

تنوع ژنتیکی نهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) با استفاده از نشانگرهای SSR

آیدا طاهری^۱، نسرين سیدی^{۲*}، بابک عبدالهی مندولکانی^۳، قادر میرزاقداری^۴، سولماز نجفی^۵ و کورش وحدتی^۶

- ۱- دانش‌آموخته دکترای جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (Taheri_ayda@yahoo.com)
- ۲- دانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (n.seyedi@urmia.ac.ir)
- ۳- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (b.abdollahi@urmia.ac.ir)
- ۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. (gh.mirzaghaderi@uok.ac.ir)
- ۵- استادیار، گروه محصولات زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یوزونجو یل وان، وان، ترکیه. (solmaznajafi.agri@gmail.com)
- ۶- استادیار، گروه باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران. (kvahdati@ut.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۴

چکیده

اولین گام برای شناسایی، حفظ و نگهداری ذخایر توارثی و اساس پژوهش‌های ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی تعیین مقدار تنوع ژنتیکی در مواد گیاهی است. به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای بسیار مهم در این زمینه است. در این راستا حفظ تنوع ژنتیکی گیاهان بومی و ارزیابی مقدار تنوع آن‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۴۰ نهال گردوی ایرانی از ۲۰ جفت آغازگر SSR استفاده شد. ۲۰ مکان SSR در مجموع ۱۳۸ آلل تولید کرد. کمترین و بیشترین تعداد آلل، به‌ترتیب مربوط به مکان‌های WGA69، WGA71 و JRHR211298 (پنج آلل) و WGA202 (نه آلل) بود. کمترین و بیشترین تعداد آلل مؤثر به‌ترتیب مربوط به مکان‌های JRHR211298 و JRHR217037 بود. بیشترین مقدار هتروزیگوتی مشاهده‌شده توسط مکان WGA69 تولید شد. همه مکان‌های SSR در جمعیت مورد بررسی انحراف معنی‌داری ($p \leq 0.001$) از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند. دندروگرام حاصل از روش Neighbour-joining، ۱۴۰ نهال گردو را در ۵ گروه عمده قرار داد. بررسی ساختار جمعیت با نرم‌افزار Structure 2.3.1، ۲ گروه ($k=2$) احتمالی را شناسایی کرد. که نتایج هردو تا حد زیادی با هم هم‌خوانی داشتند. اطلاعات حاصل بر اساس ماتریس سهم عضویت افراد و مقدار F_{st} نشان داد که تمایز قابل-ملاحظه‌ای بین گروه‌های احتمالی وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تعادل هاردی-واینبرگ، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده.

مقدمه

وسعت شهرنشینی، کشاورزی و تغییرات کاربری، علاوه بر تغییر در کیفیت و ترکیب جنگل، کاهش تنوع را نیز به همراه داشته است (Vahedi et al., 2016). ایران دارای شرایط مناسب برای کشت گردو است و به دلیل تکثیر بذری و سطح زیر کشت زیاد آن، تنوع بسیار زیادی در کشور وجود دارد. وجود چنین تنوعی فرصت‌های زیادی را برای اصلاح گردو فراهم می‌آورد (Ruiz-Garcia et al., 2011). در کشور ما به دلیل عدم شناخت ژرم‌پلاسم گیاهی و ژن‌های مطلوب، برنامه‌های اصلاحی قابل توجهی روی محصولات باغی به خصوص درخت گردو انجام نشده است، از این رو با شناسایی خصوصیات ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف، می‌توان ژن‌های مطلوب و مورد نیاز محققان را در دسترس آن‌ها قرار داد (Hagh-Jooyan, 2003).

در ایران کار شناسایی، جمع‌آوری و ارزیابی ژنوتیپ‌های برتر از سال ۱۹۸۳ در موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر در مناطق گردوخیز کشور آغاز شد و ارزیابی ژنوتیپ‌های انتخابی تا سال ۲۰۰۸ ادامه یافت. در این میان در کنار اهمیت بخشیدن به اصلاح رقم گردو، اصلاح رقم گرده‌دهنده نیز مورد توجه قرار شد. در نهایت حدود ۵۰ ژنوتیپ برتر در سه فاز مختلف انتخاب شدند. در فاز اول هفت ژنوتیپ برتر برای ارزیابی‌های نهایی انتخاب و از میان آن‌ها ارقام جمال و دماوند معرفی شد. هفت ژنوتیپ همراه با هشت رقم گردوی خارجی از سال ۱۹۹۴ در یک برنامه طولانی‌مدت مورد ارزیابی‌های تکمیلی و آزمایش‌های دقیق‌تر قرار شدند. براساس نتایج این بررسی‌ها ژنوتیپ Z30 که علاوه بر داشتن رشد متوسط رو به قوی، تراکم شاخه‌های باز و عادت به رشد راست، ویژگی‌های لازم به‌عنوان یک گردوی گرده‌دهنده را نیز داشت برای این منظور انتخاب شد

گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) گونه‌ای است از خانواده Juglandaceae که در اصل بومی آسیای مرکزی، غربی و همچنین ایران (مناطق زاگرس و کرانه جنوبی دریای خزر) بوده که در آسیا از شرق هیمالیا تا چین گسترش یافته و هم‌اکنون نیز در نقاط مختلف جهان توسعه پیدا کرده است (Gerard et al., 2003). با توجه به سطح بالای کشت گردو در استان‌های مختلف ایران و همچنین به دلیل تکثیر جنسی گردوهای موجود، این گیاه دارای تنوع ژنتیکی زیادی است (Vahdati and Zarei, 2006). چوب مرغوب و میوه عالی این گونه، هر دو از نظر اقتصادی دارای ارزش بالایی هستند. به همین دلیل این گونه درختی از گذشته تا امروز به شدت مورد بهره‌برداری قرار گرفته و در قانون حفاظت از جنگل‌ها و مراتع تحت عنوان گونه حفاظت‌شده معرفی شده است (Sehgal and Raina, 2008). خانواده Juglandaceae دارای ۶۰ گونه است که ۲۰ گونه از آن در جنس *Juglans* قرار می‌گیرد. مشهورترین گونه آن‌ها گردوی ایرانی (*J. regia*) با تعداد کروموزوم $2n=32$ است. گردوی ایرانی احتمالاً از مناطق ایران و افغانستان منشأ شده و سپس به دیگر کشورها مانند چین، روسیه و جنوب اروپا گسترش یافته است (McGranahan et al., 1998). در فلات ایران، گردو در عرض‌های جغرافیایی ۲۹ تا ۳۹ درجه شمالی و طول‌های جغرافیایی ۴۵ تا ۶۴ درجه شرقی، از مناطق پست تا ارتفاع ۲۵۰۰ متر از سطح دریا، در مناطق شمال، غرب و مرکز کشور به صورت دست کاشت یا بومی یافت می‌شود (Vahdati and Zarei, 2006). چین، آمریکا، ایران و ترکیه از تولیدکنندگان اصلی گردو در جهان هستند (Faostat, 2021).

همچنین امکان تشخیص افراد هتروزیگوت از هموزیگوت اشاره کرد (Ovesna et al., 2002). با وجود پژوهش‌های زیادی که در این زمینه انجام شده است ولی استفاده از ژنوتیپ‌های متفاوت کمک شایانی در راستای تکمیل کارهای قبلی می‌کند. از این‌رو در این پژوهش از نشانگرهای SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت برخی نهال‌های گردوی ایرانی برای دستیابی به نتایج بهتر برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر برای افزایش عملکرد و کیفیت این گونه و همچنین حفظ ذخایر ارزشمند آن استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۱۴۰ نهال گردوی دو ساله، اصلاح نشده و بومی ایران بود که از نهالستان‌های مختلف در منطقه شمال غرب کشور تهیه شد. برگ‌های تازه سرشاخه‌های آن‌ها برای نمونه‌برداری برای استخراج DNA استفاده شد. عملیات آزمایشگاهی در آزمایشگاه ژنومیکس پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه انجام شد. استخراج DNA به روش CTAB (Doyle and Doyle, 1990) انجام شد و کمیت و کیفیت DNA توسط دستگاه نانودراپ (microplate reader, EPOCH 2) و روش الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد. پس از تعیین غلظت DNA هر نمونه توسط دستگاه نانودراپ، نمونه‌های استخراجی در حدود ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر برای واکنش‌های PCR رقیق شد.

