

## **Assessment of genetic diversity and determination of population structure lentil genotypes Using SSR Markers**

### **Javad Sarvmeili**

MSc Student, Department Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, G.C, Tehran, Iran. Email:

[javadsarvmeili@yahoo.com](mailto:javadsarvmeili@yahoo.com)

### **Abbas Saidi**

\* Professor, Department Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, G.C, Tehran, Iran. Email: [abbas.saidi@gmail.com](mailto:abbas.saidi@gmail.com)

### **Naser Farrokhi**

Assistant Professor, Department Cell and Molecular Biology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, G.C, Tehran, Iran. Email: [nfarrokh@nigeb.ac.ir](mailto:nfarrokh@nigeb.ac.ir)

### **Masoumeh Pouresmael**

Assistant professor, Department of Genetics and National Plant Gene Bank, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research Education and Extension. Organization (AREEO), Karaj, Iran. Email: [m.pouresmael@areeo.ac.ir](mailto:m.pouresmael@areeo.ac.ir)

### **Reza Talebi**

Assistant professor, Department of Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture Islamic Azad University, Sanandaj Branch Sanandaj Iran Email: [srtalebi@yahoo.com](mailto:srtalebi@yahoo.com)

### **Abstract**

#### **Objective**

Lentil (*Lens culinaris*) is the third most important grain legume in the world after chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pea (*Pisum sativum* L.). Therefore, the aim of this research was (1) to determine the genetic diversity and structure of molecular variation of genotypes and (2) to identify relationships among genotype for conservation, management, and utilization of these genotypes in crop breeding programs.

## Materials and methods

Total genomic DNA was extracted from leaves of each genotype following a CTAB protocol. After DNA extraction, DNA samples were amplified using polymerase chain reaction (PCR). Evaluation of the genetic diversity of 90 lentil genotypes was performed using 30 SSR markers.

## Results

A total of 145 polymorphic alleles were produced with an average of 4.06 alleles per locus. The highest number of alleles produced belonged to SSR 80 primer with eight alleles and the lowest number of alleles belonged to SSR96 primer with three alleles. Polymorphic information content (PIC) for the markers ranged between 0.35 to 0.83 with an average of 0.63. Maximum and minimum PIC have belonged for SSR80 and SSR28, respectively. Shannon index value was variable from 1.94 (for the SSR80) to 0.829 (for the SSR48). The expected heterozygosity was observed in genotypes ranged from 0.845 (SSR80) to 0.422 (SSR48). The mean of this index obtained with 0.643. Clustering analysis was performed using Neighbour-Joining algorithm and population structure analysis was performed using Bayesian method. The best number of sub-populations was identified as three. Genotypes were identified within the different sub-populations that most of genotypes in sub-populations were not separated based on their geographic origins.

## Conclusions

Results of this study revealed that SSR marker has highly potential for evaluation. This marker could separate all of genotypes very well.

**Keywords:** Cluster analysis, Population structure, Lentil, Polymorphism information content, SSR marker.

**Citation:** Sarvmeili J, Saidi A, Farrokhi N, Pouresmael M, Talebi R (2020) Assessment of Genetic Diversity and Determination of Population Structure Lentil Genotypes Using SSR Markers. *Agricultural Biotechnology Journal* 12(1), 45-62.

*Agricultural Biotechnology Journal* 12(1), 45-62.

DOI: 10.22103/jab.2020.13507.1114

Received: January 10 , 2020; Accepted: February 26, 2020.

© Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society

## ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین ساختار جمعیت ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگر ریزماهوره

### جواد سرومیلی

کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه علوم و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران. ایمیل: [javadsarvmeili@yahoo.com](mailto:javadsarvmeili@yahoo.com)

### عباس سعیدی

\*نویسنده مسئول، استاد گروه علوم و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، تلفن: ۰۹۱۲۱۰۵۶۵۹۹. ایمیل: [bas.saidabi@gmail.com](mailto:bas.saidabi@gmail.com)

### ناصر فرخی

استادیار گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران. ایمیل: [nfarrokhi@nigeb.ac.ir](mailto:nfarrokhi@nigeb.ac.ir)

### معصومه پوراسماعیل

استادیار پژوهش، بخش تحقیقات ژنتیک و بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران ایمیل: [m.pouresmael@areeo.ac.ir](mailto:m.pouresmael@areeo.ac.ir)

### رضا طالبی

استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان، سمنان، ایران. ایمیل: [srtalebi@yahoo.com](mailto:srtalebi@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۷

### چکیده

**هدف:** عدس (*Lens culinaris*) سومین لگوم دانه‌ای مهم در دنیا بعد از نخود و نخود فرنگی می‌باشد. این مطالعه با اهداف (۱) تعیین تنوع ژنتیکی و ساختار تغییرات مولکولی ژنوتیپ‌ها و (۲) شناسایی روابط بین ژنوتیپ‌ها برای نگهداری، مدیریت و استفاده از این ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های به‌نژادی محصولات زراعی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** DNA ژنومی کل از برگ‌های از هر ژنوتیپ با استفاده از پروتکل CTAB استخراج شد. پس از استخراج DNA، نمونه‌های DNA با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تکثیر شدند. ارزیابی تنوع ژنتیکی ۹۰ ژنوتیپ عدس با استفاده از ۳۰ نشانگر SSR انجام شد.

**نتایج:** در مجموع ۱۴۵ آل چندشکل با میانگین ۴/۸۳ آل به ازای هر جفت آغازگر تکثیر شد. بالاترین تعداد آل به نشانگر SSR80 با ۸ آل و کمترین آن به SSR96، SSR204، SSR215 و SSR233 نشانگر با ۳ آل اختصاص داشت. میزان اطلاعات چندشکلی برای نشانگرها بین ۰/۸۳ تا ۰/۳۵ با میانگین ۰/۶۳ بود. بیشترین و کمترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی به نشانگر SSR80 و نشانگر SSR28 به ترتیب تعلق داشت. مقدار شاخص شانون از ۱/۹۴ (برای نشانگر SSR80) تا ۰/۸۲۹ (برای نشانگر SSR48) متغیر بود. هتروزیگوسیتی مورد انتظار در ژنوتیپها دامنه‌ای از ۰/۸۴۵ (SSR80) و کمترین آن ۰/۴۲۲ (SSR48) مشاهده شد. میانگین این شاخص ۰/۶۴۳ به دست آمد. تجزیه خوشه‌ای با روش مبتنی بر فاصله-Neighbour Joining و تجزیه ساختار جمعیت با روش مبتنی بر مدل Bayesian انجام شد. بهترین تعداد زیر جمعیت ۳ عدد شناسایی شد، که در زیرجمعیتها افراد بر اساس مناطق جغرافیایی از یکدیگر تفکیک نشدند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که نشانگر SSR کارایی بالایی برای ارزیابی ژنوتیپهای مختلف دارد. این نشانگر توانست تمامی ژنوتیپها را به خوبی از هم تفکیک کند.

