و چهار نوکلئوتیدی چندشکلی بالاتری نشان می‌دهند (Reddy et al. 2002). در این تحقیق آغازگر $(TA)_8C$ در گونه *tenuior* و آغازگر $(GT)_8C$ در گونه *persica* و آغازگر $(TC)_8G$ در گونه *capitata* بیشترین چندشکلی را نشان دادند که نتایج این مطالعه در مورد گونه *capitata* با این فرضیه تطابق داشت.

پس از تکثیر شدن این آغازگرهای انتخابی، تعداد ۱۵۴ باند در سه گونه مورد مطالعه تشکیل شد که تعداد ۵۷ باند درگونه *tenuior*، ۱۱۴ باند در گونه *persica* و ۱۱۰ باند در گونه *capitata* چندشکلی نشان دادند (جدول‌های ۲، ۳ و ۴). Hatari et al. (2013) با بررسی ۱۶ آغازگر از نشانگر RAPD در گیاه کاکوتی گونه *tenuior* میزان چندشکلی ۹۰/۳ درصدی را گزارش نمودند. Zamani et al. (2016) نیز با مطالعه‌ی ۲۵ آغازگر SCoT در گیاه کاکوتی گونه *tenuior* چندشکلی ۶۶ درصدی را مشاهده کردند. در این مطالعه، در گونه *tenuior* میانگین نوارهای چندشکل برای هر آغازگر و میانگین درصد چندشکلی به‌ترتیب ۳/۳ و ۸۶/۶۷ درصد (جدول ۲)، در گونه *persica* این مقادیر به‌ترتیب برابر ۷/۲ و ۸۱/۱۳ درصد (جدول ۳) و در گونه *capitata* برابر ۶/۸ و ۸۴ درصد (جدول ۴) بود. چند شکلی بالای به‌دست آمده در این مطالعه را شاید به توان به قابلیت بالای نشانگر ISSR در تفکیک ژنوتیپ‌ها، دگرگشنی و هتروزیگوسیتی گیاه کاکوتی نسبت داد (Abdollahi Mandoulakani and Azizi 2014). چندشکلی بالای نشانگر ISSR در گیاهان دیگر در مطالعات تنوع ژنتیکی و تکاملی نیز گزارش شده است (Li et al. 2008; Jabbarzadeh et al. 2010; Azizi et al. 2011)

جدول ۲- شاخص‌های آگاهی‌بخش و نتایج حاصل از تعداد باندهای هر یک از آغازگرهای ISSR در گونه *Z. tenuior*

شماره نشانگر	توالی بازی آغازگرها	تعداد کل نوار تکثیر شده درتمام گونه های مورد مطالعه	تعداد کل نوار تکثیر شده در *Z. tenuior* (a)	تعداد نوار چند شکل در *Z. tenuior* (b)	درصد چند شکلی (b/a*100)	شاخص محتوی چند شکلی (PIC)	EMR	MI
UBC-802	$(AT)_8G$	۴	۴	۲	٪۵۰	۰/۲۴۱	۱	۰/۲۴۱
UBC-805	$(TA)_8C$	۴	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۴۶۵	۴	۱/۸۶۰
UBC-807	$(AG)_8T$	۷	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۲۶۹	۴	۱/۰۷۶
UBC-808	$(AG)_8C$	۳	۳	۲	٪۶۷	۰/۳۳۲	۱/۳۴	۰/۴۴۴
UBC-811	$(GA)_8C$	۵	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۳۷۵	۴	۱/۵۰۰
UBC-812	$(GA)_8A$	۸	۵	۵	٪۱۰۰	۰/۳۰۵	۵	۱/۵۲۵
UBC-814	$(CT)_8A$	۴	۳	۲	٪۶۷	۰/۲۴۹	۱/۳۴	۰/۳۳۳
UBC-815	$(CT)_8G$	۵	۳	۲	٪۶۷	۰/۱۵۱	۱/۳۴	۰/۲۰۲
UBC-818	$(CA)_8G$	۲۸	۳	۳	٪۱۰۰	۰/۰۳۶	۳	۰/۱۰۸
UBC-820	$(GT)_8C$	۱۷	۳	۳	٪۱۰۰	۰/۰۸۳	۳	۰/۲۴۹
UBC-824	$(TC)_8G$	۱۹	۵	۵	٪۱۰۰	۰/۱۲۰	۵	۰/۶۰۰
UBC-827	$(AC)_8G$	۱۴	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۱۱۸	۴	۰/۴۷۲
UBC-828	$(TG)_8A$	۱۲	۳	۳	٪۱۰۰	۰/۰۵۸	۳	۰/۱۷۴
UBC-836	$(AG)_8YA$	۱۰	۵	۵	٪۱۰۰	۰/۱۷۰	۵	۰/۸۵۰
UBC-856	$(AC)_8YA$	۱۴	۴	۲	٪۵۰	۰/۰۷۵	۱	۰/۰۷۵
تعداد کل	-	۱۵۴	۵۷	۵۰	–	–	-	-
میانگین	-	۱۰/۲۶	۳/۸	۳/۳۳	٪۸۶/۶۷	۰/۲۰۳	-	-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

