Shahid Bahonar University of Kerman
Agricultural Biotechnology Journal
Iranian Biotechnology Society
Print ISSN: 2228-6705 Online ISSN: 2228-6500

Investigation of molecular diversity of some coriander (*Coriandrum sativum* L.) populations using RAPD and SCoT markers

Mohammad Zabet
*Corresponding author, Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: mzabet@birjand.ac.ir
Maryam Akbari
Former M.Sc. Student of Genetic and Plant Breeding, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: maryamakbari@gmail.com
Ali Izanloo
Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran. E-mail: a.izanloo@birjand.ac.ir

Abstract

Objective

Coriandrum sativum is a medicinal plant cultivated in various regions of Iran and worldwide for a long time. With a genomic formula of 2n=2x=22, coriander is a diploid plant, and Iran is the fourth largest producer of this crop in the world. This study aimed to investigate genetic diversity, assess similarities and differences of different coriander populations using RAPD and SCoT markers.

Materials and methods

Sixteen coriander populations were collected from various counties in three provinces: South Khorasan, Yazd, and Kerman. Twelve RAPD primers and 20 SCoT primers were used for molecular diversity analysis. Data analysis was performed using the software packages NTSYSpc2.2, SPSS v26, and Excel 2020.

Results

Of the 12 RAPD primers, 10 showed polymorphism, while 15 of the 20 SCoT primers displayed polymorphisms. In total, RAPD and SCoT primers produced 40 and 86 high-resolution bands, respectively. The polymorphism percentage was 100% for the RAPD and 97.67% for the SCoT markers. The RD6, RD8 (RAPD) and SC11, SC13 (SCoT) primers produced the highest number of bands (5 and 9 bands). The average values for the PIC, MI, EMR, and RP indices were 0.43, 1.69, 4, and 2.81, and 0.38, 2.09, 5.49, and 3.38 for RAPD and SCoT markers, respectively. The highest genetic similarity was found between Kerman-Zarand, Yazd-Bahabad, Sirjan-Baft, Kerman-Baft, and Birjand-Khusf populations. The lowest genetic similarity was observed between Sarbishe-Bahabad, Bahabad-Bam, Birjand-Bahabad, Birjand-Yazd, and Bahabad-

Zarand populations. Cluster analysis on RAPD and SCOT data grouped the populations into three clusters. Principal Coordinate Analysis (PCoA) according to RAPD and SCoT data explained 50.82% and 52.97% of the total variance, respectively.

Conclusions

The markers used in this study effectively distinguished the coriander populations from each other. The high polymorphism rate of the RAPD and SCoT markers demonstrated their efficiency for genetic diversity analysis in coriander populations. Both markers showed similar efficiency, but the SCoT marker slightly outperformed RAPD in distinguishing populations. The low percentage of variation explained by the components indicated that the primers had appropriate distribution across the genome and therefore were well chosen. The results revealed that genetic similarity was relatively high within populations of each province, while lower similarity was observed between populations from different provinces. To maximize diversity and heterosis, crossing populations such as Sarbishe × Bahabad, Bahabad × Bam, Birjand × Bahabad, Birjand × Yazd, and Bahabad × Zarand are recommended.

Keywords: cluster analysis, genetic similarity, molecular marker, polymorphism, primer

Paper Type: Research Paper.

Citation: Zabet, M., Akbari, M., & Izanloo, A. (2025). Investigation of molecular diversity of some coriander (*Coriandrum sativum* L.) populations using RAPD and SCoT markers. *Agricultural Biotechnology Journal,* 17(4), 71-98.

Agricultural Biotechnology Journal, 17(4), 71-98. DOI: 10.22103/jab.2025.24705.1650

Received: June 22, 2025. Received in revised form: August 27, 2025.

Accepted: August 28, 2025. Published online: November 30, 2025.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

Introduction

Coriandrum sativum is the only domesticated species in Iran. With a genomic formula of 2n=2x=22, coriander is a diploid, herbaceous, and annual plant, and Iran is the fourth largest producer of this crop in the world. The world production of coriander is approximately 2 million tons, and Iran ranks fourth, with around 56,000 tons. By obtaining information on the genetic distance between individuals or populations, it is possible to organize the gene pool and sample genotypes effectively. RAPD and SCoT molecular markers are two of the most commonly utilized markers to examine genetic diversity. The first step in breeding and preparing coriander varieties is to know about genetic diversity. In the field of genetic diversity, there are very few studies on coriander. Iranian studies have revealed that only a few studies have examined the morphology of existing populations so far. The use of molecular markers to study genetic diversity is not well-studied. This study aimed to discover the diverse range of coriander populations in the neighboring provinces of South Khorasan, Yazd, and Kerman by utilizing SCoT and RAPD molecular markers. The efficiency of these markers in estimating the amount of genetic diversity present was assessed in this regard.

Materials and methods

This study was carried out in the Molecular Plant Breeding Laboratory of the College of Agriculture, Natural Resources and Environment, University of Birjand from 2020-2021. 16 native coriander populations were collected from different cities in three provinces: South Khorasan (4 populations), Yazd (4 populations), and Kerman (8 populations). For DNA extraction, 0.2 grams of each sample was crushed in a sterilized porcelain mortar in the presence of liquid nitrogen. A Nanodrop device (Thermo Scientific model 2000) was utilized to determine the quantity of extracted DNA. Using a horizontal electrophoresis device and a 1% agarose gel, the quality and quantity of extracted DNA were assessed. In this experiment, 12 RAPD primers and 20 SCoT primers were used. Of the 12 RAPD primers, 10 showed polymorphism, while 15 of the 20 SCoT primers displayed polymorphisms. Freeze-dried primers were bought from the Sinaclone company. The thermocycler (Master cycler gradient model, Eppendorf, Germany) was utilized to perform the PCR reaction. A final volume of 20 µl was used in the PCR reaction, which comprised 1 µl of template DNA (20 ng), 1 µl of primer (0.67 picomoles), 10 µl of reaction mixture, and 8 µl of double-distilled water. A 1% agarose gel in buffer (TAE 1X) was used for horizontal electrophoresis of the PCR products. To evaluate the efficiency of the primers, traits and indices such as the number of amplified alleles (Na), the number of polymorphic alleles, the number of effective alleles (Ne), Polymorphism Percent (PP), Diversity Index (DI), Polymorphism Information Content (PIC), Effective Multiple Ratio (EMR), Marker Index (MI), and Resolving Power (RP) were calculated. NTSYSpc.2.2 (Applied Biostatistics Inc.), SPSS (IBM Statistics version 26), and Excel 2020 (Microsoft Office Professional 2020) software were used for data analysis.

Results

Of the 12 RAPD primers, 10 showed polymorphism, while 15 of the 20 SCoT primers displayed polymorphisms. In total, RAPD and SCoT primers produced 40 and 86 high-resolution bands, respectively. The polymorphism percentage was 100% for the RAPD and 97.67% for the SCoT markers. The RD6, RD8 (RAPD) and SC11, SC13 (SCoT) primers produced the highest number of bands (5 and 9 bands). In the RAPD marker, the two primers RD6 and RD8 amplified the highest number of bands (5 bands) and the primers RD7 and RD10 amplified the lowest number of bands (3 bands). In the SCoT marker, the two primers SC11 and SC13 amplified the highest number of bands (9 bands), and the primer SC4 amplified the lowest number of bands (3 bands). In the RAPD marker, all primers showed 100% polymorphism, but in the SCoT marker, the two primers SC1 and SC14 had the lowest percentage of polymorphism with 75% and 87.5%, respectively, and the rest of the primers showed 100% polymorphism. The PIC value in the RAPD marker varied between 0.36 in the RD8 primer to 0.49 in the RD7 primer, and in the SCoT marker between 0.20 in the SC1 primer and 0.48 in the SC15 primer. In the RAPD marker, the highest marker index value (1.86) was assigned to primer RD5, and the lowest marker index value (1.41) was assigned to primer RD10. In the SCoT marker, the highest marker index value (3.80) was assigned to primer SC11, and the lowest marker index value (0.46) was assigned to primer SC1. In the RAPD marker, the highest effective polymorphic ratio index value (5) was assigned to primers RD6 and RD8, and the lowest value (3) was assigned to primers RD7 and RD10. In the SCoT marker, the highest effective polymorphic ratio index value (9) was assigned to primers SC11 and SC13, and the lowest value (2.25) was assigned to primer SC1. The maximum and minimum values of the resolving power (RP) in the RAPD marker were 3.14 (primer RD9) and 2.38 (primer RD10), and in the SCoT marker, the maximum and minimum values of this index were 6.25 (primer SC11) and 1 (primer SC1). The Jaccard similarity coefficient and the UPGMA algorithm were recognized as the best coefficient and the best clustering pattern due to having the highest correlation coefficient in both RAPD and SCoT markers (0.78 and 0.83, respectively. Based on the similarity matrix obtained from RAPD marker data, the highest genetic similarity was obtained between the populations of Kerman - Zarand, Yazd - Bahabad, Sirjan - Baft, and the lowest genetic similarity was obtained between the populations of Sarbishe - Bahabad, and Bahabad - Bam. Based on the similarity matrix obtained from SCoT marker data, the highest genetic similarity was obtained between the populations of Kerman - Baft, Birjand - Khusf, and the lowest genetic similarity was obtained between the populations of Birjand - Bahabad, Birjand - Yazd, and between Bahabad - Zarand. Cluster analysis based on RAPD marker data classified different populations into three clusters. In the first cluster, only the Sarbishe population was included. The second cluster was divided into two sub-clusters and included the Bam, Abarkoh, Bahabad and Yazd populations. The third cluster was divided into two sub-clusters and included the Nehbandan, Ravar, Shahr Babak, Mahan, Kerman, Zarand, Taft, Sirjan, Baft, Khusf, and Birjand populations. In the dendrogram obtained from the SCoT marker data, the populations were placed in three clusters. The Zarand population was placed in the first cluster. The second cluster (four populations) itself consisted of two sub-clusters. The Mahan population was placed in the first sub-cluster, and the Baft, Ravar, and Shahr Babak populations were placed in the second sub-cluster. The third cluster (11 populations) itself consisted of two sub-clusters. The first sub-cluster included the populations of Yazd and Bahabad, and the second sub-cluster included the populations of Bam, Kerman, Sirjan, Abarkoh, Birjand, Khusf, Taft, Nehbandan, and Sarbishe. Principal Coordinate Analysis (PCoA) according to RAPD and SCoT data explained 50.82% and 52.97% of the total variance, respectively.

Conclusions

The markers used in this study effectively distinguished the coriander populations from each other. The high polymorphism rate of the RAPD and SCoT markers demonstrated their efficiency for genetic diversity analysis in coriander populations. Both markers showed similar efficiency, but the SCoT marker slightly outperformed RAPD in distinguishing populations. The low percentage of variation explained by the components indicated that the primers had appropriate distribution across the genome and therefore were well chosen. The results revealed that genetic similarity was relatively high within populations of each province, while lower similarity was observed between populations from different provinces. To maximize diversity and heterosis, crossing populations such as Sarbishe × Bahabad, Bahabad × Bam, Birjand × Bahabad, Birjand × Yazd, and Bahabad × Zarand are recommended.

Author contributions

Conceptualization: Zabet M, Methodology: Zabet M, Software: Izanloo A, Validation: Zabet M, Formal analysis: Zabet M, Investigation: Akbari M; Resources: Zabet M, Data curation: Akbari M, Writing-original draft preparation: Zabet M, Writing-review and editing: Zabet M, Visualization: Zabet M, Supervision: Izanloo A and Zabet M, Project administration: Izanloo A and Zabet M, Funding acquisition: Izanloo A. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Data availability statement

Not applicable

Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to the dedicated staff at the Molecular Plant Breeding Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Birjand, and their respected peers in the Plant Production and Genetics Department.

Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Funding

The study was funded by the University of Birjand, Iran. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
انجمن بیوتکنولوژی ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان
شاپا چاپی: ۲۲۲۸-۶۷۰۵ شاپا الکترونیکی: ۲۲۲۸-۶۵۰۰

بررسی تنوع مولکولی برخی از جمعیت‌های گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با استفاده از نشانگرهای RAPD و SCoT

محمد ضابط

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: mzabet@birjand.ac.ir

مریم اکبری

دانشجوی اسبق کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: maryamakbari@gmail.com

علی ایزانلو

دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: abcdefg@ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۶/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۶

چکیده

هدف: گشنیز یکی از گیاهان دارویی است که از دیرباز در مناطق مختلفی از ایران و جهان کشت می‌گردد. گشنیز با فرمول ژنومی 2n=2x=22، گیاهی دیپلوئید و ایران چهارمین تولید کننده این محصول در جهان است. این تحقیق به منظور بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین شباهت و تفاوت جمعیّت‌های مختلف گشنیز با استفاده از نشانگرهای RAPD و SCoT صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: تعداد ۱۶ جمعیت گشنیز از سه استان خراسان جنوبی، یزد و کرمان جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. در این آزمایش به ترتیب از ۱۲ آغازگر RAPD و ۲۰ آغازگر SCoT جهت بررسی تنوع مولکولی استفاده شد. در تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای NTSYSpc.2.2، SPSS.V26 و Excel.2020 استفاده شد.