**کلمات کلیدی:** تجزیه خوشه‌ای، ساختار جمعیت، عدس، محتوای اطلاعات چندشکلی، نشانگر SSR.

## مقدمه

عدس (*Lens culinaris subsp.culinaris*) لگوم یک‌ساله، خودگشن، علفی و سرما دوست است که منشا اصلی آن خاور نزدیک می‌باشد (Zohary et al. 1999). عدس زراعی گیاهی دیپلوئید ( $2n=2x=14$ )، و با اندازه ژنومی معادل ۴ گیگا باز، سومین گیاه مهم از گروه حبوبات دانه‌ای سردسیر محسوب می‌شود (Khazaei et al. 2016). دانه عدس منبع غنی پروتئین، فیبر، مواد معدنی و کربوهیدرات که نقش مهمی در کمبود مواد مغذی در کشورهای در حال توسعه بازی می‌کند (Kumar et al. 2015). عدس دانه‌ای غنی از مواد مغذی بوده و در ۵۲ کشور جهان به میزان ۳/۶۴ میلیون هکتار با تولید سالانه ۳/۶۰ میلیون تن کشت می‌شود (FAOSTAT, 2011). اساس موفقیت برای بهبود کمیت و کیفیت محصولات زراعی استفاده از تنوع ژنتیکی می‌باشد که شناخت تنوع ژنتیکی و بررسی هرگونه گیاهی در اصلاح نباتات امری لازم و ضروری است. تنوع، اساس هر برنامه‌ی اصلاحی می‌باشد، به طوری که موفقیت یک برنامه‌ی اصلاحی به طبیعت و یا حجم تنوع موجود در مواد ژنتیکی بستگی دارد.

وجود حداکثر تنوع، بزرگ‌ترین شانس برای رسیدن به موفقیت در گزینش محسوب می‌شود (Saeed et al. 2011). روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. از جمله این روش‌ها، می‌توان به استفاده از نشانگرهای فنوتیپی، نشانگرهای مولکولی و روش‌های مبتنی بر اطلاعات شجره‌ای اشاره کرد (Ghaffari et al. 2014). ارزیابی صفات مورفولوژیکی در مقایسه با دیگر روش‌ها ارزان و با سهولت انجام می‌شود، اما به دلیل وابستگی این صفات با شرایط محیطی، خطا در اندازه‌گیری صفات مورد نظر بالا خواهد رفت (Jannatabadi et al. 2014). بنابراین برای ارزیابی تنوع ژنتیکی

استفاده از روش اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک کافی نبوده و باید از ارزیابی مولکولی همراه با مورفولوژیک استفاده شود. براساس مطالعه‌ای که با استفاده از چندین نشانگرهای مولکولی انجام شد عدس تنوع ژنتیکی پایینی برخوردار می‌باشد (Sonnante and Pignone, 2001). نشانگرهای مولکولی به عنوان ابزار قابل اعتماد برای بررسی و ارزیابی منابع ژنتیکی عدس مورد استفاده قرار گرفته‌اند. بدین منظور انواعی از تکنیک‌های مارکرهای مولکولی از جمله پلی‌مورفیسم طول بریده قطعه (RFLP)، پلی‌مورفیسم طول قطعه تکثیرشده (AFLPs)، توالی تکراری ساده (SSR) و DAMD (تکثیر مستقیم DNA مینی ستلایت) که به صورت گسترده برای تشخیص تنوع ژنتیکی در عدس استفاده می‌شود (Dikshit et al. 2015; Idrissi et al. 2015; Saidi et al. 2017). مطالعه تنوع ژنتیکی عدس زراعی با استفاده از نشانگرهای SSR، AFLP، RAPD و RFLP انجام شده است (Reddy et al. 2010). چندین گزارش مبنی بر انتقال‌پذیری نشانگرهای SSR از یک جنس/گونه لگوم به دیگری اعلام شده است و سطح بالایی از محافظت توالی مارکرهای مایکروستلایت در لگوم مشاهده شده است (Datta et al. 2015). براساس مطالعه‌ای که بر روی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگر SSR انجام شد این نشانگر به خوبی پلی‌مورفیسم بین ژنوتیپ‌ها را تفکیک کرد (Jin et al. 2008). براساس مطالعه‌ای که بر روی تنوع و ساختار ژنتیکی نخود با استفاده از سه نشانگر SSR، SCoT و CDDP انجام شد نشانگر SSR نسبت به دو نشانگر دیگر به خوبی توانست تفکیک بین ژنوتیپ‌ها را انجام دهد (Hajibarat et al. 2015). محققان با استفاده از نشانگر SSR تنوع ژنتیکی ارقام لوبیا را بررسی کردند و گزارش کردند که این نشانگر نسبت به سایر نشانگرهای تصادفی، چندشکلی ارقام را دقیق‌تر شناسایی می‌کند. همچنین پیشنهاد دادند که این نشانگر به عنوان نشانگر مطلوب برای بررسی ساختار ژنتیکی لوبیا مورد استفاده قرار گیرد (Khaidizar et al. 2012). SSR نشانگری با پلی‌مورفیک بالا، چندآلی، هم‌باز، نسبتاً فراوان و ساده بوسیله PCR قابل تشخیص است (Parida et al. 2006). اهداف این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگر مولکولی SSR، ارزیابی کارایی نشانگر مولکولی، تعیین رابطه‌ی ژنتیکی، گروه‌بندی، تمایز و مشخص کردن قرابت ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس است.

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی و استخراج DNA:** در این مطالعه از ۹۰ ژنوتیپ عدس که از این تعداد ۱۴ ژنوتیپ عدس وحشی و ۷۶ ژنوتیپ عدس زراعی بوده که از موسسه‌ی تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد (جدول ۱ و ۲). ۱۰ بذر از هر ژنوتیپ در پتری دیش‌های ضدعفونی‌شده کشت شد و بعد از دو هفته از گیاهچه‌های رشدیافته ۳ تا ۵ گرم برگ جوان برداشت شد و با روش CTAB تغییر یافته استخراج DNA انجام گرفت (Saghai-Marooof et al. 1984). کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری تعیین شد.