همچنین در سه گونه *Z. tenuior*، *Z. persica* و *Z. capitata* به‌ترتیب ۱۶، ۲۳ و ۱۹ باند اختصاصی تشکیل شد. در بین تمامی اکسشن‌ها (هر سه گونه) بیشترین باند تکثیر شده مربوط به آغازگر $(CA)_8G$ با ۲۸ باند و کمترین آن مربوط به آغازگر $(AG)_8C$ با ۳ باند بود (جدول‌های ۲، ۳ و ۴). میزان اطلاعات چند شکلی (PIC)، یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای مقایسه آغازگرهای مختلف از لحاظ قابلیت آن‌ها جهت تفکیک ژنوتیپ‌ها می‌باشد و همچنین میزان تنوع آللی را در بین ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد (Gheitarani et al. 2019; Farhangian-kashani et al. 2021). این شاخص یکی از معیارهای نشان دهنده‌ی قدرت تفکیک نشانگرها است که مستقل از تعداد نمونه می‌باشد (Botstein et al. 1980). مقادیر شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) از صفر تا نیم در نشانگرهای غالب متغیر است و میزان بیشتر این شاخص نشان دهنده‌ی قابلیت بالای آغازگر مورد استفاده در غربالگری ژنوتیپ‌ها می‌باشد (Serrote et al. 2019). میانگین این شاخص در سه گونه مورد مطالعه تقریباً معادل هم بود، به‌طوری که به‌ترتیب در اکسشن‌های *Z. tenuior*، *Z. persica* و *Z. capitata* برابر ۰/۲۰۳، ۰/۲۳۱ و ۰/۲۲۲ بود و در مجموع اکسشن‌های سه گونه این مقدار برابر ۰/۲۲۲ شد (جدول‌های ۲، ۳ و ۴).

جدول ۳- شاخص‌های آگاهی‌بخش و نتایج حاصل از تعداد باندهای هر یک از آغازگرهای ISSR در *Z. persica*

شماره نشانگر	توالی بازی آغازگرها	تعداد کل نوار تکثیر شده درتمام گونه‌های مورد مطالعه	تعداد کل نوار تکثیر شده در *Z. persica* (a)	تعداد نوار چند شکل در *Z. persica* (b)	درصد چند شکلی (b/a*100)	شاخص محتوی چند شکلی (PIC)	EMR	MI
UBC-802	$(AT)_8G$	۴	۳	۲	٪۶۷	۰/۲۴	۱/۳۳	۰/۳۱۹
UBC-805	$(TA)_8C$	۴	۳	۰	۰	۰	۰	۰
UBC-807	$(AG)_8T$	۷	۵	۵	٪۱۰۰	۰/۲۹۷	۵	۱/۴۸۵
UBC-808	$(AG)_8C$	۳	۲	۲	٪۱۰۰	۰/۳۲۰	۲	۰/۶۴۰
UBC-811	$(GA)_8C$	۵	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۳۵۲	۴	۱/۴۰۸
UBC-812	$(GA)_8A$	۸	۲	۲	٪۱۰۰	۰/۱	۲	۰/۲
UBC-814	$(CT)_8A$	۴	۲	۱	٪۵۰	۰	۰/۵	۰
UBC-815	$(CT)_8G$	۵	۳	۰	۰	۰	۰	۰
UBC-818	$(CA)_8G$	۲۸	۲۱	۲۱	٪۱۰۰	۰/۲۸۰	۲۱	۵/۸۸
UBC-820	$(GT)_8C$	۱۷	۱۷	۱۷	٪۱۰۰	۰/۴۵۲	۱۷	۷/۶۸۴
UBC-824	$(TC)_8G$	۱۹	۱۵	۱۵	٪۱۰۰	۰/۲۸۶	۱۵	۴/۲۹۰
UBC-827	$(AC)_8G$	۱۴	۱۱	۱۱	٪۱۰۰	۰/۲۹۷	۱۱	۳/۲۶۷
UBC-828	$(TG)_8A$	۱۲	۱۰	۱۰	٪۱۰۰	۰/۳۶۰	۱۰	۳/۶۰۰
UBC-836	$(AG)_8YA$	۱۰	۷	۷	٪۱۰۰	۰/۲۴۰	۷	۱/۶۸۰
UBC-856	$(AC)_8YA$	۱۴	۹	۹	٪۱۰۰	۰/۲۵۱	۹	۲/۲۵۹
تعداد کل	–	۱۵۴	۱۱۴	۱۰۸	–	–	-	-
میانگین	–	۱۰/۲۶	۷/۶	۷/۲	٪۸۱/۱۳	۰/۲۳۱	-	-