نتایج: از ۱۲ آغازگر RAPD ۱۰ تا و از ۲۰ آغازگر SCoT ۱۵ مورد چندشکلی نشان دادند. در کل، آغازگرهای RAPD و SCoT، به ترتیب ۴۰ و ۸۶ نوار با وضوح بالا تولید نمودند. درصد چندشکلی در نشانگرهای RAPD وSCoT، به ترتیب ۱۰۰ و ۹۷/۶۷ درصد به دست آمد. آغازگرهای RD6، RD8 و SC11، SC13 بیشترین نوار (۵ و ۹ نوار) را تکثیر نمودند. مقدار متوسط شاخص‌های PIC، MI، EMR و RP برای نشانگرهای RAPD و SCoT به ترتیب برابر با ۰/۴۳، ۱/۶۹، ۴، ۲/۸۱ و ۰/۳۸، ۲/۰۹، ۵/۴۹، ۳/۳۸ برآورد گردید. بیش‌ترین شباهت ژنتیکی بین کرمان - زرند، یزد – بهاباد، سیرجان – بافت، کرمان – بافت، بیرجند – خوسف و کمترین شباهت ژنتیکی بین سربیشه – بهاباد، بهاباد – بم، بیرجند - بهاباد، بیرجند – یزد، بهاباد - زرند به دست آمد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های RAPD و SCoT، جمعیت‌های مختلف را در سه خوشه گروه‌بندی نمود. تجزیه به مختصات اصلی بر اساس داده‌های RAPD و SCoT به ترتیب ۵۰/۸۲ و ۵۲/۹۷ درصد از کل واریانس را توجیه کرد.

نتیجه‌گیری: نشانگرهای مورد استفاده به خوبی توانستند جمعیت‌های گشنیز را از یکدیگر متمایز کنند. نرخ بالای چندشکلی RAPD و SCoT نشان داد که این نشانگرها برای تجزیه تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گشنیز کارآمد است. کارایی دو نشانگر تقریباً یکسان بود، لیکن بر اساس شاخص‌های محاسبه‌شده SCoT کمی بهتر از RAPD در تمایز جمعیت‌ها شناخته شد. توجیه درصد کمی از تغییرات توسط مولفه‌ها نشان داد که آغازگرها پراکندگی مناسبی بر روی ژنوم داشتند و لذا به خوبی انتخاب شده بودند. نتایج نشان داد که درون جمعیت‌های هر استان تشابه ژنتیکی نسبتاً بالا و بین جمعیت‌های استان‌های مختلف تشابه ژنتیکی کمتری وجود داشت. جهت حصول حداکثر هتروزیس، تلاقی جمعیت‌های سربیشه × بهاباد، بهاباد × بم، بیرجند × بهاباد، بیرجند × یزد و بهاباد × زرند توصیه می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: آغازگر، تجزیه‌خوشه‌ای، تشابه ژنتیکی، چندشکلی، نشانگرمولکولی

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: ضابط محمد، اکبری مریم، ایزانلو علی (۱۴۰۴) بررسی تنوع مولکولی برخی از جمعیت‌های گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با استفاده از نشانگرهای RAPD و SCoT. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۷(۴)، ۷۱-۹۸.

Publisher: Shahid Bahonar University of Kerman & Iranian Biotechnology Society.

مقدمه

گشنیز با نام علمی *Coriandrum sativum*.L یکی از مهمترین گیاهان دارویی در دنیا است (Nadi et al., 2023). سابقه استفاده از گشنیز به عنوان یک گیاه دارویی به ۲۵۰۰ سال قبل از میلاد می‌رسد (Coşkuner et al., 2007). گشنیز با فرمول ژنومی 2n=2x=22، گیاهی دیپلوئید، علفی و یک ساله است و ایران چهارمین تولیدکننده این محصول در جهان به شمار می‌رود. (Nadi et al., 2023; 2021; Diederichsen et al., 1996). واویلوف خاستگاه تیپ‌های زراعی گشنیز را آسیای مرکزی، خاور نزدیک و اتیوپی ذکر کرده است (Coşkuner et al., 2007). گشنیز گیاهی دگرگشن با درصد دگرگشنی بین ۶۰ تا ۷۰ درصد است و تنوع زیادی در ارقام تجاری دارد (Diederichsen et al., 1996). میزان تولید گشنیز در دنیا حدود دو میلیون تن و ایران با حدود ۵۶ هزار تن در رتبه چهارم جهان قرار دارد. ایران با سهم ۵ درصدی از بازار جهانی جایگاه ششم صادرات را به خود اختصاص داده است (Moradi Behjo et al., 2021). استان همدان با ۶۵ درصد و شهرستان نهاوند با ۴۰ درصد تولید گشنیز کشور، رتبه اول را به خود اختصاص می‌دهد (Khosravi et al., 2021). مواد مؤثره‌ی موجود در گیاهان دارویی اگرچه توسط فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند ولی به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارند (Omid Beigi, 2022)، لذا اصلاح گیاهان دارویی به‌منظور افزایش مواد مؤثره آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. امروزه گیاهان دارویی، به عنوان جایگزینی برای داروهای شیمیایی محسوب می‌شوند. به همین دلیل، حفظ گونه‌های دارویی بومی و در معرض خطر نابودی، تولید ارقام با کیفیت بالا و شناخت تنوع ژنتیکی در دهه‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Baruah et al., 2017). تحقیقات انجام شده روی تنوع ژنتیکی فقط محدود به گیاهان وحشی نبوده و بیشتر بر گیاهان زراعی و باغی معطوف است. در حال حاضر با تمرکز بر زراعت تک‌کشتی و کاهش تعداد اجداد واقعی گیاهان زراعی در حال کاهش تنوع ژنتیکی گیاهان هستیم (Pullaiah et al., 2015). کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی

میان افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی، امکان سازماندهی خزانه‌ی ژنی و نمونه‌گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها را فراهم می‌سازد (Aghaei et al., 2012). ابزارهای مختلفی مانند نشانگرهای مورفولوژیکی، فنولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی برای سنجش تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها وجود دارد (Jesus et al., 2009). استفاده از یک ابزار ژنتیکی دقیق برای پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی ضرورت دارد. نشانگرهای ژنتیکی از پیشرفت‌های مهم در زمینه به‌نژادی گیاهی هستند (Kebriyaee et al., 2012). نشانگرهای مولکولی مکمّل نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی هستند (Hua et al., 2018). این نشانگرها علاوه بر گیاهان در دامنه وسیعی از جانوران نیز مورد استفاده قرار گرفته است (Mohammadabadi, 2016; Ghasemi et al., 2010; Mohammadabadi et al., 2021). نشانگرهای RAPD و SCoT[1] دو مورد از نشانگرهای پرکاربرد برای بررسی تنوع ژنتیکی هستند. در نشانگر RAPD، چندشکلی داخل و یا بین محل‌های اتصال آغازگر می‌تواند از وجود یا عدم وجود نوارهای خاص در روی ژل الکتروفورز تشخیص داده شود (Jiang, 2003). نشانگر مولکولی SCoT یا کدون‌های آغاز موردهدف، روشی است که در آن آغازگرها بر اساس توالی‌های آغاز (ATG) طراحی شده و نواحی بین کدون‌های آغاز طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر، و تفاوت‌ها آشکار می‌شود. آغازگرهای SCoT معمولاً ۲۴–۱۸ نوکلئوتیدی هستند و محتوای C و G آنها ۵۰ تا ۷۲ درصد است (Kalendar et al., 2017). نشانگرهای SCoT به طور کلی در مقایسه با ISSR و RAPD از تکرارپذیری بیشتری برخوردارند و عقیده بر این است که طول و دمای اتصال آغازگرها، تنها عواملی نیستند که در تکرارپذیری الگوی نواربندی آنها نقش دارند. از مزایای این نشانگر می‌توان به آسان بودن و کم هزینه‌بودن بکارگیری آن، چندشکلی بالا، آشکارسازی اطلاعات ژنتیکی وسیع و فراگیر بودن آغازگرهای آن در ژنوم گیاهان اشاره کرد. افزون براین، در طراحی آغازگرهای این نشانگر به اطلاع از توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست. نشانگر SCoT نیازی به دانش قبلی در مورد توالی هدف ندارد؛ تکرارپذیر، قابل اعتماد، کارآمد و کاربرد آن آسان است (Collard & Mackill, 2009). به دلیل استفاده از آغازگرهای طویل، SCoTها بسیار تکرارپذیرتر هستند. به طور کلی نشانگر SCoT با ژن‌های عملکردی و صفات مربوط به آنها ارتباط دارد و هنگامی که با RAPD، ISSR و SSR همراه می‌شود، تنوع را در سطح ژن‌ها نشان می‌دهد که امکان یافتن آلل‌های جدید را در بین خزانه‌های ژنی فراهم می‌کند. با توجه به آنکه اطلاعات بدست آمده توسط SCoT از خود ژن یا نواحی حفاظت شده‌ی اطراف آن به‌دست می‌آید از اهمیت بالایی برخوردار است (Sankhla et al., 2015). در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی گشنیز با استفاده از صفات فنولوژیکی، مورفولوژیکی و کمی مطالعات نسبتاً خوبی انجام شده است. در ارزیابی صفات تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد شاخه اولیه، تعداد شاخه ثانویه، تعداد چتر، تعداد چترک، تعداد دانه و عملکرد دانه، تنوع، وراثت‌پذیری بالا و پیشرفت ژنتیکی مشاهده شد (Sharangi et al., 2024). در مطالعه‌ی ۱۱۹ ژنوتیپ مختلف گشنیز، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی و شاخص برداشت متغیر بود و تجزیه خوشه‌ای و نقشه حرارتی بیانگر تنوع بین ژنوتیپ‌ها بود (Basol et al., 2024). بررسی تنوع ژنتیکی ۲۶ توده‌ی بومی گشنیز ایران نیز بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین توده‌ها از لحاظ صفات مختلف مورفولوژیکی و مقدار فنول بود (Nezafat et al., 2023). بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰ واریته گشنیز هند با استفاده از نشانگر RAPD در مجموع ۷۴ نوار واضح تولید نمود. تعداد نوارها از ۱۳–۶ و اندازه‌ها نوارها بین ۴۴۸۶– ۳۷۰ جفت‌باز متغیّر بود. مقدار PIC بین ۰/۲۲ – ۰/۰۵ و ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۹– ۰/۷ برآورد شد. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در دو گروه اصلی قرار داد (Sowmya et al., 2025). ارزیابی سه توده گیاه گشنیز به کمک نشانگرهای

[1] Start Codon Targeted (SCoT)