## جدول ۱. اسامی ۱۴ ژنوتیپ عدس وحشی مورد بررسی در تحقیق حاضر

Table 1. Name of 14 wild genotypes used in present study

شماره Number	شماره دسترسی Accession number	دهنده Donor	منشا origin
1	TN-40-1432	ITA	ICARDA
2	TN-40-1435	YUG	ICARDA
3	TN-40-1438	YUG	ICARDA
4	TN-40-1439	YUG	ICARDA
5	TN-40-1453	YUG	ICARDA
6	TN-40-1464	UNK	ICARDA
7	TN-40-1492	TUR	ICARDA
8	TN-40-1576	SYR	ICARDA
9	TN-40-1577	SYR	ICARDA
10	TN-40-1625	TUR	ICARDA
11	TN-40-1637	SYR	ICARDA
12	TN-40-1653	SYR	ICARDA
13	TN-40-1654	SYR	ICARDA
14	TN-40-1661	TUR	ICARDA

## واکنش زنجیره‌ای پلیمرز : برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، نمونه‌های DNA به غلظت ۲۵ نانوگرم در

میکرولیتر رقیق شدند. برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره از ۳۰ جفت آغازگر SSR استفاده شد (جدول ۳). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X1۰)، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (۴۰ نانوگرم)، ۰/۹ میکرولیتر  $MgCl_2$  (۵۰ میلی‌مولار)، آغازگرهای مستقیم و معکوس (با غلظت ۱۰ میکرومولار) هر کدام به مقدار ۰/۵ میکرولیتر، ۰/۳ میکرولیتر dNTPs (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۳ میکرولیتر تک پلیمرز با غلظت U ۵ و آب دیونیزه استریل به مقدار ۱۸ میکرولیتر بود. چرخه‌ی حرارتی شامل یک چرخه‌ی واسرشت سازی اولیه در دمای  $94^{\circ}C$  به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه‌ی واسرشت سازی در دمای  $94^{\circ}C$  به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال آغازگر در  $49$  تا  $58$  درجه‌ی سانتی‌گراد (بسته به دمای اتصال آغازگر متفاوت بود) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله‌ی سنتز به مدت ۴۵ ثانیه در دمای  $72^{\circ}C$  و یک چرخه‌ی بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در  $72^{\circ}C$  بود. آشکارسازی باندها و تفکیک محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۳ درصد انجام شد و رنگ‌آمیزی با استفاده از اتیدیوم بروماید ( $1\mu g/ml$ ) صورت گرفت و با استفاده از ژل داگ عکس‌برداری شد.

جدول ۲. اسامی ۷۶ ژنوتیپ عدس زراعی مورد بررسی در تحقیق حاضر

Table 2. Name of 76 cultivars lentil genotypes used in present study

Number شماره	Accession number شماره نمونه	Country کشور	Province استان	city شهر
1	TN-40-1187	IRN	Esfahan	Samirom
2	TN-40-1275	IRN	Esfahan	Esfahan
3	TN-40-2045	IRN	Kohkiloyeh boyerahmad	Boyrahmad
4	TN-40-2049	IRN	Kohkiloyeh boyerahmad	Boyrahmad
5	TN-40-2056	IRN	Kohkiloyeh boyerahmad	Boyrahmad
6	TN-40-2145	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/homeh
7	TN-40-2154	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/rastagh
8	TN-40-2163	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
9	TN-40-2172	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/rastagh
10	TN-40-2176	IRN	Khorasan razavi	Torbate hidarieh/miankhaf
11	TN-40-2177	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/jargalan
12	TN-40-2179	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/rastagh
13	TN-40-2183	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
14	TN-40-2193	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
15	TN-40-2194	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
16	TN-40-2198	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar/ghasabehe sharghi
17	TN-40-2200	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/zebar khan
18	TN-40-2201	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/zebar khan
19	TN-40-2202	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/zebar khan
20	TN-40-2203	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/jargalan
21	TN-40-2206	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/garmkhan
22	TN-40-2213	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/kenar shahr
23	TN-40-2214	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/kenar shahr
24	TN-40-2216	IRN	Khorasan razavi	Kashmar
25	TN-40-2217	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
26	TN-40-2218	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
27	TN-40-2219	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar/mazinan
28	TN-40-2220	IRN	Khorasan razavi	Torbate hidarieh/miankhaf
29	TN-40-2221	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar
30	TN-40-2227	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
31	TN-40-2229	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
32	TN-40-2231	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
33	TN-40-2236	IRN	Khorasan shomali	Shirvan/takmaran
34	TN-40-2240	IRN	Khorasan shomali	Shirvan
35	TN-40-2243	IRN	Khorasan razavi	Mashad/chenaran
36	TN-40-2250	IRN	Khorasan shomali	Shirvan
37	TN-40-2251	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/marosk
38	TN-40-2253	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd
39	TN-40-2254	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
40	TN-40-2255	IRN	Khorasan razavi	Ghochan/dolatsarai
41	TN-40-2257	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/samalghan
42	TN-40-2259	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/roain
43	TN-40-2261	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/roain
44	TN-40-2263	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/roain

45	TN-40-2265	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/barkoh
46	TN-40-2266	IRN	Khorasan razavi	Kashmar
47	TN-40-2270	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
48	TN-40-2272	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
49	TN-40-2273	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
50	TN-40-2274	IRN	Khorasan shomali	Esferayen/homeh
51	TN-40-2276	IRN	Khorasan jonubi	Ghaniat/homehe ghaien
52	TN-40-2279	IRN	Khorasan jonubi	Ghaniat/homehe ghaien
53	TN-40-2280	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar/ghasabehe sharghi
54	TN-40-2281	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar/ghasabehe sharghi
55	TN-40-2283	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/barkoh
56	TN-40-2284	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/barkoh
57	TN-40-2287	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/sar velayat
58	TN-40-2288	IRN	Khorasan razavi	Nishabour/sar velayat
59	TN-40-2289	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar
60	TN-40-2290	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar
61	TN-40-2291	IRN	Khorasan razavi	Sabzehvar
62	TN-40-2293	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd
63	TN-40-2294	IRN	Khorasan razavi	Kashmar/rastagh
64	TN-40-2295	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/maneh
65	TN-40-2297	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/maneh
66	TN-40-2298	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/maneh
67	TN-40-2300	IRN	Khorasan shomali	Bojnourd/maneh
68	TN-40-2817	IRN	Bakhtaran	Bakhtaran
69	TN-40-2857	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
70	TN-40-2862	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
71	TN-40-2867	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
72	TN-40-2868	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
73	TN-40-2874	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
74	TN-40-2875	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
75	TN-40-2876	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh
76	TN-40-2881	IRN	Azarbaijan sharghi	Maragheh

**تجزیه‌های آماری:** محصولات تکثیر شده حاصل از نشانگرهای ریزماهوره، بر اساس وجود باند (۱) و عدم وجود باند

(۰) برای هر جفت آغازگر کدگذاری شدند. محتوای اطلاعات چند شکلی با استفاده از رابطه  $PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$  محاسبه شد

(Anderson et al. 1993)؛ به طوری که  $P_{ij}$  فراوانی آلل  $i$  در مکان ژنی  $j$  است. برای محاسبه‌ی پارامترهای مربوط به

تخمین تنوع ژنتیکی همچون تعداد آلل مشاهده‌شده ( $N_a$ )، تعداد آلل موثر ( $N_e$ )، شاخص شانون ( $I$ )، شاخص تنوع ژنی  $N_{ei}$

( $h$ )، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده ( $H_o$ )، هتروزیگوسیتی مورد انتظار ( $H_e$ ) و ضریب خویش‌آمیزی ( $F_{IS}$ ) از نرم افزار

PopGen32 استفاده شد (Yeh and Boyle, 1997). ماتریس تشابه براساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از نرم‌افزار

NTSYS-pc 2.02 ترسیم شد. جهت بررسی و مشخص شدن روابط خویشاوندی بین ژنوتیپ‌ها، تجزیه‌ی خوشه‌ای براساس

الگوریتم Neighbor-Joining با استفاده از نرم‌افزار Splits Tree4 صورت گرفت. بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت، تعیین تعداد



مناسب زیرجمعیت‌ها و تشخیص ژنوتیپ‌های مختلط با استفاده از روش Bayesian و نرم افزار Structure انجام شد (Pritchard et al. 2003).