بیشترین میزان PIC در اکسشن‌های *Z. tenuior* مربوط به آغازگر UBC-805 (٪۴۶/۵) در *Z. persica* مربوط به آغازگر UBC-820 (٪۴۵/۲) و در اکسشن‌های *Z. capitata* مربوط به آغازگر UBC-824 (٪۳۷/۹) بود. مطابق با تقسیم‌بندی Serrote et al. (2020) محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در آغازگر UBC-805 در *Z. tenuior* و در آغازگر UBC-811 از *Z. persica* خیلی بالا و در آغازگر UBC-824 بالا می‌باشد. کمترین محتوای اطلاعات چند شکلی در *Z. tenuior* مربوط به آغازگر UBC-818 (۰/۰۳۶) و در *Z. persica* مربوط به آغازگرهای UBC-805,814,815 (۰) و در *Z. capitata* مربوط به آغازگر UBC-815 (۰/۰۵) بود. بیشترین و کمترین محتوای اطلاعات چندشکلی در بین تمامی اکسشن‌ها (سه گونه مورد مطالعه) مربوط به آغازگر UBC-811 (۰/۳۵۹)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

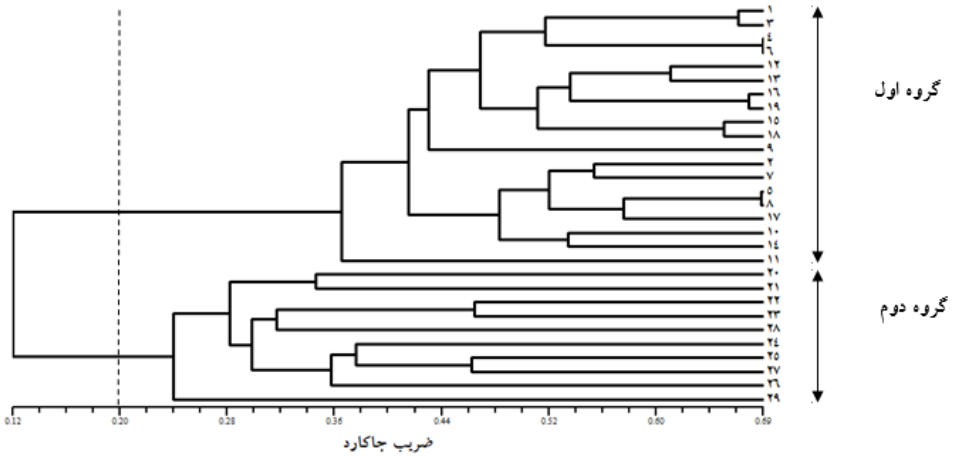
و UBC-815 (۰/۰۵) بود. جالب توجه این است که آغازگر UBC-805 که در *Z. tenuior* بیشترین مقدار PIC را دارا بود، در *Z. persica* و *Z. capitata* دارای کمترین میزان به‌ترتیب برابر صفر و ۸٪ بود (جدول‌های ۳ و ۴). این اطلاعات نشان می‌دهند در حالی‌که این آغازگر براساس شاخص PIC در *Z. tenuior* بهتر از سایر آغازگرها توانایی مشخص کردن فاصله ژنوتیپ‌ها را دارد، اما همین آغازگر در دو گونه دیگر توانایی خوبی در جداسازی ژنوتیپ‌ها ندارد. بنابراین به‌نظر می‌رسد برخی از آغازگرها اختصاصی گونه‌های معینی می‌باشند (Nikdel et al. 2015). در مجموع سه گونه مورد مطالعه، آغازگرهای UBC-808 و UBC-811 توانایی بالاتری در تفکیک ژنوتیپ‌ها نشان دادند (جدول ۲، ۳ و ۴). تعداد بالای باندهای تکثیر شده در این مطالعه نشان می‌دهد که با تعداد کمتری از آغازگرهای ISSR که دارای محتوای اطلاعات چندشکلی بالا هستند می‌توان تعداد بیشتری از ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های کاکوتی را از هم تفکیک نمود.