مورفولوژیکی و مولکولی RAPD حاکی از همبستگی مثبت بین تمامی صفات مورد بررسی بود. پنج آغازگر RAPD، در مجموع ۳۳ نوار تکثیر نمودند که ۱۰ نوار از آنها چندشکل بودند. میانگین پایین چندشکلی (۳۰/۳ درصد) نشان‌دهنده‌ی وجود تنوع ژنتیکی کم در ارقام گشنیز مورد مطالعه بود (Choudhary et al., 2021). با هدف تعیین تنوع ژنتیکی ۲۳ ژنوتیپ گشنیز با استفاده از ۱۴ آغازگر RAPD، در مجموع ۶۴/۳۴ درصد چندشکلی به‌دست آمد. تعداد کل نوارهای تکثیرشده بین ۳ تا ۱۱ در هر آغازگر متغیر بود. میانگین PIC، ۰/۲۲۹ و ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۹۳-۰/۶۳ بود. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را به دو خوشه اصلی تقسیم نمود (Sharma, 2020). در بررسی خصوصیات مولکولی ۲۴ ژنوتیپ گشنیز با استفاده از ۱۸ آغازگر تصادفی RAPD، ۷۰/۴۶ درصد چندشکل به دست آمد. بر اساس دندروگرام، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه و چندین زیرگروه طبقه‌بندی شدند. تجزیه PCoA جداسازی ژنوتیپ‌های گشنیز بر اساس تجزیه‌ی خوشه‌ای را تأیید کرد (Choudhary et al., 2022). گزارش‌های مربوط به تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT در گشنیز بسیار اندک است. بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰ توده بومی گشنیز به کمک ۱۰ آغازگر SCoT، تعداد نوارهای مشاهده‌شده را از ۵ تا ۲۷ نوار، بالاترین مقدار شاخص نشانگری را ۸/۹۳، میانگین قدرت تفکیک نشانگری را ۲۱/۳۰ و بیش‌ترین شاخص تنوع ژنی نی و شانون را ۰/۴۶ و ۰/۷۲ نشان داد. کمترین و بیش‌ترین یکنواختی مربوط به توده‌های لرستان الف (۱/۶۴) و خراسان جنوبی الف (۳/۱) و کمترین و بیش‌ترین درصد چندشکلی مربوط به توده لرستان الف (۸۱/۸۸) و خراسان جنوبی الف (۳۹/۳۸) بود. تنوع بین و درون جمعیت‌ها به ترتیب ۲۰ و ۸۰ درصد برآورد شد. بیش‌ترین فاصله مربوط به توده‌های کرمان با آذربایجان غربی، خراسان جنوبی ب با یزد و گلستان با یزد و کمترین فاصله مربوط به خراسان جنوبی ب با کرمان، گلستان با کرمان، گلستان با خراسان جنوبی ب و آذربایجان غربی با گلستان گزارش شد (Etesami et al., 2020). اگرچه سابقه کاشت گشنیز به هزاران سال پیش بازمی‌گردد، ولی باید گفت که در مورد به‌نژادی آن تاکنون پیشرفت قابل ملاحظه‌ای صورت نگرفته است و در حال حاضر رقم اصلاح‌شده‌ای از آن در دست نیست. گشنیز در ایران بیشتر به‌صورت جمعیت‌های بومی کشت می‌شود و تقریباً هیچ تلاشی برای اصلاح این گیاه انجام نشده است. آگاهی از تنوع ژنتیکی، قدم اول یک کار به‌نژادی و تهیه رقم در گیاه گشنیز است. در زمینه تنوع ژنتیکی، مطالعات انجام‌شده روی گیاه گشنیز بسیار اندک است و بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که تا کنون در تعداد محدودی از مطالعات، جمعیت‌های موجود در ایران معمولاً به صورت مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفته است و تحقیقات بسیار اندکی، تنوع ژنتیکی آن را با استفاده از نشانگرهای مولکولی مورد واکاوی قرار داده است. این پژوهش در راستای به‌نژادی گشنیز با هدف شناخت تنوع بین جمعیت‌های گشنیز استان‌های هم‌جوار خراسان جنوبی، یزد و کرمان با استفاده از نشانگرهای مولکولی SCoT وRAPD و هم‌چنین سنجش کارایی هر یک از این نشانگرها در برآورد مقدار تنوع موجود، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: این تحقیق طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی گروه تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه بیرجند انجام شد. تعداد ۱۶ جمعیت بومی گشنیز از شهرستان‌های مختلف سه استان خراسان جنوبی (۴ جمعیت)، یزد (۴ جمعیت) و کرمان (۸ جمعیت) جمع‌آوری شد (جدول ۱). ابتدا بذرها با تعداد بالا در ۱۶ گلدان به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و قطر ۲۷ سانتی‌متر با خاک لومی- شنی که از مزرعه تهیه شده بود، کشت شدند. بعد از استقرار گیاهان، پنج

بوته که نماینده جمعیت بود، نگه داشته شد. آبیاری گلدان‌ها تا زمان رسیدن بوته‌ها به مرحله‌ی پنج‌برگی ادامه یافت. از هر گلدان پنج نمونه‌ی برگی به‌صورت تصادفی انتخاب (با در نظر گرفتن اینکه از هر بوته یک نمونه برگی انتخاب شود) و درون پوش‌برگ (فویل آلومینیومی) قرار گرفت و سپس در نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه‌ی آزمایشگاه منتقل شد. استخراج DNA با روش تغییر یافته CTAB انجام شد (Narzary et al., 2015). برای استخراج DNA، ۰/۲ گرم از هر نمونه در داخل هاون چینی استریل و در حضور نیتروژن مایع پودر و سپس نمونه‌های پودرشده به میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری حاوی ۶۸۶ میکرولیتر بافر استخراج CTAB (سه درصد)، تریس (۱۰۰ میلی‌مولار)، EDTA (۲۰ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۱/۴ میلی‌مولار) به همراه ۱۴ میکرولیتر بتا مرکاپتواتانول اضافه شد. کمیّت DNAهای استخراج‌شده به کمک دستگاه نانودراپ (مدل Thermo Scientific 2000) تعیین شد. از هر نمونه، دو میکرولیتر بر روی حسگر دستگاه قرار داده و نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ (برای بررسی مقدار آلودگی‌های پروتئینی) و ۲۳۰/۲۶۰ (برای بررسی مقدار آلودگی‌های فنولی و پلی‌فنولی) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش، اگر نسبت مقدار جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر به مقدار جذب در طول موج ۲۸۰ نانومتر در محدوده ۲-۱/۸ باشد، نشان‌دهنده این است که جذب عمدتاً توسط اسیدهای نوکلئیک صورت گرفته و کیفت DNAی حاصله مطلوب است. کیفیّت و کمیّت DNAی استخراج‌شده با استفاده از دستگاه الکتروفورز افقی بر روی ژل آگارز یک درصد انجام شد. در این آزمایش از ۱۲ آغازگر RAPD و ۲۰ آغازگر SCoT استفاده شد که از مجموع این آغازگرها، ۱۰ عدد از آغازگرهای RAPD و ۱۵ آغازگر SCoT بعد از الکتروفورز محصول PCR نوارهایی با وضوح بالا تشکیل دادند که از این آغازگرها برای ادامه تحقیق استفاده گردید (جدول ۲). آغازگرها به صورت خشک و فریزشده از شرکت سیناکلون خریداری و تهیه گردید. به منظور تعیین بهترین دمای اتصال آغازگرها تست گرادیان دمایی روی نمونه‌های بالک (مخلوط چند نمونه) صورت گرفت. در ابتدای کار برای آزمون آغازگرها نمونه‌ی DNAی بالک تهیه شد؛ به این صورت که پنج نمونه DNA به طور تصادفی انتخاب و باهم مخلوط گردید. هدف از این کار آزمون اولیه آغازگرها بر روی جمعیت‌ها بود تا چنانچه اگر یک نمونه‌ی DNA مشکلی داشته باشد، آغازگر بتواند بر روی سایر DNAها تکثیر انجام دهد. به عبارت دیگر هدف بالابردن دقت و اطمینان از کیفیّت DNA و آغازگرها بود. میزان DNA در هر واکنش ۳۰ نانوگرم در نظر گرفته شد. مخلوط واکنش با حجم‌های مشخص آماده (جدول ۳) و به تیوپ‌های حاوی آغازگرهای مختلف اضافه شد و سپس واکنش‌های PCR انجام گردید. واکنش PCR با دستگاه ترموسایکلر (مدل Mastercycler gradiant, Eppendorf, Germany) صورت گرفت. مسترمیکس از شرکت یکتا تجهیز آزما و آغازگرها بصورت خشک فریزشده از شرکت سینا کلون خریداری شد. واکنش PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA الگو (۲۰ نانوگرم)، یک میکرولیتر آغازگر (۰/۶۷ پیکومول)، ۱۰ میکرولیتر مخلوط واکنش و هشت میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود (جدول ۳ و ۴). الکتروفورز افقی محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز یک درصد در بافر (TAE 1X) انجام شد. از بافر TAE 1X برای تانک دستگاه الکتروفورز استفاده شد. مقدار سه میکرولیتر از هر نمونه با دو میکرولیتر رنگ داخل چاهک‌ها بارگزاری شد. ولتاژ دستگاه روی ۹۰ ولت و زمان ۴۰ دقیقه تنظیم شد. پس از رنگ آمیزی ژل با استفاده از محلول سیف‌استین قطعات تکثیر یافته‌ی DNA توسط دستگاه ژل‌داک (مدل Clear view, cleaver scientific, UnitedKingdom) زیر نور فرابنفش مشاهده و عکس‌برداری گردید. برای بررسی جایگاه و مقایسه بهتر نوارها از پنج میکرولیتر لَدِر (ExcelBand™ 100bp+1.5kb DNA Ladder) استفاده شد.

جدول ۱. جمعیت‌های گشنیز جمع‌آوری شده و موقعیت جغرافیایی آن‌ها

Table 1. Collected *Coriandrum sativum* populations and their geographical location

شماره Number	منطقه Location	استان Province	عرض شمالی Northern latitude	طول شرقی Eastern longitude	ارتفاع از سطح دریا Elevation
1	Birjand بیرجند	استان خراسان جنوبی Province Southern Khorasan	32° 53′ N	59° 13′ E	1470
2	Khusf خوسف	استان خراسان جنوبی Southern Khorasan Province	31° 40′ N	56° 06′ E	1300
3	نهبندان Nehbandan	استان خراسان جنوبی Southern Khorasan Province	30° 32′ N	58° 35′ E	196
4	سربیشه Sarbishe	استان خراسان جنوبی Southern Khorasan Province	59° 32′ N	59° 49′ E	1550
5	Yazd یزد	Yazd Province استان یزد	29° 22′ N	52° 55′ E	1200
6	Taft تفت	Yazd Province استان یزد	31° 45′ N	54° 12′ E	1549
7	Abarkoh ابرکوه	استان یزد Yazd Province	53° 16′ N	31° 07′ E	1550
8	Bahabad بهاباد	استان یزد Yazd Province	31° 33′ N	55° 36′ E	1564
9	Kerman کرمان	استان یزد Yazd Province	25° 55′ N	53° 26′ E	1755
10	Sirjan سیرجان	استان کرمان Kerman Province	29° 28′ N	55° 34′ E	1730
11	Bam بم	استان کرمان Kerman Province	29° 06′ N	58° 21′ E	1061
12	Zarand زرند	استان کرمان Kerman Province	30° 49′ N	56° 34′ E	1656
13	شهربابک Shahr-e Babak	استان کرمان Kerman Province	30° 06′ N	55° 07′ E	1845
14	Baft بافت	Kerman Province استان کرمان	28° 06′ N	55° 15′ E	2280
15	Ravar راور	Kerman Province استان کرمان	31° 16′ N	56° 49′ E	1181
16	Mahan ماهان	Kerman Province استان کرمان	30° 04′ N	57° 17′ E	1895

تجزیه‌های آماری: در ابتدا عکس‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار ImageJ مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که هر دو نشانگر مورد استفاده ماهیت غالب داشتند، به وجود هر نوار با طول مشخص عدد یک و به عدم وجود آن عدد صفر اختصاص داده شد و اطلاعات حاصل از نوارها به عنوان ماتریس داده‌ها مورد تجزیه قرار گرفت. برای ارزیابی کارایی آغازگرها، صفات و شاخص‌هایی مانند تعداد آلل تکثیر شده (N_a)، تعداد آلل چندشکل، تعداد آلل مؤثر (Ne)، درصد چندشکلی (PP= Polymorphism Percent) (تقسیم تعداد نوارهای چندشکل بر کل نوارها)، شاخص چندشکلی (DI= Diversity Index) یا شاخص محتوای چندشکلی (PIC= Polymorphism Information Content): از فرمول $PIC=1-\Sigma p_i^2$ محاسبه می‌شود که p_i فراوانی نشانگر i ام می‌باشد، شاخص نسبت چندشکلی موثر (EMR=Effective Multiple Ratio): از درصد چندشکلی × تعداد نوارهای چندشکل، شاخص نشانگری (MI= Marker Index): تعداد نوارهای چندشکل × شاخص محتوای چندشکلی، قدرت تفکیک

(RP= Resolving Power) $RP=\sum IB$: که در آن $IB=1-[2*(0.5-Pi)]$ که pi نسبت افراد دارای نوار، محاسبه شد (Agrama & Tuinstra, 2003; Botstein et al., 1980; Lewontin, 1972).