تجزیه نشانگرهای SSR

در این پژوهش از ۲۰ جفت آغازگر SSR (Dangle et al., 2005; Woeste et al., 2002; Eser et al., 2019) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به روش (Dangl et al., 2005) در دستگاه ترموسایکلر

(Hassani et al., 2012). به‌رحال برای تخمین تنوع ژنتیکی در گردو از نشانگرهای مختلفی مانند نشانگرهای RFLP (Aly et al., 1992)، نشانگرهای RAPD (Niceses et al., 1998)، آلوزایم‌ها (Fornari et al., 1999)، ایزوزایم‌ها (Fornari et al., 2001)، AFLP (Bayazit et al., 2007) و نشانگرهای ISSR (Potter et al., 2002) استفاده شده است. (2013) Mahmoodi et al. با استفاده از نه مکان SSR و صفات مورفولوژیک تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای را در ژنوتیپ‌های بومی کشور گزارش کردند. در این پژوهش ۳۴ آلل در ۲۱ ژنوتیپ شناسایی شد که می‌تواند برای اهداف اصلاحی مورد استفاده قرار بگیرد. Ebrahimi et al. (2016) در بررسی دیگر ۱۸۹ ژنوتیپ را با ده مکان ژنی SSR مورد بررسی قرار دادند و در این بررسی ۳ تا ۲۵ آلل برای هر مکان مشخص شد. در پژوهش ۶۲ نهال گردوی ایرانی توسط Taheri et al. (2016) نیز ۱۰ مکان SSR، در مجموع ۵۳ آلل تولید کرد. (2018) Shamlu et al. ۱۰۲ نمونه گردوی ایرانی را توسط ۱۰ مکان ژنی SSR مورد ارزیابی قرار دادند. تعداد آلل در هر مکان از ۳ تا ۱۲ متغیر بود. (2021) Guney et al. نیز با بررسی تنوع ژنتیکی میان ۹۱ نمونه گردوی ایرانی با استفاده از ۴۵ نشانگر SSR، ۳۹۰ آلل شناسایی کردند. در بیشتر گزارشات فوق‌الذکر نشانگرهای SSR به دلیل مزایای ویژه نسبت به دیگر نشانگرهای مولکولی بیشتر مورد توجه قرار شده است. از مزایای این نشانگرها می‌توان به کاربرد ساده و تفسیر نتایج آسان، مقدار بالای پلی‌مورفیسم حتی در سطح ارقام و ژنوتیپ‌های یک گونه، فراوانی و تنوع زیاد آلل‌های SSR در سطح ژنوم یوکاریوت‌ها، تکرارپذیر بودن نتایج و در نهایت قابل‌انتقال بودن آن در سطح گونه‌های نزدیک (Naghavi et al., 2005)، هم‌بارز بودن آن‌ها و

در حالت Admixture با ۵۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار تکرار MCMC در مقادیر مختلف K (از ۱ تا ۲۰ و ۱۰ تکرار برای هر K) استفاده شد. میانگین شاخص تثبیت (Fst) و ماتریس سهم عضویت (Q) برای مقدار بهینه K با استفاده از همین نرم افزار محاسبه شد.

نتایج

بر اساس نتایج به دست آمده، بیست مکان SSR مورد استفاده در این پژوهش در مجموع ۱۳۸ آلل در ۱۴۰ نهال گردو شناسایی کردند. مکان‌های WGA69، WGA71 و JRHR211298 (۵ آلل) کمترین و WGA202 (۹ آلل) بیشترین تعداد آلل را دارا بودند (شکل ۱). تعداد آلل‌های مؤثر از ۳/۵۳ تا ۷/۱۰ متغیر و میانگین آن ۵/۰۳ بود که کمترین و بیشترین مقدار آن به ترتیب مربوط به مکان‌های JRHR211298 و JRHR217037 بود. میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده در تمام مکان‌های ژنی ۰/۳۲ بود. که مکان‌های WGA69 بیشترین مقدار این شاخص را نشان داد. میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار در جمعیت بررسی شده برای ۲۰ مکان SSR با ۰/۷۹ بود. همچنین کمترین و بیشترین مقدار هتروزیگوتی مورد انتظار به ترتیب توسط مکان‌های JRHR211298 و JRHR217037 تولید شد (جدول ۱). بررسی مقدار انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد بررسی نشان داد که مقدار آماره کای اسکور برای تمام مکان‌ها معنی دار است ($p \leq 0.001$) که نشان دهنده انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ مکان‌های SSR مورد استفاده در جمعیت مورد بررسی است. تجزیه خوشه‌ای به روش اتصال مجاور (Neighbour Joining) نیز که با یافتن پی‌درپی جفت‌های نزدیک به هم و اتصال جفت خروجی‌ها با یک گره داخلی رسم