## نتایج و بحث

در این مطالعه ۹۰ ژنوتیپ عدس (۱۴ ژنوتیپ وحشی و ۷۶ ژنوتیپ زراعی) با استفاده از ۳۰ نشانگر SSR مورد ارزیابی قرار گرفتند. در مجموع ۱۴۵ آلل تکثیر شده و با میانگین ۴/۸۳ آلل برای هر پرایمر مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل به نشانگر SSR80 با ۸ آلل و کمترین آن به نشانگرهای SSR96، SSR204، SSR215، SSR233 با ۳ آلل تعلق داشت. میزان محتوای چندشکلی نشانگرهای مورد استفاده ۰/۸۳ تا ۰/۳۵ متغیر بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (۰/۶۳) در جدول ۴ آمده است. بیشترین میزان PIC مربوط به نشانگر SSR80 (۰/۸۳) و کمترین میزان PIC به نشانگر SSR28 (۰/۳۵) اختصاص داشت. در این بررسی PIC محاسبه شده برای بسیاری از نشانگرهای مورد استفاده مقادیر بالایی داشت که نشان دهنده‌ی انتخاب صحیح و کارایی بالای این نشانگرها است. نشانگرهایی که بیشترین PIC را دارند، بهتر از دیگر نشانگرهای مورد استفاده می‌توانند فاصله‌ی ژنتیکی ارقام را مشخص کنند. برتری نشانگرهای SSR برای تعیین PIC و چندشکلی در مقایسه با سایر نشانگرها در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است (Zhou et al., 2012; Das et al., 2013). نشانگرهای SSR، توانایی بالایی در آنالیز روابط ژنتیکی گونه‌های عدس زراعی و وحشی نشان دادند (Verma et al. 2014).

نشانگرهای اختصاصی SSR سطح بالایی از پلی‌مورفیسم را نشان می‌دهند و استفاده از آن‌ها در مطالعات مربوط به تنوع ژنتیکی گونه‌های عدس می‌تواند موثر باشد. در بررسی که بر روی لاین‌های اصلاحی منطقه مدیترانه با استفاده از نشانگر SSR صورت گرفت تنوع ژنتیکی بالایی در این ارقام مشاهده شد. در این تحقیق ۲۶۱ آلل پلی‌مورفیسم گزارش شد و متوسط هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۶۷۷ بود. شاخص هتروزیگوسیتی برآوردی از تغییرات ژنتیکی در جمعیت می‌باشد که بهترین و معمولترین روش اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی است. همچنین تعداد آلل مشاهده شده در محدوده‌ی ۲ تا ۲۶ متغیر بود (Idrissi et al. 2015). نتایج حاصل مطالعه حاضر نشان داد که تعداد آلل مشاهده شده در تمامی ژنوتیپ‌های عدس (وحشی و زراعی) در محدوده‌ی بین ۳ تا ۸ آلل متغیر بود که بالاترین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به نشانگر SSR80 با ۸ آلل و پایین‌ترین تعداد آلل هم مربوط به نشانگرهای SSR96، SSR204، SSR215، SSR233 با ۳ آلل بود. میانگین ژنوتیپ‌ها، ۴/۸۳ آلل بدست آمد.