تجزیه‌ی خوشه‌ای: دندروگرام حاصل از ماتریس تشابه داده‌های مولکولی، تنوع ژنتیکی بالایی را در بین نمونه‌های مورد بررسی نشان داد. برای الگوریتم UPGMA ضریب همبستگی کوفنتیک برابر ۰/۹۶ بود (r=۰/۹۶) که تأیید کننده‌ی دندروگرام به‌دست آمده می‌باشد. دندروگرامی که از ماتریس تشابه جاکارد برای نشانگر ISSR در فاصله ۰/۱۲ تا ۰/۶۹ با ضریب تشابه ۰/۲ به‌دست آمد، اکسشن‌های مورد مطالعه را به دو گروه کاملاً متمایز تقسیم‌بندی کرد (شکل ۲). در گروه اول، تمامی اکسشن‌های مربوط به *Z. tenuior* و در گروه دوم، اکسشن‌های مربوط به *Z. persica* و *Z. capitata* قرار گرفتند. به این ترتیب نشانگر ISSR قادر بود تا *Z. tenuior* را به‌طور کامل از دو گونه *Z. persica* و *Z. capitata* تفکیک نماید. اما توانایی جداسازی دو گونه *Z. persica* و *Z. capitata* را از هم نداشت. نتایج حاصل از داده‌های مولکولی حاکی از آن بود که در گروه‌بندی‌های انجام شده هم در گروه اول و هم در گروه دوم اکسشن‌های کاکوتی مورد بررسی، که دارای منشاء جغرافیایی مشابه بودند در کنار هم قرار نگرفتند.

جدول ۴- شاخص‌های آگاهی‌بخش و نتایج حاصل از تعداد باندهای هر یک از آغازگرهای ISSR در *Z. capitata*

شماره نشانگر	توالی بازی آغازگرها	تعداد کل نوار تکثیر شده درتمام گونه‌های مورد مطالعه	تعداد کل نوار تکثیر شده در *Z. capitata* (a)	تعداد نوار چند شکل در *Z. capitata* (b)	درصد چند شکلی (b/a*100)	شاخص محتوی چند شکلی (PIC)	شاخص محتوی چندشکلی در تمام نمونه‌ها (PIC)	EMR	MI
UBC-802	$(AT)_8G$	۴	۳	۲	٪۶۷	۰/۲۴۰	۰/۲۴۰	۱/۳۳	۰/۳۱۹
UBC-805	$(TA)_8C$	۴	۳	۱	٪۳۳	۰/۰۸۰	۰/۱۸۱	۰/۳۳	۰/۰۵۹
UBC-807	$(AG)_8T$	۷	۵	۵	٪۱۰۰	۰/۲۹۷	۰/۲۸۷	۵	۱/۴۳۵
UBC-808	$(AG)_8C$	۳	۲	۲	٪۱۰۰	۰/۲۶۷	۰/۳۰۶	۲	۰/۶۱۲
UBC-811	$(GA)_8C$	۵	۴	۴	٪۱۰۰	۰/۳۵۲	۰/۳۵۹	۴	۱/۴۳۶
UBC-812	$(GA)_8A$	۸	۵	۳	٪۶۰	۰/۲۶۰	۰/۲۲۱	۱/۸	۰/۳۹۷
UBC-814	$(CT)_8A$	۴	۱	۱	٪۱۰۰	۰	۰/۰۸۳	۱	۰/۰۸۳
UBC-815	$(CT)_8G$	۵	۳	۰	۰	۰	۰/۰۵۰	۰	۰
UBC-818	$(CA)_8G$	۲۸	۲۰	۲۰	٪۱۰۰	۰/۲۶۹	۰/۱۹۵	۲۰	۳/۹
UBC-820	$(GT)_8C$	۱۷	۱۳	۱۳	٪۱۰۰	۰/۳۲۰	۰/۲۸۵	۱۳	۳/۷۰۵
UBC-824	$(TC)_8G$	۱۹	۱۸	۱۸	٪۱۰۰	۰/۳۷۹	۰/۲۶۱	۱۸	۴/۶۹۸
UBC-827	$(AC)_8G$	۱۴	۱۱	۱۱	٪۱۰۰	۰/۳۰۹	۰/۲۴۱	۱۱	۲/۶۵۱
UBC-828	$(TG)_8A$	۱۲	۷	۷	٪۱۰۰	۰/۲۰۰	۰/۲۰۶	۷	۱/۴۴۲
UBC-836	$(AG)_8YA$	۱۰	۸	۸	٪۱۰۰	۰/۳۳۶	۰/۲۴۸	۸	۱/۹۸۴
UBC-856	$(AC)_8YA$	۱۴	۷	۷	٪۱۰۰	۰/۱۸۳	۰/۱۶۹	۷	۱/۱۸۳
تعداد کل	-	۱۵۴	۱۱۰	۱۰۲	-	-	-	-	-
میانگین	-	۱۰/۲۶	۷/۵۳	۶/۸	٪۸۴	۰/۲۳۲	۰/۲۲۲	-	-

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA با استفاده از نشانگر ISSR (شماره‌ها بیانگر اکسشن‌ها طبق جدول ۱ می‌باشند).