(Applied Biosystem, USA) در حجم ۲۰ میکرولیتری شامل ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، بافر استخراج 10X، کلرید منیزیم ۲۵ میلی‌مول، ۰/۲ میلی-مول از هر dNTPs، یک واحد آنزیم Taq DNA polymerase و یک میکرومول از هر کدام از آغازگرهای مستقیم (Forward) و معکوس (Reverse) انجام شد. چرخه حرارتی واکنش‌های PCR شامل یک مرحله واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه به مدت پنج دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، اتصال در دمای مناسب برای هر جفت آغازگر (جدول ۱) به مدت ۴۰ ثانیه، بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در پایان چرخه‌ها بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز سه درصد با ولتاژ ۸۰ به مدت دو تا سه ساعت انجام شد و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، عکس‌برداری با استفاده از دستگاه ژل داکيومنت بیورد (Gel logic 212pro, Carestream, BioRad, USA) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

باند‌های حاصل از نشانگرهای SSR به صورت هم‌بازر امتیازدهی شدند و شاخص‌های مرتبط با تنوع ژنتیکی شامل میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار (He) و مشاهده شده (Ho)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne) و انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ برای مکان‌های SSR با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx6.4 (Peakall and Smous, 2006) محاسبه شد. گروه‌بندی افراد با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbour Joining با نرم‌افزار Tassel 3.0 (Bradbury et al., 2007) انجام شد. برای تعیین گروه‌های احتمالی و بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت، از نرم‌افزار Structure 2.3.1 (Pritchard et al., 2000)

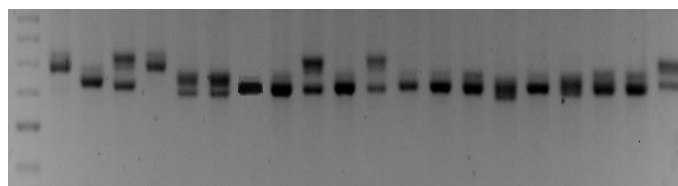
می‌شود و تلاش دارد تا شبیه‌ترین خروجی‌ها را (Bakhsh, 2010)، ۱۴۰ نهال گردو را در پنج گروه خوشه‌بندی کند (Nassaj Hosseini and Shams-). عمده قرار داد (شکل ۲).

جدول ۱- برخی شاخص‌های ژنتیکی در جمعیت گردو مورد بررسی بر اساس ۲۰ مکان SSR

Table 1. Some genetic characteristics in the walnut population studied based on 20 SSR loci