جدول ۳. مشخصات نشانگرهای SSR مورد استفاده در این مطالعه

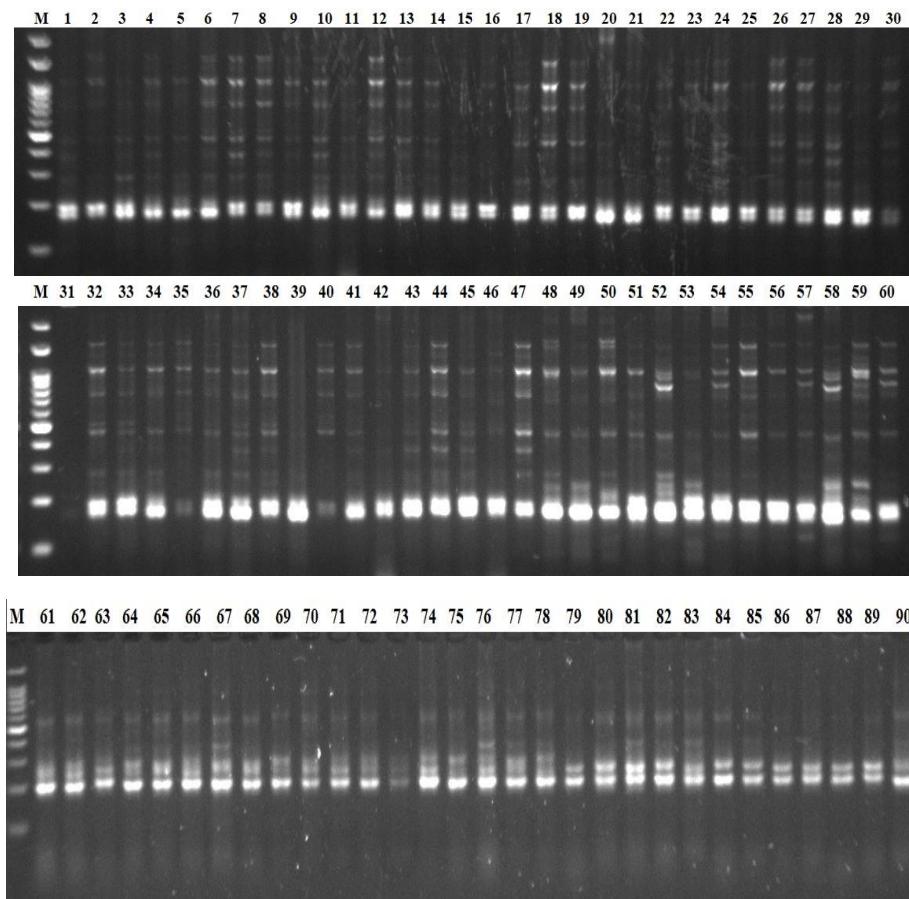
Table 3. SSR markers used in this study

Number شماره	Locus لوکوس	Primer sequence 5'→3' توالی پرایمر	Annealing temperature °C دمای اتصال	Source منابع
1	SSR 19	F: GACTCATACTTTGTTCTTAGCAG R: GAACGGAGCGGTCACATTAG	58	Yadav <i>et al.</i> (2016)
2	SSR 33	F: CAAGCATGACGCCTATGAAG R: CTTTCACTCACTCAACTCTC	56	Yadav <i>et al.</i> (2016)
3	SSR 48	F: CATGGTGGAAATAGTGATGGC R: CTCCATACACCACTCATTAC	57	Yadav <i>et al.</i> (2016)
4	SSR 99	F: GGGAATTTGTGGAGGGAAG R: CCTCAGAATGTCCCTGTC	57	Yadav <i>et al.</i> (2016)
5	SSR 302	F: CAAGCCACCCATACACC R: GGGCATTAAAGTGTGCTGG	56	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
6	SSR 113	F: CCGTAAGAATTAGGTGTC R: GGAAAATAGGGTGGAAAG	51	Yadav <i>et al.</i> (2016)
7	SSR 119	F: GAACTCAGTTTCTCATTG R: GAACATATCCAATTATCATC	49	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
8	SSR 124	F: GTATGTGACTGTATGCTTC R: GCATTGCATTTACAAAACC	52	Yadav <i>et al.</i> (2016)
9	SSR 156	F: GTACATTGAACAGCATCATC R: CAAATGGGCATGAAAGGAG	53	Yadav <i>et al.</i> (2016)
10	SSR 199	F: GTGTGCATGGIGTGT R: GGTGGCCCTCTATC	51	Yadav <i>et al.</i> (2016)
11	SSR 336	F: GTGTAACCCAACTGTTCC R: GGCCGAGGTTGTAACAC	54	Yadav <i>et al.</i> (2016)
12	SSR 66	F: GGTAGTGGTGAGGAATGAC R: GCATCACTGCAACAGACC	55	Yadav <i>et al.</i> (2016)
13	SSR 72	F: CAAACAGTACAAGGAAAGGAG R: CTGACTGAGCTGCTTGAAC	55	Yadav <i>et al.</i> (2016)
14	SSR 167	F: CACATATGAAGATTGGTCAC R: CATTATGTCTCACACACAC	54	Yadav <i>et al.</i> (2016)
15	SSR 191	F: GCAAATTTCTTGGTCTACAC R: GGGCACAGATTCATAAGG	53	Yadav <i>et al.</i> (2016)
16	SSR 197	F: CACCAATCACCAACACAC R: GAGCTGTGAAGTCTTATCTG	54	Yadav <i>et al.</i> (2016)
17	SSR 207	F: GAGAGATACGTCAGAGTAG R: GATTGTGCTTCGGTGGTTC	55	Yadav <i>et al.</i> (2016)
18	SSR 96	F: GTTATCTTCCAGCGTC R: GATATAACAATCAGAGATG	49	Yadav <i>et al.</i> (2016)
19	SSR 309- 2	F: GTATGTCGTTAACTGTCGTG R: GAGGAAGGAAGTATTCGTC	50	Yadav <i>et al.</i> (2016)
20	SSR 323	F: AGTGACAACAAAATGTGAGT R: GTACCTAGTTTCATCATTG	51	Yadav <i>et al.</i> (2016)
21	SSR 213	F: CACTCGCACCTCTTATG R: GAAATTGTCTCTTAGCAAG	51	Yadav <i>et al.</i> (2016)
22	SSR 183	F: GCTCGCATTGGTGAAAC R: CATATATAGCAGACCGTG	52	Yadav <i>et al.</i> (2016)
23	SSR 28	F: GAGGGCATAAATTCAGATTTC R: GGACAACGCACATTTGATG	53	Yadav <i>et al.</i> (2016)
24	SSR 80	F: CCATGCATACGTGACTGC R: GTGACTGTTGGTGTAAGTG	56	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
25	SSR 154	F: GGAATTTATCACACTATCTC R: GACTCCCAACTTGTATG	51	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
26	SSR 184	F: GTGTGTACCTAAAGCCTTG R: GTAAGTTGATCAAACGCC	55	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
27	SSR 204	F: CACGACTATCCCACTTG R: CTTACTTTCTTAGTGCTATTAC	53	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
28	SSR 215	F: CATTAAATTTCTTTGGTGC R: CTT TTC TTG TGT TGG CG	50	Idrissi <i>et al.</i> (2016)
29	SSR 230	F: CCAACAACAATTCACCATAC R: AACATTGTAAGTGGAGGTG	53	Yadav <i>et al.</i> (2016)
30	SSR 233	F: CTTGGAGCTGTTGGTC R: GCCGCCTACATTATGG	52	Idrissi <i>et al.</i> (2016)

تعداد آلل موثر بیانگر آللهایی است که انتظار می‌رود در هر جایگاه وجود داشته و امکان مقایسه جمعیت‌ها با تعداد و توزیع متفاوت آلی را فراهم خواهد کرد. بیشترین تعداد آلل موثر برای SSR80 با ۶/۳۲ آلل و کمترین آن برای SSR48 با ۱/۷۲ آلل بود. همچنین میانگین تعداد آللهای موثر برای تمامی جایگاه‌های ریزماهوری مورد بررسی ۳/۰۱ آلل محاسبه شد. برای تمامی ژنوتیپ‌ها بیشترین میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار با مقدار ۰/۸۴۵ و ۰/۸۰۵ به ترتیب در جایگاه‌های ژنی SSR80 و SSR323 و کمترین میزان آن ۰/۴۲۲ و ۰/۴۵۴ به ترتیب در جایگاه‌های ژنی SSR48 و SSR28 مشاهده شد. میانگین این شاخص ۰/۶۴۳ به دست آمد. شاخص شانون به عنوان معیاری برای میزان مشارکت آلی در تفکیک درست نمونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. میزان این شاخص برای نشانگرهای SSR80 و SSR323 به ترتیب ۱/۹۴ و ۱/۷۶ محاسبه شد بیشتر از سایر نشانگرها بود و نشانگرهای SSR48 و SSR233 با مقادیر ۰/۸۲۹ و ۰/۸۴۱ هم کمترین میزان را به خود اختصاص دادند. شاخص Nei از فاصله ژنتیکی به عنوان معیاری برای بررسی اختلاف بین جمعیت‌ها استفاده می‌کند که امکان تعیین میزان تفاوت ژنتیکی را فراهم خواهد کرد. تنوع ژنتیکی Nei برای نشانگر SSR80 بیشترین مقدار (۰/۸۴۱) و برای نشانگر SSR48 کمترین مقدار (۰/۴۲۰) ارزیابی شد (جدول ۴).