جدول ۲. مشخصات آغازگرهای RAPD و SCoT مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The characteristics of RAPD and SCoT primers employed in the experiment

شماره Number	آغازگر Primer	توالی Sequence	دمای اتصال Tm (̊C)	شماره Number	آغازگر Primer	توالی Sequence	دمای اتصال Tm (̊C)
	RAPD				SCoT		
1	RD1	5′-AGGGGTCTTG-3′	35	1	SCoT$_{1}$	3'-CAACAATGGCTACCACCA-5'	53
2	RD2	5′-GTTGCGATCC-3′	35	2	SCoT$_{2}$	3'-CAACAATGGCTACCACCC-5'	55
3	RD3	5′-GGAAACCCCT-3′	35	3	SCoT$_{7}$	3'-CAACAATGGCTACCACGG-5'	55
4	RD4	5′-TGGCGCACAC-3′	35	4	SCoT$_{12}$	3'-ACGACATGGCGACCAACG-5'	58
5	RD5	5′-GGCACGCGTT-3′	35	5	SCoT$_{13}$	3'-ACGACATGGCGACCATCG-5'	58
6	RD6	5'-TGAGTGGGGTG-3'	35	6	SCoT$_{14}$	3'-ACGACATGGCGACCACGC-5'	59
7	RD7	5′-ACACCGATGG-3′	35	7	SCoT$_{15}$	3'-ACGACATGGCGACCGCGA-5'	58
8	RD8	5′-GTGGCCGATG-3′	35	8	SCoT$_{21}$	3'-ACGACATGGCGACCCACA-5'	57
9	RD9	5′-ACGGAAGTGG-3′	35	9	SCoT$_{22}$	3'-AACCATGGCTACCACCAC-5'	55
10	RD10	5′-AGGGGTCTTG-3′	35	10	SCoT$_{23}$	3'-CACCATGGCTACCACCAG-5'	57
				11	SCoT$_{24}$	3'-CACCATGGCTACCACCA-5'	52
				12	SCoT$_{30}$	3'-CCATGGCTACCACCGGCG-5'	59
				13	SCoT$_{33}$	3'-CCATGGCTACCACCGCAG-5'	55
				14	SCoT$_{35}$	3'-CATGGCTACCACCGGCCC-5'	59
				15	SCoT$_{36}$	3'-GCAACAATGGCTACCACC-5'	54

به منظور تعیین پراکندگی آغازگرها در طول ژنوم تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) و به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها و همچنین تعیین تشابه ژنتیکی افراد تجزیه خوشه‌ای انجام شد. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA انجام شد. در تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای NTSYSpc.2.2 (Applied Biostatistics Inc.)، SPSS (IBM Statistics version 26) و Excel 2020 (Microsoft Office Professional 2020) استفاده شد.

جدول ۳. اجزای واکنش و برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نشانگر SCoT

Table 3. The components and cycles program for SCoT-PCR reactions

واکنش زنجیرهای پلیمراز PCR				SCoT		
مواد Materials	غلظت نهایی Final concentration	اجزای واکنش Reaction components	مراحل Step	تعداد چرخه Cycle Number	دما (سلسیوس) Temp (C°)	زمان (دقیقه/ثانیه) Time (min/s)
آب دوبار تقطیر Double distilled water	–	8 میکرولیتر µl	واسرشت‌سازی اولیه Initial denaturation	1	94	4min
مخلوط واکنش Master mix	دو برابر 2X	10 میکرولیتر µl	واسرشت‌سازی Denaturation	40	94	45s
آغازگر Primer	0.67 پیکومول pm	1 میکرولیتر µl	اتصال Annealing	40	Tm-5	45s
دی‌ان‌ای DNA	20 نانوگرم/میکرولیتر ng/µl	1 میکرولیتر µl	گسترش Extension	40	72	1min
جمع Total		20 میکرولیتر µl	بسط نهایی Final extension	1	72	5min

جدول ٤. اجزای واکنش و برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نشانگر RAPD

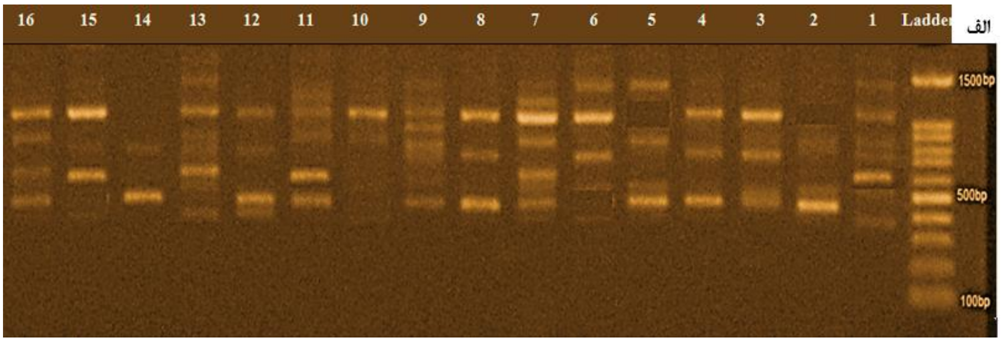
Table 4. The components and cycles program for RAPD-PCR reactions

واکنش زنجیرهای پلیمراز PCR				RAPD		
مواد Materials	غلظت نهایی Final concentration	اجزای واکنش Reaction components	مراحل Step	تعداد چرخه Cycle Number	دما (سلسیوس) Temp (C°)	زمان (دقیقه) Time (min)
آب دوبار تقطیر Double distilled water	–	8 میکرولیتر µl	واسرشت‌سازی اولیه Initial denaturation	1	95	4
مخلوط واکنش Master mix	دو برابر 2X	10 میکرولیتر µl	واسرشت‌سازی Denaturation	45	94	1
آغازگر Primer	0.67 پیکومول pm	1 میکرولیتر µl	اتصال Annealing	45	35	1
دی‌ان‌ای DNA	20 نانوگرم/میکرولیتر ng/µl	1 میکرولیتر µl	گسترش Extension	45	72	2
جمع Total	–	20 میکرولیتر µl	بسط نهایی Final extension	1	72	6

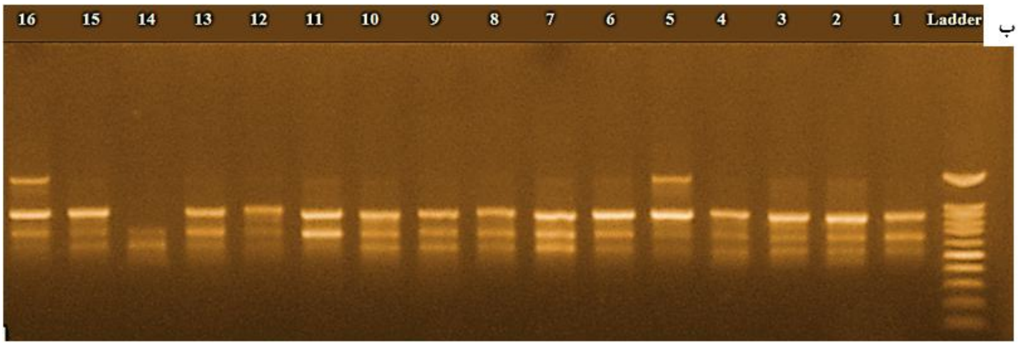
نتایج و بحث

ارزیابی کارایی آغازگرها و بررسی چندشکلی: از ۱۲ آغازگر RAPD، ۱۰ آغازگر و از ۲۰ آغازگر SCoT، ۱۵ آغازگر چندشکلی و وضوح بالایی را نشان دادند. در کل ۱۰ آغازگر RAPD، ۴۰ نوار (به طور متوسط ۴ نوار به ازای هر آغازگر) و ۱۵ آغازگر SCoT، ۸۶ نوار (به طور متوسط ۵/۷ نوار به ازای هر آغازگر) با وضوح بالا تولید نمودند که طول آنها به ترتیب بین ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ و ۱۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت‌باز برای نشانگرهای RAPD و SCoT متغیر بود. نمونه‌ای از الگوی نوارهای تکثیرشده توسط آغازگرهای RD8 (نشانگر RAPD) و SC7 (نشانگر SCoT) در شکل ۱ نشان داده شده است.

الف



ب



شکل ۱. الگوی نوارهای جمعیت‌های گشنیز: الف- آغازگر RD8 (نشانگر RAPD)، ب- آغازگر SC7 (نشانگر SCoT)

Figure 1. Band pattern of coriander populations: a- RD8 (RAPD), b- SC7 (SCoT) primer

درصد چندشکلی در نشانگر RAPD، ۱۰۰ درصد و در نشانگر SCoT، ۹۷/۶۷ درصد به‌دست آمد. در نشانگر RAPD دو آغازگر RD6 و RD8 بیشترین تعداد نوار (۵ نوار) و آغازگرهای RD7 و RD10 کمترین تعداد نوار (۳ نوار) را تکثیر کردند. در نشانگر SCoT دو آغازگر SC11 و SC13 بیشترین نوار (۹ عدد) و آغازگر SC4 کم‌ترین تعداد نوار (۳ نوار) را تکثیر نمودند. در نشانگر RAPD تمامی آغازگرها ۱۰۰ درصد چندشکلی نشان دادند و از این لحاظ مشابه بودند، اما در نشانگر SCoT دو آغازگر

SC1 و SC14 به ترتیب با ۷۵ و ۸۷/۵ درصد کمترین درصد چندشکلی را نشان دادند و در باقی آغازگرها ۱۰۰ درصد چندشکلی مشاهده شد. مقدار متوسط PIC برای نشانگر RAPD برابر با ۰/۴۳ و برای نشانگر SCoT برابر با ۰/۳۸ به‌دست آمد. دامنه‌ی مقدار PIC در نشانگر RAPD بین ۰/۳۶ در آغازگر RD8 تا ۰/۴۹در آغازگر RD7 و در نشانگرSCoT بین ۰/۲۰ در آغازگر SC1 و ۰/۴۸ در آغازگر SC15 متغیّر بود (جداول ۵ و ۶). مقدار متوسط شاخص نشانگری (MI) برای نشانگر RAPD برابر با ۱/۶۹ و نشانگر SCoT برابر با ۲/۰۹ بود. در نشانگر RAPD، بیش‌ترین مقدار شاخص نشانگری (۱/۸۶) را آغازگر RD5 و کمترین مقدار شاخص نشانگری (۱/۴۱) را آغازگر RD10 و در نشانگرSCoT، بیش‌ترین مقدار شاخص نشانگری (۳/۸۰) را آغازگر SC11 و کمترین مقدار شاخص نشانگری (۰/۴۶) را آغازگر SC1، به خود اختصاص دادند. مقدار متوسط شاخص نسبت چندشکلی موثر در نشانگر RAPD برابر با ۴ و در نشانگر SCoT برابر با ۵/۴۹ به‌دست آمد. در نشانگر RAPD بیش‌ترین مقدار شاخص نسبت چندشکلی موثر (۵) را آغازگرهای RD6 و RD8 و کمترین مقدار (۳) را آغازگرهای RD7 و RD10 و در نشانگر SCoT بیش‌ترین مقدار شاخص نسبت چندشکلی موثر (۹) را آغازگرهای SC11 و SC13 و کمترین مقدار (۲/۲۵) را آغازگر SC1 به خود اختصاص دادند. مقدار متوسط قدرت تفکیک (RP) برای نشانگرهای RAPD وSCoT به ترتیب برابر با ۲/۸۱ و ۳/۳۸ برآورد گردید. بیشینه و کمّینه‌ی مقدار این شاخص در نشانگر RAPD برابر با ۳/۱۴ (آغازگر RD9) و ۲/۳۸ (آغازگر RD10) و در نشانگر SCoT بیشینه و کمّینه‌ی مقدار این شاخص برابر با ۶/۲۵ (آغازگر SC11) و ۱ (آغازگر SC1) بود (جدول ۵ و ۶).

جدول ۵. شاخص‌های مولکولی نشانگر RAPD

Table 5. Molecular indices of RAPD markers

آغازگر Primer	تعداد کل نوارها N. of bands	تعداد نوارهای چندشکل N. of polymorph bands	درصد چندشکلی Polymorphism percent	شاخص محتوای چندشکلی PIC	نسبت چندشکلی موثر EMR	شاخص نشانگر MI	شاخص قدرت تفکیک RP
RD1	4.00	4.00	100.00	0.45	4.00	1.81	3.13
RD2	4.00	4.00	100.00	0.40	4.00	1.59	2.63
RD3	4.00	4.00	100.00	0.43	4.00	1.73	2.75
RD4	4.00	4.00	100.00	0.43	4.00	1.69	2.81
RD5	4.00	4.00	100.00	0.47	4.00	1.86	3.00
RD6	5.00	5.00	100.00	0.37	5.00	1.83	2.75
RD7	3.00	3.00	100.00	0.49	3.00	1.46	2.63
RD8	5.00	5.00	100.00	0.36	5.00	1.79	2.88
RD9	4.00	4.00	100.00	0.43	4.00	1.71	3.14
RD10	3.00	3.00	100.00	0.47	3.00	1.41	2.38
Mean	4.00	4.00	100.00	0.43	4.00	1.69	2.81

جدول ٦. شاخص‌های مولکولی نشانگر SCoT

Table 6. Molecular indices of SCoT markers

آغازگر Primer	تعداد کل نوارها N. of bands	تعداد نوارهای چندشکل N. of polymorph bands	درصد چندشکلی Polymorphism percent	شاخص محتوای چندشکلی PIC	نسبت چندشکلی موثر EMR	شاخص نشانگر MI	شاخص قدرت تفکیک RP
SC1	4.00	3.00	75.00	0.20	2.25	0.46	1.00
SC2	6.00	6.00	100.00	0.33	6.00	1.98	3.13
SC3	6.00	6.00	100.00	0.37	6.00	2.23	3.50
SC4	3.00	3.00	100.00	0.48	3.00	1.43	2.38
SC5	4.00	4.00	100.00	0.44	4.00	1.77	3.00
SC6	6.00	6.00	100.00	0.34	6.00	2.03	3.00
SC7	5.00	5.00	100.00	0.33	5.00	1.63	2.13
SC8	6.00	6.00	100.00	0.48	6.00	2.88	5.13
SC9	3.00	3.00	100.00	0.47	3.00	1.41	2.38
SC10	5.00	5.00	100.00	0.46	5.00	2.31	3.75
SC11	9.00	9.00	100.00	0.42	9.00	3.80	6.25
SC12	6.00	6.00	100.00	0.39	6.00	2.32	3.63
SC13	9.00	9.00	100.00	0.30	9.00	2.71	3.63
SC14	8.00	7.00	87.50	0.25	6.13	1.50	2.63
SC15	6.00	6.00	100.00	0.48	6.00	2.91	5.25
Mean	5.73	5.60	97.67	0.38	5.49	2.09	3.38

PIC= Polymorphism Information Content, EMR= Effective Multiple Ratio, MI= Marker Index, RP= Resolving Power

فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و تجزیه خوشه‌ای: بررسی ضرایب همبستگی کوفنتیک نشان داد که ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم (UPGMA) به دلیل دارا بودن بالاترین ضریب همبستگی در هر دو نشانگر RAPD و SCoT (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۸۳) به عنوان بهترین ضریب و بهترین الگوی خوشه‌بندی شناخته شدند؛ لذا بر اساس این الگو ماتریس تشابه بدست آمد و تجزیه خوشه‌ای انجام شد (جدول ۷).