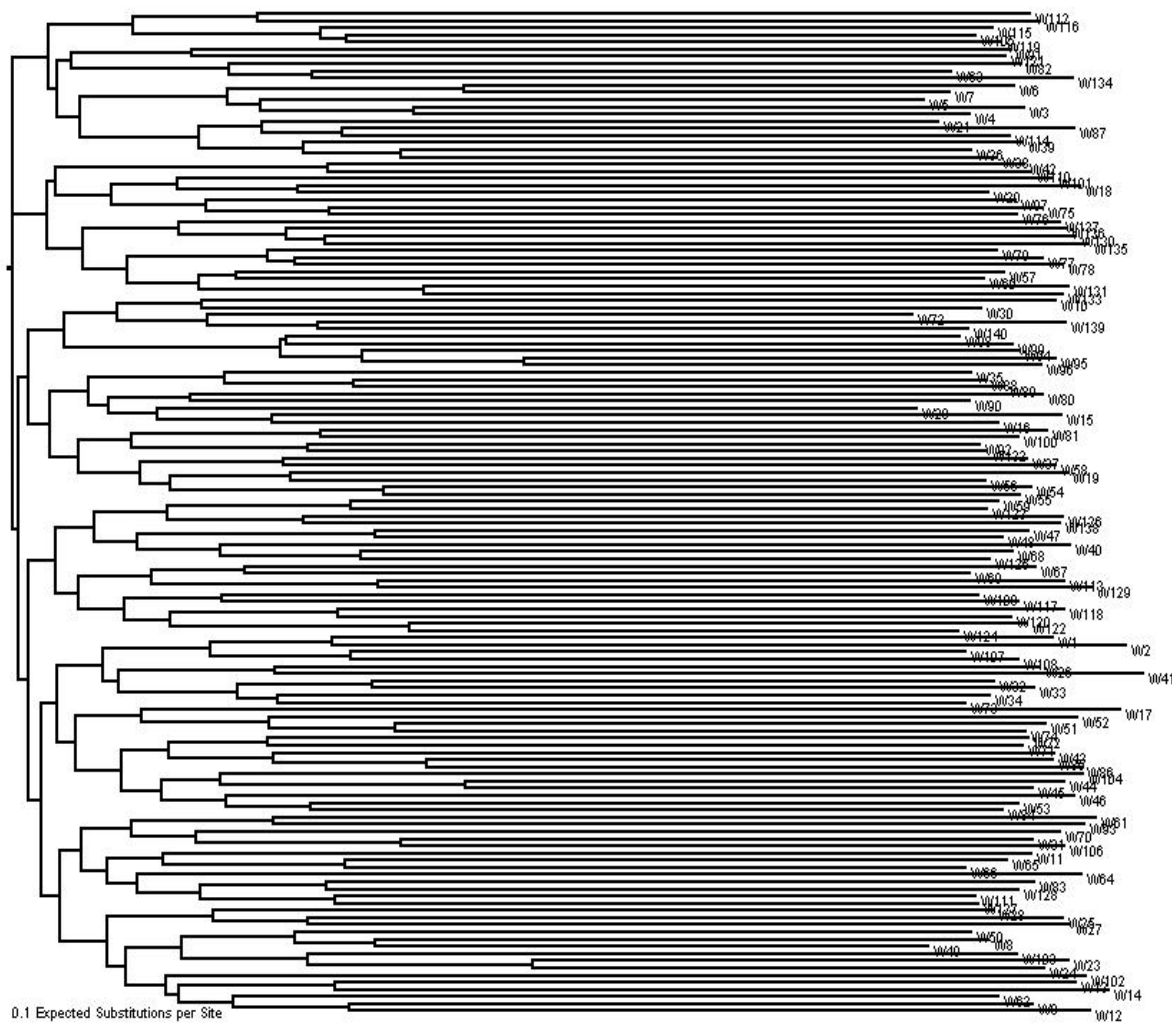
انتظار (He) Expected heterozygosity (He)	شده (Ho) Observed heterozygosity (Ho)	شاخص شانون (I) Shannon Index (I)	تعداد آل مؤثر (Ne) Number of effective alleles (Ne)	تعداد آل (Na) Number of alleles (Na)	دمای اتصال (درجه سانتی- گراد) (Tm) Annealing temperature (°C) (Tm)	آغازگر Primer
0.81	0.22	1.85	5.18	8	58	WGA1
0.76	0.06	1.55	4.16	6	58	WGA4
0.82	0.36	1.86	5.49	8	57	WGA9
0.76	0.98	1.52	4.23	5	58	WGA69
0.73	0.10	1.41	3.65	5	59	WGA71
0.81	0.00	1.72	5.22	6	58	WGA89
0.83	0.44	1.88	5.88	8	59	WGA118
0.82	0.34	1.90	5.52	9	60	WGA202
0.75	0.34	1.58	3.98	7	58	WGA276
0.75	0.38	1.53	4.06	6	57	WGA321
0.86	0.36	2.00	7.10	8	53.5	JRHR217037
0.77	0.28	1.64	4.35	8	55.3	JRHR207652
0.72	0.04	1.36	3.53	5	53.2	JRHR211298
0.84	0.66	1.88	6.22	7	52.4	JRHR225189
0.82	0.56	1.80	5.44	8	47.7	JRHR225564
0.77	0.34	1.66	4.40	7	47.7	JRHR214591
0.80	0.00	1.68	5.10	6	55.3	JRHR212067
0.80	0.42	1.68	5.02	6	50.5	JRHR209244
0.82	0.26	1.88	5.71	8	51.1	JRHR211717
0.84	0.20	1.94	6.33	8	53.5	JRHR217272
0.79	0.32	1.72	5.03	6.90	55.11	میانگین Mean

300 bp ۳۰۰ bp
250 bp ۲۵۰ bp
200 bp ۲۰۰ bp



شکل ۱- الگوی بانندی آغازگر WGA202 روی برخی از نهال‌های گردو (جفت بازها مربوط به باندهای حاصل از لدر ۵۰ bp هستند).

Figure 1. WGA202 primer band pattern on some walnut seedlings (The base pairs belong to the bands derived from the 50 bp leader)