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس داده‌های نشانگر ISSR در سه گونه گیاه کاکوتی

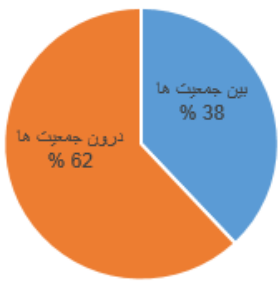
میانگین مربعات (MS)	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	منابع تغییر
۳/۸۰۱*	۷/۶۰۱	۲	بین گونه‌ها
۰/۶۸۹	۱۷/۹۱۶	۲۶	درون گونه‌ها
	۲۵/۵۱۷	۲۸	کل

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

از دلایل قرار نگرفتن ژنوتیپ‌های با منشاء جغرافیایی مشابه در کنار هم می‌توان به جابه‌جایی فیزیکی ژرم‌پلاسم به‌صورت انتقال بذور از منطقه‌ای به منطقه دیگر توسط افراد و یا هتروزیگوسیتی بالا در نتیجه دگرگشنی در این گیاه اشاره نمود (Gholamian et al. 2019; Noorian and Shirvani 2020). در مطالعات انجام شده در گیاهان متفاوت، وجود تنوع بالا در جمعیت‌های مختلف و همچنین عدم ارتباط بین تنوع جغرافیایی و مولکولی گزارش شده است (Hatari et al. 2013; Saber Amoli 1997).

تجزیه واریانس مولکولی نشان داد تفاوت معنی‌داری بین سه گونه مورد مطالعه وجود دارد. باوجود معنی‌دار شدن تنوع بین گونه‌ها، از کل تنوع ژنتیکی تنها ۳۸ درصد مربوط به تنوع بین گونه‌ها بود (شکل ۳). Lorinejad et al. (2018) در بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های نخود کابلی با استفاده از نشانگر ISSR به نتیجه مشابهی دست یافتند.

در مطالعه آن‌ها نیز با وجود معنی‌دار شدن تنوع بین گونه‌ها از کل تنوع ژنتیکی تنها ۱۰ درصد مربوط به تنوع بین گونه‌ها بود. در مطالعه‌ای بر روی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گیاه دارویی پونه با نشانگر ISSR نیز هرچند تنوع بین اکوتیپ‌ها معنی‌دار شد، اما ۴۰ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع بین اکوتیپ‌ها و ۶۰ درصد آن مربوط به تنوع درون اکوتیپ‌ها بود (Torkaman et al. 2021). به‌طور کلی تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ها تحت تاثیر عوامل بیولوژیکی، پراکنش، چرخه زندگی، اندازه جمعیت، جریان ژنی، نرخ جهش، فرسایش ژنتیکی و سیستم گرده افشانی است (Petrova et al. 2017). در گیاه کاکوتی دگرگشنی موجب افزایش تنوع داخل گروه‌ها و جابه‌جایی و انتقال ژرم‌پلاسم سبب کاهش تنوع بین گروه‌ها شده است (Zamani et al. 2016).



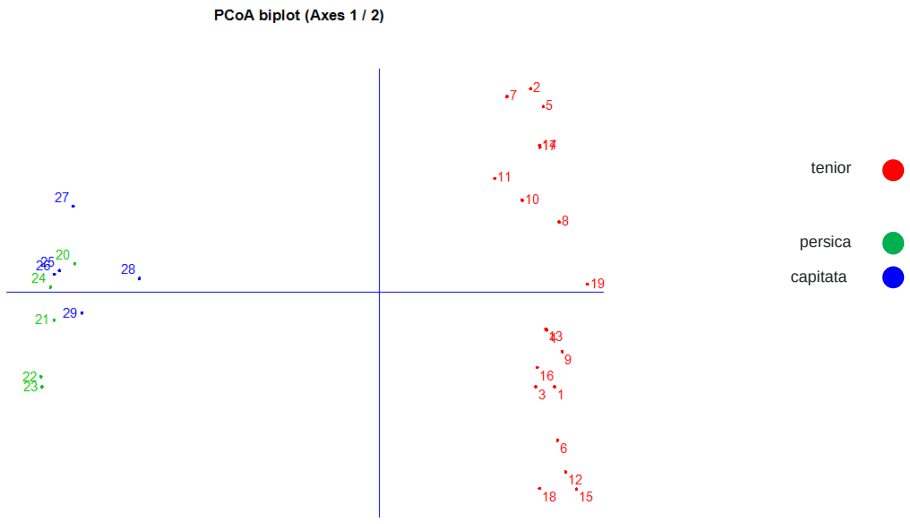
شکل ۳- درصد واریانس مولکولی به‌دست آمده از تجزیه واریانس مولکولی بین و درون گونه‌های گیاه کاکوتی بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