نتایج آنالیزهای انجام شده نشان داد که نشانگر SSR80 و SSR48 به علت داشتن بیشترین و کمترین میزان شاخص شانون، تنوع ژنتیکی Nei و تعداد آلل موثر، به ترتیب بیشترین و کمترین تنوع را بر روی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشتند. محققان بیان کردند که مقادیر بالای تنوع ژنی نشان دهنده توانایی نشانگرها در تمایز ژنوتیپ‌ها از یکدیگر است. هتروزیگوسیتی که ممکن است در لوکوس‌ها مشاهده شود احتمالاً به دلیل ورود ژن‌ها یا تکثیر موتیف ریزماهورها در دوره‌ی اصلاحی و یا دوره‌ی تکاملی عدس است. بنابراین سطح تنوع ژنتیکی به نوع نشانگرهای مولکولی، ماهیت واحد تکرار شونده‌ی SSR، تعداد نشانگرهای SSR و ارتباط ژنتیکی ژرم پلاسما عدس بستگی دارد. میانگین ضریب خویش آمیزی  $FIS = -0/3263$  به دست آمد که این مقدار منفی برای ضریب خویش آمیزی نشان‌دهنده‌ی مقدار هتروزیگوسیتی بالای نمونه‌ها می‌باشد که دلیل آن نیز وجود ژنوتیپ‌های وحشی است (Lahoot et al. 2016). نتایج تحقیق حاضر با Lombardi et al. (2014) که ژنوتیپ‌های عدس از سطح تنوع ژنتیکی بالایی از برخوردار می‌باشد مطابقت داشت. با مقایسه‌ی اطلاعات بدست‌آمده از ژنوتیپ‌های عدس وحشی و زراعی می‌توان نتیجه گرفت که بعضی از پارامترهای تنوع ژنتیکی میانگین بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های عدس زراعی داشتند. براساس نتایج بدست‌آمده از UPGMA و آنالیز ساختار جمعیت، ارتباط دوری در میان جمعیت‌های خارجی وجود داشت و گستردگی پیچیده‌ای در پس زمینه‌ی ساختار ژنتیکی مشاهده شد. در حالی که در جمعیت‌های عدس داخلی چین ارتباط نزدیکی در جمعیت‌های اهلی وجود داشت و ساختار ژنتیکی ساده بود (Jin et al. 2008). نتایج مطالعه‌ی دیگری نشان داد که انواع مختلف عدس با استفاده از نشانگر SSR و آنالیز تجزیه خوشه‌ای به پنج گروه تقسیم بندی شدند که با نتایج ما مطابقت نداشت (Idrissi et al. 2015). از دست دادن آللهای ارزشمند در ژنوتیپ‌های زراعی باعث شده گیاهان نسبت به برخی از تنش‌های زیستی و

غیرزیستی مقاومت نداشته باشند. بنابراین باید ژن‌های مقاومت به تنش‌ها را از ژنوتیپ‌های وحشی شناسایی نمود. در مطالعه‌ی حاضر ارقام اصلاحی تنوع ژنتیکی پایین‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های وحشی نشان دادند که با نتایج دیگر محققان همخوانی داشت (Alabboud et al. 2009).



شکل ۱. الگوی بانندی نشانگر SSR 204 در ژنوتیپ‌های عدس

Figure 1. Banding pattern of SSR204 in lentil genotypes

جهت بررسی و مشخص شدن روابط خویشاوندی بین ژنوتیپ‌ها، تجزیه خوشه‌ای براساس الگوریتم-Neighbor Joining صورت گرفت و ارزش‌های تشابه برای داده‌های حاصل از نشانگر SSR از ۰/۱ تا ۰/۸ متغیر بود و میانگین داده‌ها ۰/۵ بود. روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه‌ی کلاستر برای نشانگر SSR در شکل ۲ نشان داده شده‌است. تجزیه‌ی کلاستر با روش Neighbor-Joining با استفاده از نرم‌افزار Splits Tree، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به ۳ گروه تقسیم بندی کرد که هر یک از گروه‌ها شامل ژنوتیپ‌هایی از مناطق مختلف جغرافیایی است. میزان تشابه برای داده‌های حاصل از نشانگر SSR از ۰/۱ تا ۰/۸ متغیر بود و میانگین آن ۰/۵ محاسبه گردید. براساس نتایج مطالعه حاضر ژنوتیپ‌های TN-40-2240 و TN-40-1432 کم‌ترین تشابه ژنتیکی را به میزان ۰/۱۳۹۷ دارند که به ترتیب ژنوتیپ اول ژنوتیپ وحشی و منشا آن ایتالیا بوده و ژنوتیپ دومی زراعی بوده و از منطقه‌ی شیروان خراسان شمالی جمع‌آوری شده‌است. همچنین بیش‌ترین تشابه ژنتیکی مربوط

به دو ژنوتیپ TN-40-2295 و TN-40-2297 به مقدار ۰/۸۵۲۴ می‌باشد که هر دو زراعی بوده و از منطقه‌ی بجنورد خراسان شمالی دریافت شدند. با توجه به پایین‌ترین مقدار  $\ln P(D)$  و بالاترین مقدار عددی  $\Delta K$  جمعیت مورد مطالعه به ۳ جمعیت تفکیک شد.  $K = 3$  به عنوان  $K$  بهینه در تخمین ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس  $Q$ ) تعیین شد (شکل ۳). بر اساس نتایج ارائه شده در بارپلات (شکل ۴) هر فرد و کد مربوط به آن، توسط ستون رنگی عمودی مشخص شده است که وجود بیش از یک رنگ نشان دهنده‌ی شباهت ژنتیکی بین این نمونه با زیرجمعیت‌های دیگر و اختلاط ژنتیکی آن فرد است. از کل ۹۰ ژنوتیپ مورد مطالعه، توزیع ژنوتیپ‌ها بدین صورت بود که ۲۳ ژنوتیپ (۲۵/۵ درصد) در زیرگروه یک، ۳۸ ژنوتیپ (۴۲/۲ درصد) در زیرگروه دوم و ۲۹ ژنوتیپ (۳۲/۲ درصد) در زیرگروه سوم قرار داشتند. ۵۷ ژنوتیپ (۶۳/۳ درصد) دارای اختلاط ژنتیکی هستند. نتایج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نشان داد که در گروه اول (قرمز؛ زیرجمعیت شماره یک)، ژنوتیپ‌های زراعی از مناطق اصفهان، کهگیلویه و بویراحمد، خراسان رضوی و شمالی قرار دارند. در گروه دوم (سبز؛ زیرجمعیت شماره دو)، ژنوتیپ‌های زراعی خراسان رضوی و شمالی و ژنوتیپ‌های وحشی وجود دارند. همچنین در گروه سوم (آبی؛ زیرجمعیت شماره سه) ژنوتیپ‌های آذربایجان شرقی، باختران، خراسان رضوی، جنوبی و شمالی قرار دارند (شکل ۴). در یک بررسی با استفاده از ۱۴۵ جفت نشانگر ریزماهوره، تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های وحشی و اصلاحی مورد بررسی قرار گرفت، که در نهایت ۸۷ آلل به دست آمد و ژنوتیپ‌ها در ۸ گروه مجزا قرار گرفتند. ارقام وحشی در یک گروه و ارقام اصلاحی در ۷ گروه دیگر قرار گرفتند (Jin et al. 2008) همچنین در پژوهشی دیگر ۱۹ ژنوتیپ نخود وحشی و اصلاحی با ۳۸ جفت نشانگر SSR مورد بررسی قرار گرفت. در نتایج به‌دست‌آمده ژنوتیپ‌ها به دو گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های وحشی در یک گروه و بقیه ژنوتیپ‌ها که اصلاحی بودند در گروه دیگر قرار گرفتند (Hajibarat et al. 2014). در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۳۰ ژنوتیپ عدس که شامل ژنوتیپ وحشی، اصلاحی بودند، ژنوتیپ‌ها به ۵ گروه تقسیم‌بندی شدند. لاین‌های اصلاحی به دو زیرگروه که نشان‌دهنده ترکیبات آلی منحصر به فرد تشکیل شده که در نتیجه ایزولاسیون جغرافیایی بدست آمده‌است.