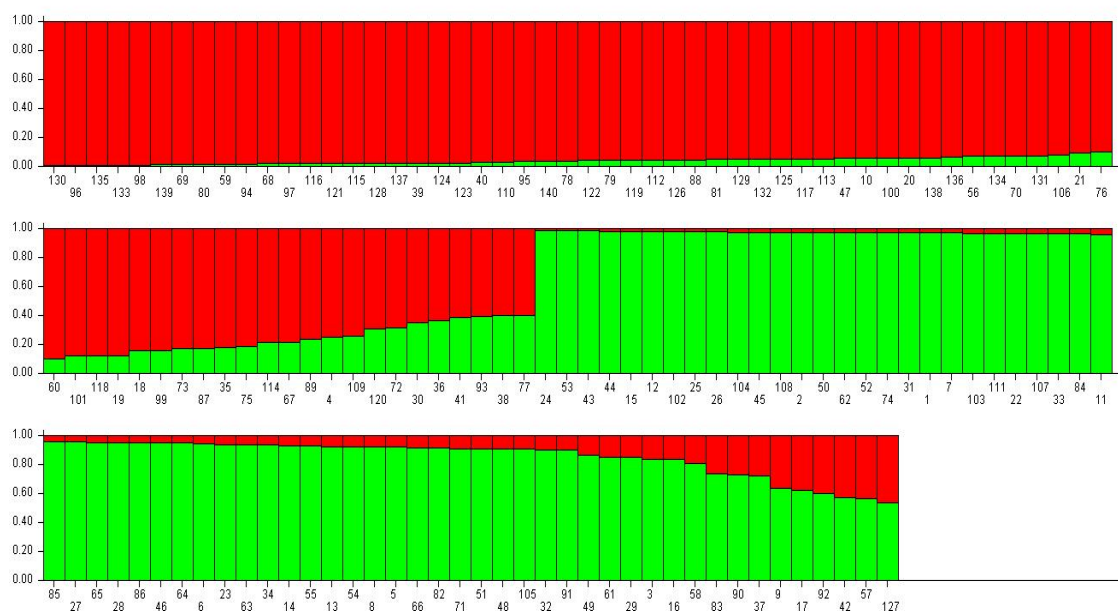


شکل ۲- دندروگرام ۱۴۰ نهال گردو به روش تجزیه خوشه‌ای به روش Neighbour Joining بر اساس ۲۰ مکان SSR
 Figure 2. Dendrogram of 140 walnut seedlings by cluster analysis by Neighbor Joining method based on 20 SSR loci

بسیار زیاد است (Cho et al., 2008). در همه گروه‌ها، مقادیر متوسط F_{st} کمتر از ۰/۲ بود که حاکی از تمایز پایین بین گروه‌ها است. در بارپلات ارائه شده توسط نرم‌افزار Structure (شکل ۳) محور افقی مربوط به نهال‌ها و محور عمودی سهم تعلق هر فرد به هر گروه را نشان می‌دهد. همچنین در این پلات هر گروه با رنگی متمایز مشخص شده است به طوری که دو رنگ مجزا از هم برای هر فرد نشان‌دهنده تعلق آن فرد به یکی از گروه‌ها یا هر دو گروه است. تداخل رنگ‌ها برای هر فرد نشان‌دهنده تمایز بسیار پایین بین گروه‌ها

برای تعیین گروه‌های احتمالی و تأیید گروه‌های متمایز حاصله از تجزیه خوشه‌ای نهال‌های مورد بررسی، تجزیه ساختار ژنتیکی جمعیت با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.1 انجام شد. پس از انجام محاسبه مقادیر مختلف K (براساس روش ΔK)، مقدار $K=2$ مناسب‌ترین عدد برای محاسبه متوسط شاخص تثبیت (F_{st}) برای هر گروه برآورد شد (جدول ۳). مقدار F_{st} می‌تواند از ۰ تا ۰/۰۵، ۰/۰۵ تا ۰/۱۵، ۰/۱۵ تا ۰/۲۵ و بالای ۰/۲۵ متغیر باشد که به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف ژنتیکی کم، متوسط، زیاد و

و تعلق فرد به هر دو گروه است. که به‌عنوان نمونه-های مختلط معرفی می‌شوند که سهم عضویت آن‌ها در هر دو گروه تقریباً برابر است. در باریلات حاصل، وقتی درصد عضویت یک ژنوتیپ به خوشه‌ای بیشتر یا مساوی ۰/۷ باشد، ژنوتیپ به آن خوشه نسبت داده می‌شود، ولی در صورتی که درصد عضویت آن کمتر از این مقدار باشد، به‌عنوان ژنوتیپ مختلط در نظر شده می‌شود (Charney, 2010). محاسبه ماتریس سهم عضویت (جدول ۴) هر فرد به گروه‌ها نشان داد که هر فرد با چه ضریبی به هر یک از گروه‌ها تعلق دارد.



شکل ۳- باریلات رسم‌شده توسط نرم‌افزار Structure 2.3.1 بر مبنای داده‌های حاصل از ۲۰ مکان SSR، محور افقی مربوط به نهال‌ها و محور عمودی سهم تعلق هر فرد به هر گروه را نشان می‌دهد.