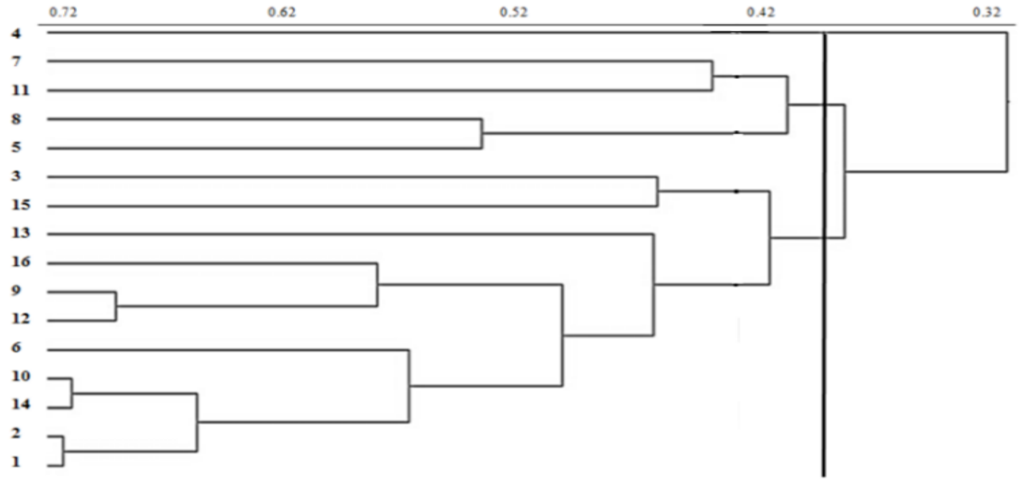
جدول ۷. ضرایب همبستگی کوفنتیک برای نشانگرهای RAPD و SCoT

Table 7. Cophenetic correlation coefficient for RAPD and SCoT markers

الگوریتم Algorithm	کامل Complete		منفرد Single		روش جفت گروه بدون وزن با میانگین حسابی UPGMA	
Similarity coefficient ضریب تشابه	RAPD	SCoT	RAPD	SCoT	RAPD	SCoT
Dice دایس	0.61**	0.67**	0.72**	0.70**	0.73**	0.74**
تطابق ساده SM	0.64**	0.72**	0.74**	0.80**	0.74**	0.82**
Jaccard جاکارد	0.62**	0.71**	0.72**	0.73**	0.78**	0.83**
UN1	0.66**	0.82**	0.66**	0.82**	0.71**	0.74**

بر اساس ماتریس تشابه به‌دست آمده از داده‌های نشانگر RAPD مقدار تشابه ژنتیکی جمعیت‌ها بین ۰/۱۸ تا ۰/۶۴ با متوسط ۰/۴۱ متغیّر بود. بیشترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های ۹ و ۱۲ (۰/۶۹ بین کرمان و زرند)، ۵ و ۸ (۰/۶۸ بین یزد و بهاباد) و ۱۰

و ۱۴ (۰/۶۸ بین سیرجان و بافت) و کمترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های ۴ و ۸ (۰/۱۸ بین سربیشه و بهاباد) و ۸ و ۱۱ (۰/۲۱ بین بهاباد و بم) به‌دست آمد. بر اساس ماتریس تشابه متوسط ضریب تشابه در درون جمعیت‌های استان خراسان جنوبی ۰/۴۲، در درون جمعیت‌های استان کرمان ۰/۴۹ و در درون جمعیت‌های استان یزد ۰/۵۹ به‌دست آمد. متوسط ضریب تشابه بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی با استان کرمان ۰/۳۹، بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی با استان یزد ۰/۳۵ و بین جمعیت‌های استان کرمان با استان یزد ۰/۴۲ برآورد شد. بر اساس ماتریس تشابه به‌دست آمده از داده‌های نشانگر SCoT مقدار تشابه ژنتیکی جمعیت‌ها بین ۰/۲۸ تا ۰/۷۴ با متوسط ۰/۵۵ متغیّر بود. بیشترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های ۹ و ۱۴ (۰/۶۸ بین کرمان و بافت) و ۱ و ۲ (۰/۶۷ بین بیرجند و خوسف) و کمترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های ۱ و ۸ (۰/۳۰ بین بیرجند و بهاباد)، ۱ و ۵ (۰/۳۲ بین بیرجند و یزد) و ۸ و ۱۲ (۰/۳۲ بین بهاباد و زرند) به‌دست آمد. متوسط ضریب تشابه در درون جمعیت‌های استان خراسان جنوبی ۰/۶۲، در درون جمعیت‌های استان کرمان ۰/۵۵ و در درون جمعیت‌های استان یزد ۰/۵۷ برآورد شد. متوسط ضریب تشابه بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی با استان کرمان ۰/۵۶، بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی با استان یزد ۰/۳۸ و بین جمعیت‌های استان کرمان با استان یزد ۰/۵۳ به‌دست آمد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های نشانگر RAPD جمعیت‌های مختلف را در فاصله ۰/۴۳ در سه خوشه دسته‌بندی نمود. در خوشه‌ی اول فقط جمعیت ۴ (سربیشه) جای گرفت. خوشه‌ی دوم (چهار جمعیت) خود به دو زیر خوشه تقسیم شد و جمعیت‌های ۱۱ (بم) و ۷ (ابرکوه)، ۸ (بهاباد) و ۵ (یزد) در آن قرار گرفت. خوشه‌ی سوم (۱۱ جمعیت) خود به دو زیرخوشه تقسیم شد و جمعیت‌های ۳ (نهبندان)، ۱۵ (راور)، ۱۳ (شهر بابک)، ۱۶ (ماهان)، ۹ (کرمان)، ۱۲ (زرند)، ۶ (تفت)، ۱۰ (سیرجان)، ۱۴ (بافت)، ۲ (خوسف) و ۱ (بیرجند) قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف گشنیز بر اساس نشانگر RAPD

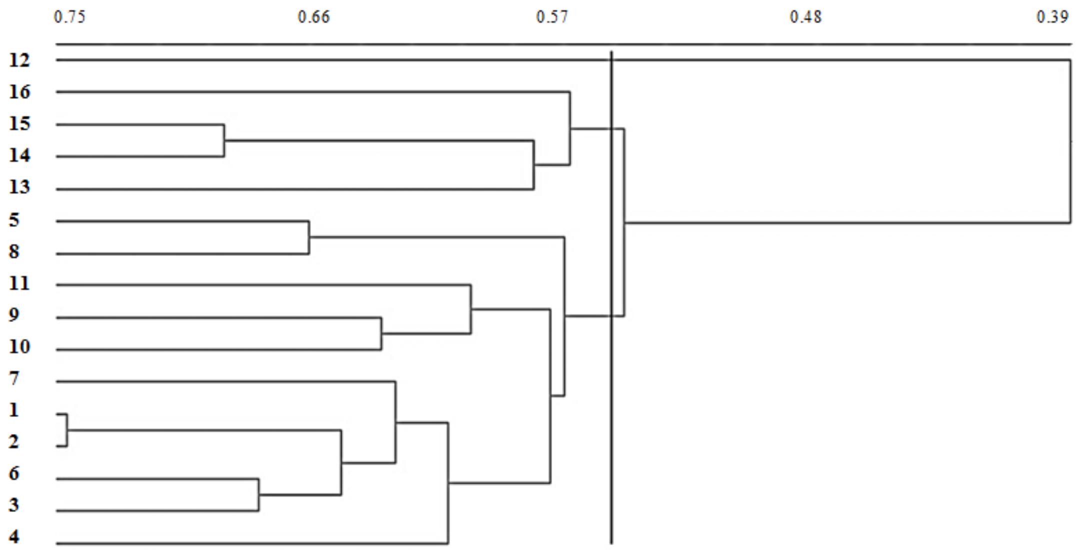
Figure 2. Cluster analysis of different coriander populations based on RAPD marker

۱- بیرجند، ۲- خوسف، ۳- نهبندان، ۴- سربیشه، ۵- یزد، ۶- تفت، ۷- ابرکوه، ۸- بهاباد، ۹- کرمان، ۱۰- سیرجان، ۱۱- بم، ۱۲- زرند، ۱۳- شهر بابک، ۱۴- بافت، ۱۵- راور، ۱۶- ماهان

1- Birjand, 2- Khusf, 3- Nehbandan, 4- Sarbishe, 5- Yazd, 6- Taft, 7- Abarkoh, 8- Bahabad, 9- Kerman, 10- Sirjan, 11- Bam, 12- Zarand, 13- Shahr Babak, 14- Baft, 15- Ravar, 16- Mahan.

در دندروگرام به‌دست آمده از داده‌های نشانگر SCoT، جمعیت‌ها در فاصله ۰/۵۵ در سه خوشه قرار گرفتند. در خوشه‌ی اول (یک جمعیت) جمعیت ۱۲ (زرند) قرار گرفت. خوشه‌ی دوم (چهار جمعیت) خود متشکل از دو زیرخوشه بود. در زیرخوشه‌ی اول جمعیت ۱۶ (ماهان) و در زیرخوشه‌ی دوم جمعیت‌های ۱۴ (بافت)، ۱۵ (راور) و ۱۳ (شهر بابک) قرار گرفت. خوشه‌ی سوم (۱۱ جمعیت) خود از دو زیرخوشه تشکیل شد. در زیرخوشه‌ی اول جمعیت‌های ۵ (یزد) و ۸ (بهاباد) و در زیرخوشه‌ی دوم جمعیت‌های ۱۱ (بم)، ۹ (کرمان) و ۱۰ (سیرجان)، ۷ (ابرکوه)، ۱ (بیرجند)، ۲ (خوسف)، ۶ (تفت)، ۳ (نهبندان) و ۴ (سربیشه) قرار گرفتند (شکل ۳).

تجزیه به مختصات اصلی: تجزیه PCoA بر اساس مقیاس‌بندی برداری SQRT (LAMBDA) انجام شد. بر اساس داده‌های نشانگر RAPD، پنج مولفه اول ۵۰/۸۲ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. مولفه اول ۱۲/۱۵ درصد، مولفه دوم ۱۱/۳۳ درصد، مولفه سوم ۱۰/۴۴ درصد، مولفه چهارم ۹/۱۵ درصد و مولفه پنجم ۷/۷۵ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. بر اساس نشانگر SCoT پنج مولفه اول ۵۲/۹۷ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. مولفه اول ۱۴/۱۶ درصد، مولفه دوم ۱۱/۳۴ درصد، مولفه سوم ۱۰/۸۵ درصد، مولفه چهارم ۸/۶۳ درصد و مولفه پنجم ۷/۹۹ درصد از واریانس کل را به خود اختصاص دادند (جدول ۸).



شکل ۳. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف گشنیز بر اساس نشانگر SCoT

Figure 3. Cluster analysis of different coriander populations based on SCoT marker

۱- بیرجند، ۲- خوسف، ۳- نهبندان، ۴- سربیشه، ۵- یزد، ۶- تفت، ۷- ابرکوه، ۸- بهاباد، ۹- کرمان، ۱۰- سیرجان، ۱۱- بم، ۱۲- زرند، ۱۳- شهر بابک، ۱۴- بافت، ۱۵- راور، ۱۶- ماهان

1- Birjand, 2- Khusf, 3- Nehbandan, 4- Sarbishe, 5- Yazd, 6- Taft, 7- Abarkoh, 8- Bahabad, 9- Kerman, 10- Sirjan, 11- Bam, 12- Zarand, 13- Shahr Babak, 14- Baft, 15- Ravar, 16- Mahan.