جدول ۴. آماره‌های تنوع ژنتیکی نشانگرهای SSR در ژنوتیپ‌های عدس مورد بررسی

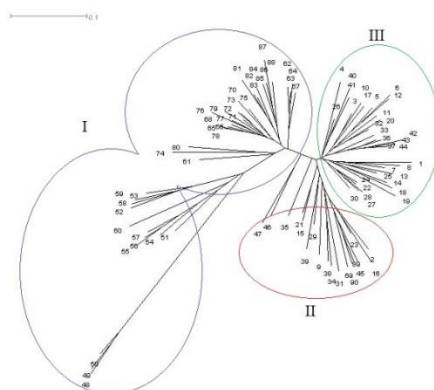
Table 4. Genetic diversity statistic of microsatellite markers in evaluated lentil genotypes

شماره Number	نام نشانگر Marker name	تعداد آلل Number ) (of allele	تعداد آلل موثر Number of ) (effective allele	شاخص شانون (Shanon ) (index	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Observed ) heterozygosit (y	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (Expected ) heterozygosit (y	ضریب نی (Nei)	پلی- مورفیسیم (PIC)	ضریب خویش‌آمیزی (FIS)
1	SSR19	7	3.14	1.36	0.96	0.68	0.68	0.63	-0.34
2	SSR33	5	3.11	1.30	0.79	0.68	0.67	0.62	-0.22
3	SSR48	4	1.72	0.82	0.50	0.42	0.42	0.76	-0.20
4	SSR99	6	2.44	1.16	0.76	0.59	0.59	0.61	-0.26
5	SSR302	6	3.58	1.38	0.99	0.72	0.72	0.71	-0.41
6	SSR113	7	4.48	1.64	0.93	0.78	0.77	0.78	-0.28
7	SSR119	4	2.49	1.04	0.76	0.60	0.59	0.55	-0.20
8	SSR124	4	2.82	1.13	0.97	0.64	0.64	0.61	-0.64
9	SSR156	6	3.32	1.38	0.96	0.70	0.69	0.68	-0.40
10	SSR199	5	3.48	1.41	0.97	0.71	0.71	0.69	-0.36
11	SSR336	4	2.65	1.12	0.96	0.62	0.62	0.63	-0.64
12	SSR66	4	2.51	1.06	0.95	0.60	0.60	0.58	-0.57
13	SSR72	5	2.99	1.26	1	0.66	0.66	0.65	-0.58
14	SSR167	4	2.43	1.01	0.92	0.59	0.59	0.57	-0.51
15	SSR191	4	2.62	1.07	0.96	0.62	0.61	0.59	-0.52
16	SSR197	5	2.96	1.24	0.93	0.66	0.66	0.63	-0.36
17	SSR207	4	2.67	1.11	0.94	0.62	0.62	0.63	-0.69
18	SSR96	3	2.35	0.96	0.82	0.57	0.57	0.59	-0.56
19	SSR230	6	2.21	1.07	0.54	0.55	0.54	0.52	-0.08
20	SSR323	7	5.05	1.76	0.91	0.80	0.80	0.78	-0.13
21	SSR213	5	3.22	1.29	0.83	0.69	0.69	0.65	-0.29
22	SSR183	6	4.58	1.63	0.84	0.78	0.78	0.76	-0.07
23	SSR28	5	1.82	0.91	0.17	0.45	0.45	0.34	-0.61
24	SSR80	8	6.32	1.94	0.93	0.84	0.84	0.83	-0.11
25	SSR154	4	2.44	1.01	0.91	0.59	0.59	0.57	-0.57
26	SSR184	4	2.97	1.21	0.93	0.66	0.66	0.64	-0.43
27	SSR204	3	2.38	0.94	0.98	0.58	0.58	0.56	-0.66
28	SSR215	3	2.46	0.97	0.98	0.59	0.59	0.58	-0.64
29	SSR230	4	2.79	1.14	0.98	0.64	0.64	0.63	-0.54
30	SSR233	3	2.17	0.84	0.99	0.54	0.54	0.53	-0.78
	میانگین	4.83	3.009	1.21	0.35	0.64	0.63	0.63	-0.32

Na = Observed number of alleles

Ne = Effective number of alleles [Kimura and Crow (1964)]

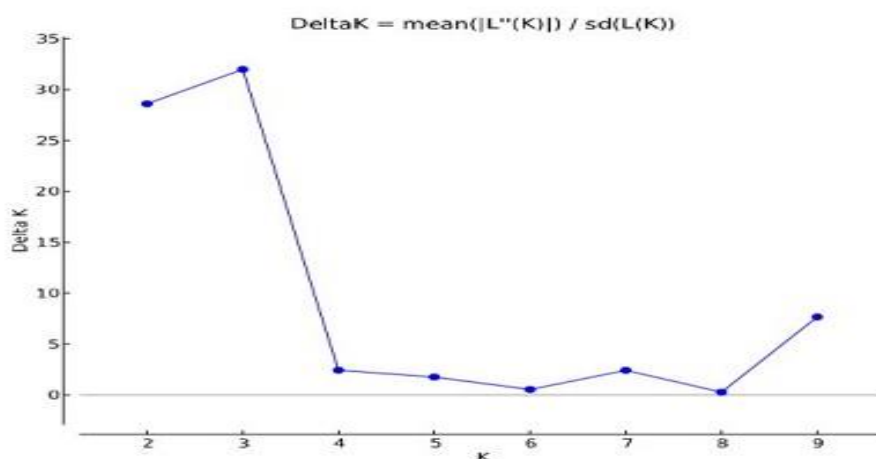
I = Shannon's Information index [Lewontin (1972)]



شکل ۲. تجزیه‌ی کلاستر ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از نشانگرهای SSR به روش NJ

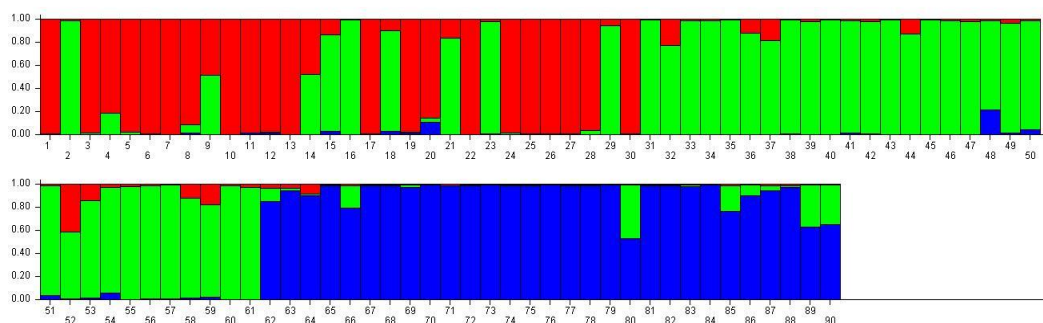
**Figure 2. Dendrogram of lentil genotypes using SSR markers based on Neighbor-Joining method**