Figure 3. The barplot drawn by Structure 2.3.1 software, based on data from 20 SSR loci, shows the horizontal axis of the seedlings and the vertical axis the share of each individual belonging to each group.

جدول ۳- مقادیر F_{st} و هتروزایگوسیتی مورد انتظار برای هر گروه احتمالی در جمعیت گردوی مورد بررسی بر مبنای $k=2$

Table 3. Expected F_{st} and heterozygosity values for each possible group in the studied walnut population based on $k=2$

متوسط هتروزایگوتی مورد انتظار Expected average heterozygosity	متوسط F_{st} Average of F_{st}	گروه Group
1.30	0.038	I
1.31	0.049	II

جدول ۴- ماتریس سهم عضویت (ماتریس Q) محاسبه شده توسط نرم افزار Structure 2.3.1 برای نهال‌های گردو بر مبنای $k=2$ Table 4. Membership share matrix (Q matrix) calculated by Structure 2.3.1 software for walnut seedlings based on $k=2$

گروه ۲	گروه ۱	نهال‌ها	گروه ۲	گروه ۱	نهال‌ها	گروه ۲	گروه ۱	نهال‌ها
Q ₂	Q ₁	Sample	Q ₂	Q ₁	Sample	Q ₂	Q ₁	Sample
0.04	0.96	W95	0.91	0.09	W48	0.97	0.03	W1
0.01	0.99	W96	0.87	0.13	W49	0.98	0.02	W2
0.02	0.98	W97	0.98	0.02	W50	0.84	0.16	W3
0.01	0.99	W98	0.91	0.09	W51	0.25	0.75	W4
0.16	0.84	W99	0.97	0.03	W52	0.92	0.08	W5
0.06	0.94	W100	0.99	0.01	W53	0.95	0.05	W6
0.12	0.88	W101	0.93	0.07	W54	0.97	0.03	W7
0.98	0.02	W102	0.93	0.07	W55	0.92	0.08	W8
0.97	0.03	W103	0.07	0.93	W56	0.64	0.36	W9
0.98	0.02	W104	0.57	0.43	W57	0.06	0.94	W10
0.91	0.09	W105	0.81	0.19	W58	0.96	0.04	W11
0.08	0.92	W106	0.02	0.98	W59	0.98	0.02	W12
0.97	0.03	W107	0.10	0.90	W60	0.93	0.07	W13
0.98	0.02	W108	0.86	0.14	W61	0.94	0.06	W14
0.26	0.74	W109	0.98	0.02	W62	0.98	0.02	W15
0.03	0.97	W110	0.94	0.06	W63	0.84	0.16	W16
0.97	0.03	W111	0.95	0.05	W64	0.62	0.38	W17
0.05	0.95	W112	0.96	0.04	W65	0.16	0.84	W18
0.06	0.94	W113	0.92	0.08	W66	0.13	0.87	W19
0.22	0.78	W114	0.22	0.78	W67	0.06	0.94	W20
0.02	0.98	W115	0.02	0.98	W68	0.10	0.90	W21
0.02	0.98	W116	0.02	0.98	W69	0.97	0.03	W22
0.05	0.95	W117	0.08	0.92	W70	0.94	0.06	W23
0.13	0.87	W118	0.91	0.09	W71	0.99	0.01	W24
0.04	0.96	W119	0.32	0.68	W72	0.98	0.02	W25
0.31	0.69	W120	0.17	0.82	W73	0.98	0.02	W26
0.02	0.98	W121	0.97	0.03	W74	0.96	0.04	W27
0.04	0.96	W122	0.19	0.81	W75	0.95	0.05	W28
0.03	0.97	W123	0.10	0.90	W76	0.85	0.15	W29
0.03	0.97	W124	0.40	0.60	W77	0.35	0.65	W30
0.05	0.95	W125	0.04	0.96	W78	0.97	0.03	W31
0.05	0.95	W126	0.04	0.96	W79	0.90	0.10	W32
0.54	0.46	W127	0.02	0.98	W80	0.97	0.03	W33
0.02	0.98	W128	0.05	0.95	W81	0.94	0.06	W34
0.05	0.95	W129	0.91	0.09	W82	0.18	0.82	W35
0.01	0.99	W130	0.74	0.26	W83	0.37	0.63	W36
0.08	0.92	W131	0.96	0.04	W84	0.73	0.27	W37
0.05	0.95	W132	0.96	0.04	W85	0.40	0.60	W38
0.01	0.99	W133	0.95	0.05	W86	0.03	0.97	W39
0.07	0.93	W134	0.18	0.82	W87	0.03	0.97	W40
0.01	0.99	W135	0.05	0.95	W88	0.39	0.61	W41
0.07	0.93	W136	0.24	0.76	W89	0.58	0.42	W42
0.02	0.98	W137	0.73	0.27	W90	0.99	0.01	W43
0.06	0.94	W138	0.90	0.10	W91	0.98	0.02	W44
0.02	0.98	W139	0.60	0.40	W92	0.98	0.02	W45
0.04	0.96	W140	0.40	0.60	W93	0.95	0.05	W46
			0.02	0.98	W94	0.06	0.94	W47

اعداد متن جدول ضریب تعلق هر فرد به گروه‌های احتمالی را نشان می‌دهد.