جدول ۸. تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) برای نشانگرهای RAPD و SCoT در جمعیت‌های گشنیز

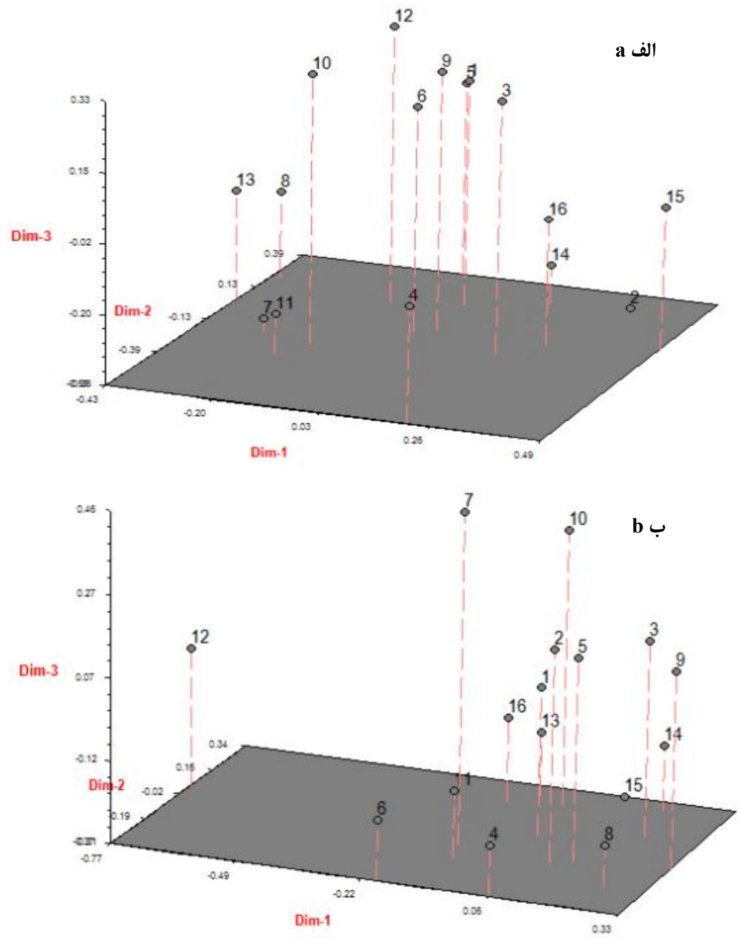
Table 8. PCoA analysis for RAPD and SCoT markers in coriander populations

مولفه Component	مقدار ویژه Eigen Value	درصد واریانس Variance (%)	درصد واریانس تجمعی Cumulative Variance (%)	مقدار ویژه Eigen Value	درصد واریانس Variance (%)	درصد واریانس تجمعی Cumulative Variance (%)
		RAPD			SCoT	
مولفه اول PC_1	1.07	12.15	12.15	0.96	14.16	14.16
مولفه دوم PC_2	1.00	11.33	23.48	0.77	11.34	25.50
مولفه سوم PC_3	0.92	10.44	33.92	0.73	10.85	36.35
مولفه چهارم PC_4	0.81	9.15	43.07	0.58	8.63	44.98
مولفه پنجم PC_5	0.68	7.75	50.82	0.54	7.99	52.97

نمودار پراکنش جمعیت‌ها بر اساس داده‌های دو نشانگر در شکل ۴ نشان داده شده است. نمودار پراکنش جمعیت‌ها نشان می‌دهد که جمعیت‌های گشنیز پراکندگی مناسبی داشته و لذا تنوع ژنتیکی کافی در بین آنها وجود دارد. در این نمودار چنانچه جمعیت‌ها در یک ناحیه‌ی خاص از نمودار پراکنش داشته باشند، نشان‌دهنده‌ی نزدیکی بین آن جمعیت‌ها و در نتیجه تشابه ژنتیکی آنها است و بنابراین تنوع زیادی بین آنها وجود ندارد؛ اما چنانچه جمعیت‌ها در نواحی مختلف نمودار پراکنده شوند، نشان‌دهنده دوربودن جمعیت‌ها از لحاظ داده‌های مولکولی مورد بررسی است و لذا تنوع ژنتیکی بالایی بین آنها وجود دارد. آنچه در این نمودارها به چشم می‌خورد جدا افتادن جمعیت ۴ (سربیشه) (شکل ۴ الف) و زرند (شکل ۴ ب) از سایر جمعیت‌ها است و با توجه به آنکه کمترین تشابه ژنتیکی بر اساس ماتریس تشابه داده‌های نشانگر RAPD بین سربیشه و بهاباد (۴ و ۸) و بر اساس ماتریس تشابه داده‌های نشانگر SCoT بین بهاباد و زرند (۸ و۱۲) مشاهده شد، لذا این نمودار نیز نتایج حاصل از ماتریس تشابه را تأیید نمود.

بحث

بررسی آغازگرها نشان داد که نشانگر RAPD درصد چندشکلی (۱۰۰ درصد) بیشتری نسبت به نشانگر SCoT، (۹۷/۶۷ درصد) داشت که این امر با توجه به تکثیر نوارهای ناخواسته و یا دقت کمتر نشانگر RAPD نسبت به SCoT دور از انتظار نیست. متوسط تعداد نوار تولیدشده و متوسط تعداد نوار چندشکل در نشانگر RAPD نسبت به نشانگر SCoT کمتر بود. علت این امر به خاطر کنار گذاشتن تعداد زیادی از نوارهای تکثیرشده به دلیل عدم اطمینان به آنها در نشانگر RAPD بود. با اینکه در این نشانگر تعداد نوار زیادی تکثیر شد، اما به دلیل عدم وضوح بالا و عدم اطمینان به آنها در نظر گرفته نشد. در نشانگر RAPD دو آغازگر RD6 و RD8 با بیشترین تعداد نوار تکثیرشده (۵ نوار) و در نشانگر SCoT دو آغازگر SC11 و SC13 با بیشترین تعداد نوار تکثیرشده (۹ عدد) به عنوان بهترین آغازگرها شناخته شدند. مقایسه نتایج این مطالعه با سایر مطالعات نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های مطالعه‌شده‌ی کنونی بیشتر از ارقام، واریته‌ها و اکوتیپ‌های خارجی بود.



شکل ٤. نمودار پراکنش ژنوتیپ‌ها برای نشانگرهای الف- RAPD، ب- SCoT

Figure 4. Distribution diagram of genotypes: a-RAPD, b- SCoT markers

۱- بیرجند، ۲- خوسف، ۳- نهبندان، ۴- سربیشه، ۵- یزد، ۶- تفت، ۷- ابرکوه، ۸- بهاباد، ۹- کرمان، ۱۰- سیرجان، ۱۱- بم، ۱۲- زرند، ۱۳- شهر بابک، ۱۴- بافت، ۱۵- راور، ۱۶- ماهان

1- Birjand, 2- Khusf, 3- Nehbandan, 4- Sarbishe, 5- Yazd, 6- Taft, 7- Abarkoh, 8- Bahabad, 9- Kerman, 10- Sirjan, 11- Bam, 12- Zarand, 13- Shahr Babak, 14- Baft, 15- Ravar, 16- Mahan.

به عنوان مثال در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰ واریته گشنیز هند (Sharangi et al., 2024)، ۴۳/۲ درصد چندشکلی، ارزیابی ۲۳ ژنوتیپ گشنیز (Akhtar et al., 2025)، ۶۴/۳۴ درصد چندشکلی، سه توده گشنیز (Choudhary et al., 2021)، ۳۰/۳ درصد چندشکلی، ۲۴ ژنوتیپ گشنیز (Choudhary et al., 2019)، ۷۰/۴۶ درصد چندشکلی و ۱۸ رقم گشنیز (Sharangi et al., 2024)، ۸۱/۱ درصد چندشکلی به‌دست آمد و با توجه به این نتایج میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد مطالعه‌ی کنونی بالاتر از جمعیت‌های مورد مطالعه ذکر شده در بالا است. تعداد نوارهای تکثیر شده به ازای هر آغازگر نیز در مطالعات مختلف ۹/۲۵ نوار (Sharangi et al., 2024)، هفت نوار (Akhtar et al., 2025) گزارش شده است که بیشتر از مطالعه‌ی کنونی است. مقدار متوسط شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) در نشانگر RAPD، (برابر با ۰/۴۶) کمی بیشتر از نشانگر SCoT، (برابر با

۰/۳۸) بود. شاخص PIC بزرگتر از ۰/۵ نشان‌دهنده‌ی نشانگری بسیار کارآمد، بین ۰/۲۵ تا ۰/۵ نشان‌دهنده‌ی نشانگری کارآمد و کمتر از ۰/۲۵ نشان‌دهنده‌ی نشانگری با کارآمدی کم است (Wei et al., 2005). با توجه به آنکه متوسط این شاخص (۰/۴۳ و ۰/۳۸) در هر دو نشانگر در محدوده ۰/۵۰–۰/۲۵ بود، لذا در این مطالعه نشانگرها کارآمد بودند، اما بسیار کارآمد نبودند. آغازگرهایی که بیشترین مقدار PIC را ایجاد کنند، توانایی بیشتری در مشخص‌کردن فواصل ژنتیکی دارند و می‌توان در مطالعات آتی از آن‌ها استفاده کرد. با توجه به اینکه شاخص PIC در آغازگرهای RAPD مقدار اندکی نسبت به آغازگرهای SCoT بیشتر بود، لذا این نشانگر اندکی کارایی بالاتری در تمایز جمعیت‌ها داشت، لیکن به دلیل دقت پایین‌تر نشانگر RAPD نسبت به SCoT، نمی‌توان به طور قاطع آنرا نشانگر بهتری در تمایز جمعیت‌های گشنیز معرفی نمود. به طور کل مقدار بالای PIC برای یک آغازگر نشان‌دهنده‌ی کارآیی بالای آنها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده می‌باشد و می‌توان آنها را جهت مطالعات مشابه پیشنهاد نمود (Thimmappaiah et al., 2009) در مجموع با توجه به بالابودن مقدار PIC برای اکثر آغازگرهای استفاده شده (به طور متوسط بیشتر از ۰/۳۸ در هر دو نشانگر)، به نظر می‌رسد این آغازگرها توانایی مطلوبی در تشخیص چندشکلی داشتند. مقادیر متوسط شاخص‌های نسبت چندشکلی موثر (EMR) و شاخص نشانگری (MI) در نشانگر SCoT نسبت به نشانگر RAPD بیشتر بود. همه‌ی این شاخص‌ها به نوعی کارایی آغازگرهای به کاررفته در آزمایش و در نتیجه کارایی نشانگرها را نشان می‌دهند. شاخص نشانگری (MI) برآوردی مناسب از کارایی آغازگرها است که به تعداد نوارهای چندشکل به‌دست آمده بستگی دارد و مقدار بالای آن نشان‌دهنده‌ی پوشش زیاد ژنوم با آغازگرهای به‌کار رفته است. زیادبودن شاخص نشانگری بیان‌کننده‌ی اطلاعات بیشتر از ژنوم با توجه به تولید تعداد بیشتر نوار چندشکل است (Milbourne et al., 1997). شاخص قدرت تفکیک (RP) نیز در نشانگر SCoT بیشتر از RAPD بود. بهترین شاخص برای انتخاب آغازگر مناسب، شاخص قدرت تفکیک (RP) است، زیرا هم از تعداد افراد دارای نوار و هم از تعداد آلل تأثیر می‌پذیرد. شاخص قدرت تفکیک، توانایی یک نشانگر در تفکیک جمعیت‌ها از هم را نشان می‌دهد و هر چه مقدار این شاخص بالاتر باشد، یعنی توانایی بیشتری در تمییز جمعیت‌ها از هم را دارد (Kayis et al., 2010). در نشانگر RAPD آغازگر RD9 (۳/۱۴) و در نشانگر SCOT آغازگر SC11 (۶/۲۵) با بالاترین شاخص قدرت تفکیک به عنوان مناسب‌ترین آغازگرها شناخته شدند. با توجه به آنکه نشانگر SCoT با بخش کد شونده‌ی ژنوم در ارتباط هست و از طرفی بررسی شاخص‌ها نیز نشان‌دهنده‌ی کارایی بالاتر این نشانگر در تمایز جمعیت‌های گشنیز بود، لذا نشانگر SCoT توانایی بیشتری در تفکیک و تمایز جمعیت‌های گشنیز از یکدیگر را داشتند و لذا نشانگر بهتری در این مطالعه شناخته شد. در مجموع به نظر می‌رسد که نشانگر SCoT به طور متوسط از نظر شاخص‌های PIC، MI، EMR و RP بهتر از نشانگر RAPD عمل نمود و این بدان معنی است که این نشانگر در جمعیت‌های گشنیز موفق‌تر از نشانگر RAPD بود. بررسی فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها نشان داد که بر اساس ماتریس تشابه حاصل از داده‌های RAPD، بیش‌ترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مربوط به شهرهای استان کرمان و شهرهای استان یزد و بر اساس داده‌های SCoT، بیشترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مربوط به شهرهای استان کرمان و شهرهای استان خراسان جنوبی مشاهده شد. بر اساس ماتریس تشابه به‌دست آمده از داده‌های RAPD و SCoT، کمترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی – یزد و استان یزد – کرمان به‌دست آمد. این امر نشان می‌دهد که تا اینجای کار فاصله‌ی ژنتیکی از فاصله‌ی جغرافیایی تبعیت نموده است، لیکن برای مطالعه دقیق‌تر نتایج حاصل از تجزیه‌ی خوشه‌ای را باید مورد واکاوی قرار داد. بررسی ماتریس تشابه نشان داد که بر اساس داده‌های نشانگر RAPD، متوسط ضریب تشابه در درون جمعیت‌های استان خراسان جنوبی، استان کرمان و استان یزد بیشتر از متوسط ضریب تشابه بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی – استان کرمان، استان