نتایج تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که دو بردار اول به‌ترتیب ۷۶/۷ و ۳/۶ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند (جدول ۶). میزان واریانس هر بردار اهمیت آن بردار را در واریانس کل نشان می‌دهد که به‌صورت درصد بیان می‌شود. در این تحقیق دو بردار اول در مجموع ۸۰/۳ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند (جدول ۶). بنابراین ۱۵۴ باند چند شکل، به تعداد کمتری بردار کاهش پیدا کرده‌اند. گزارش شده است که در تجزیه به مختصات اصلی چنانچه تغییرات کمتری توسط مؤلفه‌های اصلی مهم‌تر توجیه شود، به معنی توزیع مناسب‌تر نشانگرها در سطح ژنوم است و این مطلب نشان می‌دهد که نشانگرهای مولکولی نواحی گسترده‌تری از ژنوم را پوشش داده‌اند (Khounani et al. 2011). نتایج تجزیه به مختصات اصلی در مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی برخی گونه‌های وحشی گندم با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR و SSR بیان‌گر آن بود که، چهار بردار اول در مجموع ۳۱/۵۹ درصد از واریانس کل را توجیه می‌کند (Vahdanikia et al. 2021). در بررسی تنوع ژنتیکی *Z. tenuior* با استفاده از نشانگر SCoT نیز گزارش شده است که ۲۰ مؤلفه اول ۹۰ درصد از تغییرات را توجیه کردند (Zamani et al. 2016). اما از طرف دیگر، بر خلاف گزارش‌های ذکر شده، در این مطالعه دو مختصات اول تقریباً ۸۰ درصد واریانس کل را توجیه نمودند (جدول ۶) و این بدان معنی است که چون بین آغازگرهای انتخابی در این مطالعه همبستگی بالایی وجود دارد، بنابراین با تعداد کمتر آغازگر هم می‌توان به همین نتایج دست پیدا کرد. به‌عبارت دیگر با تعداد کمتری از آغازگرهای انتخاب شده نیز امکان تفکیک گونه *tenuior* از دو گونه دیگر وجود دارد و در نتیجه هزینه‌ی این تفکیک نیز پایین‌تر خواهد بود. با توجه به اینکه آغازگرهای انتخابی همگی دارای تکرار دوتایی بودند، ممکن است این آغازگرها در منطقه‌ی خاصی از ژنوم تجمع پیدا کرده باشند. شاید دلیل این امر آن باشد که نشانگرهای انتخابی به‌طور تصادفی از کروموزوم‌های معینی انتخاب شده‌اند، در نتیجه پیوستگی بین آن‌ها زیاد است و به مؤلفه‌ی کمتری برای توجیه نیاز است (Torkaman et al. 2021).

جدول ۶- مقادیر ویژه، درصد واریانس و درصد تجمعی بردارهای اصلی گونه‌های کاکوتی مورد مطالعه

مختصات	مقادیر ویژه	درصد واریانس	درصد واریانس تجمعی
۱	۷/۳۸	۷۶/۷۹	۷۶/۷۹
۲	۰/۳۶۳	۳/۶۰	۸۰/۳۹



شکل ۴- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مربوط به نشانگر ISSR در سه گونه کاکوتی جمع‌آوری شده در نقاط مختلف ایران

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

همان‌طور که در نمودار بای پلات تجزیه به مختصات اصلی مشاهده می‌شود اکسشن‌های *Z. tenuior* به‌طور کامل از اکسشن‌های *Z. persica* و *Z. capitata* تفکیک شده‌اند و این گروه‌بندی هماهنگ با تجزیه خوشه‌ای انجام شده بر روی این نمونه‌ها می‌باشد (شکل ۴). به‌عبارت دیگر نتایج تجزیه به مختصات اصلی در تایید گروه‌بندی نمونه‌های مورد مطالعه با روش تجزیه خوشه‌ای است. Farshadfar et al. (2018) در بررسی دو گونه گیاه لولیوم با استفاده از نشانگر SCoT نیز مشاهده کردند که نتایج گروه‌بندی تجزیه به مختصات اصلی با نتایج تجزیه خوشه‌ای مطابقت دارد. همچنین در بررسی تنوع ژنتیکی در اکوتیپ‌های گیاه دارویی پونه با استفاده از نشانگرهای ISSR نیز گزارش شده است که تجزیه به مختصات اصلی در راستای تجزیه خوشه‌ای می‌باشد (Torkaman et al. 2021).