در این مطالعه مجموع مقایسه نتایج خوشه‌بندی حاصل از روش مبتنی بر مدل Bayesian با نتایج حاصل از کلاستربندی با استفاده از روش Neighbor-net بسیار بالایی را نشان می‌دهد. نشانگرهای SSR ابزار قدرتمندی برای آنالیز ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس در برنامه‌های اصلاحی هستند که برای تولید واریته‌های جدید با هدف بهبود افزایش عملکرد و مقاومت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی استفاده می‌شوند. تفاوت‌های قابل توجهی برای خصوصیات مختلف در میان ژنوتیپ‌ها وجود دارد که نشان‌دهنده‌ی تنوع است و می‌توان از آن در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. تلاقی بین والدین با حداکثر تنوع، نتایج قابل توجهی را نشان می‌دهند زیرا آن‌ها احتمالاً هتروزیس بالاتر و نوترکیبی ژنتیکی مطلوب‌تری دارند. بدست آمده از این مطالعه بیانگر کارآمدی نشانگرهای SSR در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه بود که وجود این تنوع ژنتیکی در برنامه‌های به نژادی عدس در جهت بهبود کیفیت و کمیت این گیاه توصیه و پیشنهاد می‌شود.



شکل ۳. منحنی  $\Delta K$  جهت تعیین مقدار مطلوب K

**Figure 3.  $\Delta K$  curve to determine the optimal amount**



شکل ۴. گروه‌بندی ۹۰ ژنوتیپ عدس بر اساس نرم‌افزار Structure

Figure 4. Classification of 90 lentil genotypes using structure software

#### منابع

لاهورت فرزانه، زین العابدینی مهرشاد، کریمی جابر، شهبازی مریم، صادق زاده بهزاد، (۱۳۹۵) ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های ایرانی و غیر ایرانی جو با استفاده از نشانگرهای SSR. مجله زیست فناوری گیاهان زراعی ۶ (۱۵)، ۳۵-۲۵.

#### Reference

- Anderson A, Churchill GA, Autrique JE et al. (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* 36,181-186.
- Das B, Sengupta S, Parida SK et al. (2013) Genetic diversity and population structure of rice landraces from Eastern and North Eastern States of India. *BMC Genet* 71, 1-14.
- Datta S, Kaashyap M, Gupta P (2015) Development of EST derived microsatellite markers in chickpea and their validation in diversity analysis. *Indian J Biotechnol* 14, 55-58.
- Dikshit HK, Singh A, Singh D et al. (2015) Genetic diversity in Lens species revealed by EST and genomic simple sequence repeat analysis. *PloS One* 18, e0138101.
- FAOSTAT, 2011 Agricultural Data on Primary Crops, FAO.
- Ghaffari P, Talebi R, Keshavarz F (2014) Genetic diversity and geographical differentiation of Iranian landrace, cultivars and exotic chickpea lines as revealed by morphological and microsatellite markers. *Physiol Mol Biol Plant* 20, 225-233.
- Hajibarat Z, Saidi A, Hajibarat Z, Talebi R (2014) Genetic diversity and population structure analysis of landrace and improved chickpea (*Cicer arietinum*) genotypes using morphological and microsatellite markers. *Environ Exp Bot* 12, 161-166.
- Hajibarat Z, Saidi A, Hajibarat Z, Talebi R (2015) Characterization of genetic diversity in chickpea using SSR markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP). *Physiol Mol Biol Plant* 21, 365-373.



- Jannatabadi AA, Talebi R, Armin M et al. (2014) Genetic diversity of Iranian landrace chickpea (*Cicer arietinum* L.) accessions from different geographical origins as revealed by morphological and sequence tagged microsatellite markers. *J Plant Biochem Biotechnol* 23, 225-229.
- Jin LI, Jian-Ping GU, Dong-Xu XU et al. (2008) Genetic diversity and population structure in lentil (*Lens culinaris* Medik.) germplasm detected by SSR markers. *Acta Agronomica Sinica* 34, 1901-1909.
- Idrissi O, Udupa SM, Houasli C et al. (2015) Genetic diversity analysis of Moroccan lentil (*Lens culinaris* Medik.) landraces using Simple Sequence Repeat and Amplified Fragment Length Polymorphisms reveals functional adaptation towards agro-environmental origins. *Plant Breed* 134, 322-332.
- Khaidizar MI, Haliloglu K, Elkoca E et al. (2012) Genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces grown in northeast Anatolia of Turkey assessed with simple sequence repeat markers. *Turk J Field Crops* 17, 145-150.
- Khazaei H, Caron CT, Fedoruk M et al. (2016) Genetic diversity of cultivated lentil (*Lens culinaris* Medik.) and its relation to the World's agro-ecological zones. *Front Plant Sci* 7, 1-7.
- Kumar S, Rajendran K, Kumar J et al. (2015) Current knowledge in lentil genomics and its application for crop improvement. *Front Plant Sci* 6, 1-13.
- Lahoot F, Zeinolabedini M, Karimi J et al. (2016) Assessment of genetic diversity of Iranian and non-Iranian barely genotypes (*Hordeum Vulgare* L.) using SSR markers. *Crop Biotech* 6, 25-30 (In Persian).
- Lombardi M, Materne M, Cogan NO et al. (2014) Assessment of genetic variation within a global collection of lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars and landraces using SNP markers. *BMC genet* 15, 1-10.
- Parida SK, Kumar KA, Dalal V et al. (2006) Unigene derived microsatellite markers for the cereal genomes. *Theor appl genet* 112, 808-817.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genet* 155, 945-959.
- Reddy MRK, Rathour R, Kumar N et al. (2010) Cross-genera legume SSR markers for analysis of genetic diversity in *Lens* species. *Plant Breed* 129, 514-518.
- Saeed A, Hovsepian H, Darvishzadeh R et al. (2011) Genetic diversity of Iranian accessions, improved lines of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and their wild relatives by using simple sequence repeats. *Plant Mol Biol Rep* 29, 848-858.

- Saghai-Marouf MA, Soliman KM, Jorgensen, RA Allard RW (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci* 81, 8014-8018.
- Saidi A, Eghbalnegad Y, Hajibarat Z (2017). Study of genetic diversity in local rose varieties (*Rosa* spp.) using molecular markers. *Banats J Biotechnol* 8, 148-157.
- Sonnante G, Pignone D (2001). Assessment of genetic variation in a collection of lentil using molecular tools. *Euphytica* 120, 301-307.
- Verma P, Sharma TR, Srivastava PS et al. (2014) Exploring genetic variability within lentil (*Lens culinaris* Medik.) and across related legumes using a newly developed set of microsatellite markers. *Mol Biol Rep* 41, 5607-5625.
- Yeh FC, Boyle T (1997). POPGENE version 1.2, Microsoft Windows-based software for population genetics analysis. University of Alberta, Alberta, Canada. pp. 180-189.
- Zhou G, Chen Y, Yao W et al. (2012) Genetic composition of yield heterosis in an elite rice hybrid. *Proc Natl Acad Sci* 109, 15847-15852.