خراسان جنوبی – استان یزد و استان کرمان – استان یزد (۰/۴۲، ۰/۴۹ و ۰/۵۹ در مقابل ۰/۳۹، ۰/۳۵ و ۰/۴۲) است. بر اساس داده‌های نشانگر SCoT نیز متوسط ضریب تشابه در درون جمعیت‌های سه استان خراسان جنوبی، استان کرمان و استان یزد بیشتر از متوسط ضریب تشابه بین جمعیت‌های استان خراسان جنوبی – استان کرمان، استان خراسان جنوبی – استان یزد، استان کرمان – استان یزد (۰/۶۲، ۰/۵۵ و ۰/۵۷ در مقابل ۰/۵۶، ۰/۳۸ و ۰/۵۳) است. به طور کل بر اساس ماتریس تشابه، نشانگر SCoT در مقایسه RAPD، مقدار شباهت بین جمعیت‌های درون هر استان (به استثنای استان یزد) را بیشتر برآورد نمود (۰/۶۲، ۰/۵۵ در مقابل ۰/۴۲، ۰/۴۹) و لذا نشانگر بهتری از این حیث به نظر می‌رسد. میزان تشابه ژنتیکی جمعیت‌های خراسان جنوبی – استان کرمان بیشتر از میزان تشابه ژنتیکی جمعیت‌های درون استان کرمان است. علت این امر شاید به دلیل گستردگی وسیع جغرافیایی استان کرمان و مراودات تجاری بین شهروندان استان کرمان با خراسان جنوبی و به نوعی جابجایی بذر باشد. ضریب همبستگی کوفنتیک در هر دو نشانگر RAPD و SCoT (به ترتیب ۰/۷۸ و ۰/۸۳) نشان از مناسب‌بودن کیفیت برازش داشت؛ بنابراین نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه تا حد بالایی مطابقت دارد. آزمون مانتل نشان داد که همبستگی معنی‌داری (برابر با r=-۰/۲۳) بین ماتریس تشابه دو نشانگر RAPD و SCoT وجود نداشت. به عبارت دیگر این دو نشانگر در تفکیک جمعیت‌های تحت مطالعه به شکل متفاوتی عمل نمودند. تجزیه‌ی خوشه‌ای، جمعیت‌های گشنیز مورد مطالعه را به سه (در نشانگر SCoT) و پنج خوشه (در نشانگر RAPD) گروه‌بندی نمود. بر اساس تجزیه خوشه‌ای داده‌های RAPD، به طور کل جمعیت‌های متعلق به یک استان در یک خوشه و حتی یک زیرخوشه قرار گرفتند. البته موارد اندکی نیز دیده می‌شود که جمعیت‌های متعلق به استان‌های مختلف در خوشه‌های مشابه و جمعیت‌های متعلق به یک استان در خوشه‌های متفاوت قرار گرفتند. به عنوان مثال در خوشه پنجم یک جمعیت از استان یزد، دو جمعیت از استان خراسان جنوبی و شش جمعیت از استان کرمان در یک خوشه قرار گرفتند. به طور کل، قرارگرفتن بهاباد – یزد، کرمان – زرند، سیرجان – بافت و خوسف- بیرجند در درون یک خوشه و حتی زیرخوشه و واکاوی سایر خوشه‌ها و زیرخوشه‌ها نشان می‌دهد که به طور کل قرابت ژنتیکی از نزدیکی جغرافیایی تبعیت می‌کند و تجزیه‌ی خوشه‌ای گروه‌بندی مناسبی از داده‌ها را به نمایش گذاشته است. قرارگیری جمعیت سربیشه در یک خوشه مجزا نشان از تفاوت این جمعیت با سایر جمعیت‌های خراسان جنوبی دارد. سربیشه با کمترین میانگین دمای سالانه در استان خراسان جنوبی سردترین شهرستان این استان است و تفاوت ژنتیکی این جمعیت با سایر جمعیت‌ها شاید همین اقلیم متفاوت آن باشد. بر اساس تجزیه خوشه‌ای داده‌های SCoT، جمعیت‌های متعلق به یک استان در یک خوشه و حتی یک زیرخوشه قرار گرفتند. به عنوان مثال در خوشه‌ی دوم فقط جمعیت‌های استان کرمان قرار گرفتند و جمعیت‌های مربوط به استان خراسان جنوبی همه در یک خوشه قرار گرفتند. بر اساس داده‌های SCoT، جمعیت زرند متفاوت از سایر جمعیت‌ها بود و در یک خوشه مجزا قرار گرفت. قرارگرفتن یک یا دو جمعیت از استان متفاوت در یک زیرخوشه بسیار اندک است و بر اصل موضوع تاثیر کمی دارد. یکی از دلایل این امر می‌تواند جابجایی بذور یاخزانه‌ی‌ژنی از یک نقطه به نقطه دیگر یا همان جریان ژنی بین جمعیت‌ها، اختلاط بذور و همچنین خاستگاه مشترک جمعیت‌ها باشد. قرارگرفتن جمعیت‌های با منشاء جغرافیایی مختلف در گروه‌های یکسان می‌تواند نشانه‌ای از تبادلات ژنتیکی بین مناطق مختلف باشد که با توجه به ماهیت مصرفی گیاه گشنیز به عنوان یک سبزی دور از انتظار نیست. آنچه مسلّم است این است که بر اساس داده‌های نشانگر SCoT دوری و نزدیکی جغرافیایی بر دوری و نزدیکی ژنتیکی تاثیرگذار بوده است و باعث تبعیّت قرابت ژنتیکی جمعیت‌های گشنیز از نزدیکی جغرافیایی گشته است. تجزیه خوشه‌ای توسط سایر محققین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در گروه‌های مختلفی مانند دو گروه اصلی (Sharangi et al., 2024; Akhtar et al., 2025)، سه گروه (Zabet et al., 2025) و چهار گروه (Choudhary et al., 2019; Choudhary et al., 2021) گروه‌بندی نموده است که نشان از کمتربودن تعداد خوشه‌ها و زیرخوشه‌ها نسبت به مطالعه کنونی دارد. شایان ذکر است که متفاوت بودن ژنوتیپ‌ها و تعداد آنها در این گروه‌بندی نقش داشته و آنچه مسلّم است این است که تعداد خوشه‌ی بیشتری (پنج خوشه) که طی این تحقیق به‌دست آمد، نیز دلالت بر بیشتر بودن تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گشنیز مورد مطالعه دارد. مجموع این نتایج نشان می‌دهند که نشانگرهای حاضر فواصل ژنتیکی را مطابق با فاصله جغرافیایی بین جمعیت‌ها تخمین زده‌اند و بنابراین فرض جدایش به واسطه فاصله که توسط رایت (Wright, 1943) مطرح گردید در تحقیق کنونی صدق می‌کند. بدین ترتیب بررسی شباهت‌های ژنتیکی اطلاعات نسبتاً خوبی از میزان دوری یا نزدیکی جمعیت‌ها از نظر موقعیت جغرافیایی آن‌ها به‌دست می‌دهد. مطالعه کنونی نشان داد که تنوع بین جمعیت‌های گشنیز بیشتر از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های گشنیز است و در این مورد نیز گزارش‌هایی وجود دارد (Diederichsen et al., 1996; Etesami et al., 2020)؛ اما پژوهش‌هایی نیز وجود دارد که تنوع کمتری را بین جمعیت‌های گشنیز گزارش کرده‌اند (Sharangi et al., 2024; López et al., 2009; Akhtar et al., 2025; Choudhary et al., 2021). کمتربودن تنوع درون جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها را با پایه ژنتیکی مشترک و تجارت بذر گشنیز و دگرگشنی این گیاه مربوط دانسته‌اند. از آنجایی‌که گشنیز به‌عنوان سبزی و ادویه خوراکی و دارویی در مناطق مختلف استفاده می‌گردد، جمعیت‌های این گیاه از طریق مهاجرت (توسط انسان) در مناطق مختلف گسترش یافته‌اند و این امر می‌تواند باعث تنوع ژنتیکی کمتر بین جمعیت‌ها نسبت به درون جمعیت‌های گشنیز باشد (López et al., 2009). تشابه ژنتیکی کم بین جمعیت‌های استان‌های مختلف نشان می‌دهد که در صورت داشتن صفات مطلوب می‌توان از آن‌ها جهت دورگ‌گیری استفاده کرد. یکی از روش‌های دستیابی به قدرت هتروزیس بالا استفاده از والدینی است که دارای کمترین خویشاوندی باشند؛ چرا که والدین با قدرت تفکیک‌پذیری بالاتر و فاصله ژنتیکی بیشتر می‌توانند هیبریدهایی با عملکرد بالاتر ایجاد کنند. هم‌چنین در صورت از بین رفتن تنوع اولیه دورگ‌گیری می‌تواند جهت ایجاد تنوع مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به آنکه بر اساس نشانگر RAPD کمترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های سربیشه – بهاباد و بهاباد – بم و بر اساس نشانگر SCoT کمترین شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های بیرجند – بهاباد، بیرجند – یزد و بهاباد – زرند وجود داشت، لذا با توجه به مجموع نشانگرها می‌توان جمعیت‌های فوق را جهت تلاقی‌های اولیه به منظور ایجاد تنوع و بهره‌جستن از هتروزیس توصیه کرد. با دقت در تلاقی‌های توصیه‌شده‌ی فوق معلوم است که جمعیت بهاباد و بیرجند کمترین شباهت ژنتیکی را در اکثر مواقع نسبت به سایر جمعیت‌ها دارند و لذا استفاده از این جمعیت‌ها در کارهای به‌نژادی آتی توصیه می‌گردد. در کل بهترین تلاقی جهت حصول حداکثر هتروزیس سربیشه × مهاباد و بهاباد × بم شناخته شد. بر اساس داده‌های به‌دست آمده از نشانگر RAPD و SCoT پنج مولفه اول ۵۰/۸۲ و ۵۲/۹۷ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. در داده‌های مولکولی امکان توجیه مقادیر بالایی از واریانس توسط چند مولفه اصلی ابتدایی وجود ندارد. در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از داده‌های مولکولی بهترین حالت این است که نشانگرها توزیع یکنواخت و مناسبی در سطح کل ژنوم داشته باشند تا بتوانند کل ژنوم را پوشش دهند. بنابراین در صورتی که آغازگرها از بخش‌های مختلف ژنوم انتخاب شده باشند، همبستگی بین آن‌ها کم خواهد بود و در نتیجه به تعداد مولفه‌های بیشتری جهت توجیه تغییرات کل نیاز است (Mohammadi, 2006). نمودار پراکنش نشان داد که توزیع جمعیت‌ها مطابق با توزیع آنها در دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای و مطابق با ماتریس تشابه بود. به عبارت دیگر نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مختصات اصلی تا حد زیادی تأییدکننده‌ی هم بودند. پراکندگی جمعیت‌ها در نواحی مختلف نمودار بار دیگر وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گشنیز مورد مطالعه را تأیید نمود. نمودار پراکنش جمعیت‌ها گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای را تا حدودی تایید کرد، لیکن با توجه به اینکه این نمودار بر اساس تمامی مولفه‌ها ترسیم

نمی‌گردد، لذا از تمام تنوع ژنتیکی موجود بین جمعیت‌ها استفاده نمی‌نماید و بنابراین تجزیه خوشه‌ای که از تمام تنوع موجود بین جمعیت‌ها استفاده می‌کند، گروه‌بندی کامل‌تر و جامع‌تری را نسبت به این روش ارائه می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که آغازگرهای مورد استفاده به خوبی توانستند جمعیت‌های گشنیز را از یکدیگر متمایز کنند و کارایی مطلوبی نشان دادند. پیشنهاد می‌شود تا در مطالعات آتی از آغازگرهای RD9 و SC11 و از نشانگر SCoT در کنار نشانگرهایی که دقت بیشتری دارند، استفاده گردد. به‌طور کل نشانگرهای مورد استفاده به طور موفقیت آمیزی تنوع ژنتیکی و پراکندگی جمعیت‌های مورد مطالعه را نشان داد و از الگوی خوشه‌بندی و روابط ژنتیکی مشاهده‌شده با استفاده از این نشانگرها می‌توان نسبت به انجام تلاقی بین جمعیت‌های دور مانند سربیشه × بهاباد و بهاباد × بم، بیرجند × بهاباد، بیرجند × یزد و بهاباد × زرند جهت حصول حداکثر تنوع و هتروزیس اقدام نمود.