یکی از اهداف به‌نژادی گیاهی، جمع‌آوری، نگهداری و ارزیابی ذخایر توارثی گیاهان و جلوگیری از فرسایش ژنتیکی است (Eghlima et al. 2021). بررسی‌های انجام شده در این تحقیق و مطالعات دیگر (Hatari et al. 2013; Zamani et al. 2016). نشان می‌دهند که تنوع ژنتیکی بالایی در گیاه کاکوتی وجود دارد که می‌تواند ناشی از تنوع اقلیمی متفاوت در ایران و همچنین جریان ژنی در اثر دگرگشن بودن و تکثیر جنسی توسط بذر در این گیاه باشد. درک چنین تنوع بالایی در مدیریت و حفاظت ژرم پلاسم این گیاه مفید می‌باشد و اصلاحگر را در تعیین راهبردهای بهره‌برداری، اصلاح و اهلی‌سازی و کشت و کار این گیاه یاری می‌کند. با توجه به اینکه آغازگرهای UBC-805، UBC-811 و UBC-812 در *Z. tenuior* حاوی بیشترین اطلاعات چند شکلی و شاخص نشانگر بودند و چند شکلی صد درصدی نیز نشان دادند، می‌توان آن‌ها را آغازگرهای کارآمدی برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاه کاکوتی در این گونه در نظر گرفت.

منابع

Abdollahi Mandoulakani B, Azizi H (2014) Identification of ISSR markers associated with morphological traits in cultivated alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations 27:260-268. (In Farsi).

Azizi H, Bernoosi I, Abdollahi Mandoulakani B, Darvishzadeh R (2011) Study of genetic structure and diversity in cultivated alfalfa populations (*Medicago sativa* L.) using ISSR markers. Modern Genetic 6:61-69. (In Farsi).

Bagheri A, Darbandi A, Malboobi MA (2002) Practical applications of Plant Molecular Biology. Ferdowsi University of Mashhad Press, Mashhad, Iran. (In Farsi).

Bakhtiar A, Khaghani S, Ghasemi Pirbalouti A, Gomarian M, Chavoshi S (2021) Essential oil variation among different populations of *Ziziphora tenuior* L. cultivated at semiarid climate. Journal of Essential Oil Research 33:1-9.

Bornet B Branchard M (2001) Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) marker: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Molecular Biology Reporter 19:209-215.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32:314-331.

Eghlima G, Kheiry A, Sanikhani M, Hadian J, Aelaei M (2021) Study of Genetic Diversity of *Glycyrrizha glabra* L. Populations Using ISSR Molecular Markers. Plant Genetic Researches 8:81-94.

Farhangian-kashani S, Azadi A, Khaghani S, Changizi M, Gomarian M (2021) Association analysis and evaluation of genetic diversity in wheat genotypes using SSR markers. Biologia Futura 72:441-452.

Farshadfar M, Shirvani H, Amjadian M, Yaghotipoor A (2018) Application of SCoT marker to discriminate *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum* species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 26:207-220. (In Farsi).

Gheitarani B, Erfani-Moghadam J, Fazeli A (2019) Evaluation of Genetic Diversity among Some Common Fig Using RAPD and ISSR Molecular Markers. Plant Genetic Researches 6:43-54. (In Farsi).

Gholamian F, Etminan A, Changizi M, Khaghani S, Gomarian M (2019) Assessment of genetic diversity in *Triticum Urartu* Thumanjan ex Gandilyan accessions using start codon targeted polymorphism (SCoT) and CAATbox derived polymorphism (CBDP) markers. Biotechnology and Biotechnological Equipment 33:1653-1662.

Grime J (2002) Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. Journal of Ecology 86:902-910.

Hassani M, Babaii A, Moslemkhani K (2016) Study of chelidonium majus genetic diversity by ISSR markers in Iran. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 6:91-96. (In Farsi).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Hatari Z, Zamani Z, Nazeri V, Tabrizi L (2013) Evaluation of genetic diversity in the medicinal plant Kakooti (*Ziziphora tenuior* L.) using morphological characteristics and RAPD markers. Modern Genetics Journal 8:19-28. (In Farsi).

Jabbarzadeh Z, khosh-khui M, Salehi H, Saberivand A (2010) Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic analysis of rose species. African Journal of Biotechnology 37:6091- 6095.