سپاسگزاری: نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکار دلسوز آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی و هم چنین همکاران محترمشان در گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند ابراز می‌دارند.

منابع

اعتصامی محمدجواد، ناجی امیرمحمد، رضازاده علیرضا (۱۳۹۹) بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی گشنیز با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT. هفتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران، تهران، ایران.

امیدبیگی رضا (۱۳۸۸). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد اول، شرکت به نشر، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد. ۳۴۷ صفحه.

خسروی حسین، یعقوبی فرشته، مهرابی مرضیه (۱۴۰۰) گشنیز زردانه نهاوند. اولین همایش ملی کاربرد پژوهش‌های نوین شیمی و کشاورزی در توسعه گیاهان دارویی (با محوریت گشنیز)، نهاوند، همدان، ایران.

مرادی بهجو علی، امین‌املشی حمیده، خسروی حسین (۱۴۰۰) بررسی وضعیت تولید و تجارت گشنیز در جهان و ایران. اولین همایش ملی کاربرد پژوهش‌های نوین شیمی و کشاورزی در توسعه گیاهان دارویی (با محوریت گشنیز). نهاوند، همدان، ایران.

محمدی سید ابولقاسم (۱۳۸۵) تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی از دیدگاه بررسی تنوع ژنتیکی. نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. تهران، ایران.

نادی سولماز، صبا جلال، جعفرآقایی محمد، عندلیبی بابک (۱۴۰۲) بررسی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت‌های گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) ایران از لحاظ صفات فنولوژیک، مورفولوژیکی و زراعی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱۵ (۴۷)، ۱۱۲-۱۰۳.

References

Aghaei, M., Darvishzadeh, R., & Hassani, A. (2012). Molecular characterization and similarity relationships among Iranian basil accessions using inter simple sequence repeat markers. *Revista Ciência Agronômica*, *43*(2), 312-320. https://doi.org/10.1590/S1806-66902012000200014.

Agrama, H., & Tuinstra, M. (2003). Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. *African Journal of Biotechnology, 2*, 334-340. https://doi.org/10.5897/AJB2003.000-1069**.**

Akhtar, W., Qayyum, S., Ashraf, N., Qammar, K., Kiyani, W. K., Nazish, N., Kamal, A., Albasher, G., & Zaman, W. (2025). Molecular characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) genotypes using inter simple sequence repeat (ISSR) and sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 72 (6): 7563-7576. https://doi.org/10.1007/s10722-025-02379-y.

Baruah, J., Gogoi, B., Das, K., Ahmed, N., Sarmah, D., Lal, M., & Bhau, B. (2017). Genetic diversity study amongst Cymbopogon species from NE-India using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products, 95,* 235-243. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.022.

Basol, A., Yaldiz, G., & Camlica, M. (2024). Genetic diversity, analysis of some agro-morphological and quality traits, and utilization of plant resources of coriander (*Coriandrum sativum* L.) supported with cluster and multivariate analyses. *Biology, 13,* 866. https://doi.org/10.3390/biology13110866.

Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics, 32,* 314-322. PMCID: PMC1686077. PMID: 6247908.

Choudhary, S., Naika, M. B. N., & Meena., R. D. (2021). Development and characterization of genic SSR-FDM for stem gall disease resistance in coriander and its cross species transferability. *Molecular Biology Reports*, 48 (11):1-8. https://doi.org/10.1007/s11033-021-06396-9.

Choudhary, S., Sharma, R., Jethra, G., Vishal, M. K., & Tripathi, A. (2019). Molecular diversity in coriander (*Coriandrum sativum*) using RAPD and ISSR markers. *Indian Journal of Agricultural Sciences, 89 (2),* 193-198. https://doi.org/10.56093/ijas.v89i2.86983.

Choudhary, V., Verma, P., Sharma, S. C., Yadav, D L., & Narolia, R. S. (2022). Genetic divergence studies in coriander (*Coriandrum sativum* L.) genotypes. *Journal of Pharmaceutical Innovation, 11 (12),* 141-143. https://HTTPS://DOI.org/10.55730/1300-011X.3227

Collard, B. C., & Mackill, D. J. (2009). Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter, 27 (1),* 86-93. https://doi.org/10.1007/s11105-008-0060-5.

Coşkuner, Y., & Karababa, E. (2007). Physical properties of coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Food Engineering, 80 (2),* 408-416. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.042.

Diederichsen, A., Heller, J., & Engels, J. (1996). *Coriander. Coriandrum sativum L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops*. 3. IPGRI Publication. 83 p.

Etesami, M, J., Naji, A, M., & Rezazadeh, A, R. (2020). *Study of genetic diversity of coriander indigenous populations using SCoT molecular marker*. The 7th National Congress of Biology and Natural Sciences of Iran, Tehran. (In Persian).

Ghasemi, M., Baghizadeh, A., & Mohammadabadi, M. R. (2010). Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey Cattle population using ISSR markers.

Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 4 (12), 5758–5760. https://www.ajbasweb.com/old/ajbas/2010/5758-5760.pdf.

Hua, H. Q., Zhao, Z. Y., Zhang, Y., Hu, J., Zhangfan, Z. Z., & Xili, Y. (2018). Inter- and intra-specific differentiation of Trichogramma (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species using PCR-RFLP targeting COI. *Journal of Economic Entomology*, 111(1). https://doi.org/10.1093/jee/toy119.

Jesus, O., Ferreira, C., Silva, S., Camara, T., Soares, T., & Pestana, K. (2009). Characterization of recommended banana cultivars using morphological and molecular descriptors. *Crop Breeding and Applied Biotechnology, 9,* 164-173. https://doi.org/10.1590/S1984-70332009000200003.

Jiang, G. L. (2013). *Molecular markers and marker-assisted breeding in plants*. In: Sven B. Andersen (ed.), Plant Breeding from Laboratories to Fields, In Tech, Croatia. 45-83.

Kalendar, R., Tselykh, T. V., Khassenov, B., & Ramanculov, E. M. (2017). Introduction on Using the FastPCR Software and the Related Java Web Tools for PCR and Oligonucleotide Assembly and Analysis. *Methods in Molecular Biology*, 1620: 33-64. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5_2.

Kayis, S. A., Hakki, E. E., & Pinarkara, E. (2010). Comparison of effectiveness of ISSR and RAPDmarkers in genetic characterization of seized marijuana in Turkey. *African Journal of Agricultural Research*, 5(21): 2925-2933. https://aperta.ulakbim.gov.tr/record/28211 adresinden erişildi.

Kebriyaee, D., Kordrostami, M., Rezadoost, M H., & Lahiji, H. S. (2012). QTL analysis of agronomic traits in rice using SSR and AFLP markers. *Notulae Scientia Biologicae, 4 (2),* 116-123. https://doi.org/10.15835/nsb427501.

Khosravi, H., Yaghoubi, F., & Mehrabi, M. (2021). *Coriander, golden seed of Nahavand*. The First National Conference on the Applications of Advanced Chemical and Agricultural Research for Development of Medicinal Plants (Focusing on the *Coriandrum Sativum* L.), Nahavand, Hamadan. Iran. https://civilica.com/doc/1377924. (In Persian).

Lewontin, R. C. (1972). The Apportionment of Human Diversity. *Evolutionary Biology*, 6: 381–398. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-9063-3_14.

López, P., Widrlechner, M., Simon, P., Rai, S., Bailey, T., & Gardner, C. (2009). *Applying molecular markers in coriander populations with diverse geographical origins*. Paper presented at the Proceedings of the XIII National Congress of Mexican Society of Horticultural Sciences, Torreon, Coahuila, Mexico.

Milbourne, D., Meyer, R., Bradshaw, J. E., Baird, E., Bonar, N., Provan, J., Powell, W., & Waugh, R. (1997). Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Journal of Plant Molecular Breeding, 3,* 127–136. https://doi.org/10.1023/A:1009633005390.

Mohammadabadi, M. R (2016). Inter-simple sequence repeat loci associations with predicted breeding values of body weight in Kermani sheep. *Genetics in the Third Millennium, 14*(4), 4386–4393. https://doi.org/472-591-539-924.

Mohammadabadi, M. R, Oleshko, V., Oleshko, O., Heiko, L., Starostenko, I., Kunovskii, J., Bazaeva, A., & Roudbari, Z. (2021). Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Guppy Fish. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *21*, 603-613. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v21 12_03.

Mohammadi, S. A. (2006). *The analysis of molecular data from the point of view of studying genetic diversity.* The 9th Iranian Congress of Crop Science and Plant Breeding, 96- 119 (In Persian).

Moradi Behjo, A., Amin Amlashi, H., & Khosravi, H. (2021). *Investigating the situation of coriander production and trade in the world and Iran.* The First National Conference on the Applications of Advanced Chemical and Agricultural Research for Development of Medicinal Plants (Focusing on the *Coriandrum Sativum* L.), Nahavand, Hamadan. (In Persian).

Nadi, S., Saba, J., Jafaraghae, M., & Andalibi, B. (2023). Investigating of genetic diversity of some coriander (*Coriandrum sativum* L.) landraces in Iran for phenological, morphological and agronomic traits. *Journal of Crop Breeding*, 15 (47): 103-112. https://doi.org/10.61186/jcb.15.47.103. (In Persian).

Narzary, D., Verma, S., Mahar, K. S., & Rana, T. S. (2015). A Rapid and Effective Method for Isolation of Genomic DNA from Small Amount of Silica-Dried Leaf Tissues. *National Academy Science Letters*, 38(5):441-444. https://doi.org/10.1007/s40009-015-0357-5.

Nezafat, S., Mohebodini, M., Azarmi, R., Ebadi Segherloo, A., & Fathi, R. (2023). Evaluation of genetic diversity of some native populations of Iranian coriander (*Coriandrum sativum* L.) based on morphological and physiological traits. *Plant Products, 45 (4),* 449-461. https://doi.org/10.22055/PPD.2023.37678.1984.

Omid Beigi, R. (2022). *Production and processing of medicinal plants* (Volume I). Beh-Nashr Publications, page 347. (In Persian).

Pullaiah. T., Bahadur, B., & Krishnamurthy, K. (2015). *Plant biodiversity. In Plant Biology and Biotechnology: Volume I: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement*. Springer Publications, pp. 177-195. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2286-6_6.

Sankhla, A. K., Malik. C., & Parashar, M. (2015). A review on start codon targeted (SCoT) marker. *Plant Science Research, 31(2)*. https://doi.org/2022.17340.1316IJGPB10.30479.

Sharangi, A. B., Bal, S., Maji, A., Upadhyay, T. K., Binsuwaidan, R., Alshammari, N., Alabdallah, N. M., Kolapkar, A., & Saeed, M. (2024). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) diversity analysis: insights from germplasm resources leading to crop improvement. *Turkish Journal of Agriculture, 48 (6),* 6. https://doi.org/10.55730/1300-011X.3227.

Sharma, A. (2020). Morphological, biochemical and molecular characterizations in Coriander (*Coriandrum sativum* L.) genotype. Thesis Submitted to the Maharana Pratap University of Agriculture and Technology, Udaipur in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctorate of Philosophy in Agriculture (Molecular Biology and Biotechnology). P, 123.

Sowmya, M., Giridhar, K., Priya, B. T., Lakshmi, T. V. & Kalpana, M. (2025). Biochemical, histological and molecular investigations of coriander genotypes against Fusarium wilt. *Plant Science Today*, 11 (sp3). https://doi.org/10.14719/pst.4211.

Thimmappaiah, W., Santhosh, G., Shobha, D., & Melwyn, G. S. (2009). Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae, 120 (3),* 411-417. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.11.022**.**

Wei, Y. M., Hou, Y. C., Yan, Z. H., Zhi-Qing Zhang, W. W., Liu, D. C., & Zheng, Y. L. (2005). Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat landraces highly resistant to Fusarium head blight. *Journal of Applied Genetics, 46 (1),* 3-9. PMID: 15741658

Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics, 28 (2),*114–138. https://doi.org/10.1093/genetics/28.2.114**.**

Zabet, M., Akbari, M., & Izanloo, A. (2025). Investigating the Efficiency of ISSR and ScoT Markers in Studying the Genetic Diversity of Some Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Populations. *Plant Genetic Researches*, 11 (2): 83-98. https://doi.org/10.22034/PGR.11.2.6.