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

Kiani F, Asghari A, Malekzadeh Shafaroudi S, Sakhdari A (2013) Association analysis ofagronomical traits using ISSR Markers in Twenty potato cultivars. 8 th NationalBiotechnology Congress of Islamic Republic of Iran and 4th Biosafety congress. (In Farsi).

Kumar M, Mishra GP, Singh R, Kumar J, Naik PK, Singh SB (2009) Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different apricot genotypes from cold arid deserts of Trans-Himalayas. Physiology and Molecular Biology of Plants 15:225-236.

Li Q, Liu QC, Zhai H, Ma DF, Wang X, Li XQ, Wang YP (2008) Genetic diversity in main parents of sweet potato in china as revealed by ISSR Markers. Acta Agronomica Sinicia 34:972-977.

Lorinejad M, Mohayeji M, Abdolshahi R, Kazemipoor A, Sadeghzadeh-Ahari D (2018) Assessment of genetic diversity among some Kabuli type chickpea genotypes using ISSR markers. Journal of Agricultural Biotechnology. 10:109-128. (In Farsi).

Mandoulakani BA, Gomarian M, Shahnejat-Bushehri AA (2006) Identification of the parents for bread-making quality improvement in bread wheat based on RAPD and seed storage protein (HMW-GS) markers. Pakistan journal of biological sciences 9:497-502.

Moghbeli Mehni F, Hasanzadeh Davarani F (2018) Evaluation of genetic diversity among Iranian apple cultivars using ISSR-markers. Agricultural Biotechnology Journal 10:35-53. (In Farsi).

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

Mozaffarian VA (1996) Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Publishers. Tehran 591 pp. (In Farsi).

Naeini A, Khosravi A, Tadjbakhsh H, Ghazanfari T, Yaraee R, Shokri H (2010) Evaluation of the immunostimulatory activity of Ziziphora tenuior extracts. Comparative Clinical Pathology 19:459-463.

Najafi F, Tavakkoli Z (2011) Comparing essential oil composition and antibacterial effects of *Ziziphora tenuior* L. in two regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27:239-248. (In Farsi).

Nikdel S, Pahlevani M, Zenalinezhad K, Yamchi A (2015) A Study of Genetic Variation within and between Ecotypes of Distaff Thistle (*Carthamus lanatus*) from North East Iran. Iranian Journal of Weed Science 11:97-106. (In Farsi).

Noorian M, Shirvani H (2020) Genetic variabiliy of Malva neglecta ecotype using ISSRmolecular markers. Journal of Plant Research 32:806-814 (In Farsi).

Ovesena J, Polakova K, Leisova l (2002) DNA analyses and their application in plant breeding Czech Journal of Genetic and Plant Breeding 38:29-40.

Petrova G, Petrova S, Delcheva M, Bancheva, S (2017) Genetic diversity and conservation of Bulgarian endemic Verbasum tzar-borisii (Scrophulariaceae). Annales Botanici Fennici 54:307-317.

Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.

Reddy PM, Sarla N, Siddiq EA (2002) Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9-17.

Saber Amoli S (1997) Final report of collection and evaluation of medicinal plants in Kerman province. Agricultural Research Center and Natural Resources. Kerman Iran 36-39.

Serrote C, Reiniger L, Silva KB, Rabaiolli S, Stefanel CM (2020) Determining the Polymorphism Information Content of a Molecular Marker. Gene 726:144175.

Tabaripoor R, Sheidai M, Talebi SM (2016) Population genetic diversity and structure in *Ziziphora tenuior* L.: identification of potential gene pools. GENETIKA 48:565-578.

Tabaripour R, Sheidai M, Talebi SM, Noormohammadi Z (2018) Genetic divergence and speciation within *Ziziphora capitata* (Lamiaceae): Molecular and micromorphological evidences. Biodiversitas 19:747-755.

Terzopoulos PJ, Bebeli PJ (2008) Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba* L.) with ISSR markers. Field Crops Research 108:39-44.

Torkaman S, Sofalian O, Zare N, Hasanian S (2021) Investigation of Genetic Diversity of Native Ecotypes of Northwestern Medicinal Plant *Mentha longifolia* using ISSR Molecular Markers. Journal of Crop Breeding 13:1-10. (In Farsi).

Vahdanikia FS, Samizadeh-Lahiji H, Zahravi M, Mohsenzadeh Golfazani M (2021) Evaluating genetic diversity of some wheat genotypes using SSR and ISSR molecular markers. Cereal Research 11:43-54. (In Farsi).

Zamani N, Zamani W, Mirzaei K (2016) Assessment of genetic diversity among three different species of Aegilops sp. using CBDP, SCoT and ISSR markers. Modern Genetics Journal 24:177-189. (In Farsi).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]