The text numbers in the table show the coefficient of belonging of each person to the possible groups.

Dangle et al. از ۱۴ نشانگر SSR برای شناسایی ۴۷

ژنوتیپ گردوی ایرانی و ۱ پایه هیبرید استفاده کردند و به ازای هر مکان ژنی سه تا هشت آل را شناسایی کردند. (Victori et al. (2006) با کاربرد همین

بحث

با پژوهش تنوع ژنتیکی ۱۴۰ نهال گردو با ۲۰ مکان ژنی SSR، در مجموع ۱۳۸ آل شناسایی شد که تعداد آل‌ها برای هر مکان ژنی از ۵ تا ۹ متغیر بود. (2005)

گردوهای این پژوهش ۶/۹ و مقدار شاخص شانون ۱/۷۲ بود. درحالی‌که در پژوهش انجام‌شده توسط Karimi et al. (2008) بر روی ۲۸ ژنوتیپ از ۴ توده گردوی ایرانی در استان همدان با استفاده از ۱۱ نشانگر SSR، میانگین تعداد آل‌های مشاهده‌شده برای جمعیت‌های گردو ۳/۲۵ بود و میانگین شاخص شانون برای کلیه توده‌ها ۰/۹۳ بود. تفاوت موجود احتمالاً به-خاطر گزینش برای صفات مطلوب در جمعیت‌های گردو در استان همدان و بنابراین کاهش تنوع آلی در این جمعیت‌ها و همچنین کم‌بودن تعداد نمونه‌های بررسی شده باشد. در پژوهشی دیگر، (2001) Fornari et al. با بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های گردوی آسیایی و اروپایی با استفاده از نشانگرهای آلوزایم و ایزوزایم ۲/۲۹-۲/۱۴ آل در هر جمعیت شناسایی کردند. کم‌بودن میانگین تعداد آل‌های مشاهده شده در بررسی (2001) Fornari et al. نسبت به این پژوهش می‌تواند به توانایی بالاتر نشانگر SSR در نشان دادن چندشکلی ژنتیکی در جمعیت‌ها نسبت به آلوزایم و ایزوزایم مرتبط باشد. در پژوهش کنونی همه مکان‌های SSR مورد استفاده انحراف معنی‌داری را از تعادل هاردی-واینبرگ نشان دادند. هرچه انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ بیشتر باشد هتروزیگوتی کاهش یافته و در نتیجه مقدار تنوع کاهش می‌یابد. عدم برقراری تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت مورد بررسی با توجه به دگرگشت بودن گردو می‌تواند به دلیل انتقال منابع ژنتیکی در نمونه‌های مورد بررسی و تحت تأثیر گزینش بوده باشد (Karimi et al., 2008). Ebrahimi et al. (2016) و همکاران ۱۸۹ ژنوتیپ با ده مکان ژنی SSR مورد بررسی قرار دادند و ۳ تا ۲۵ آل برای هر مکان مشخص شد که زیاد-بودن تعداد آل‌ها در پژوهش آن‌ها می‌تواند ناشی از تعداد زیاد نمونه‌های مورد بررسی باشد. در پژوهش

نشانگرها تعداد ۴۶ تا ۹۰ آل به ازای هر مکان ژنی در گردوی سیاه (*Juglans nigra*) مشاهده کردند که برای تمام مکان‌های ژنی تعداد آل گزارش شده بیشتر از مقدار مشاهده‌شده در این بررسی بود. این تفاوت در تعداد آل‌ها می‌تواند ناشی از وحشی‌بودن توده‌های گردوی سیاه و عدم دخالت‌های بشری در آن‌ها و تفاوت در محیط اکوجغرافیایی باشد. در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ گردوی ایرانی با استفاده از ۱۱ نشانگر SSR توسط Karimi et al. (2008) در مجموع ۴۷ آل شناسایی شد که تعداد آل در هر مکان از ۲ تا ۹ متغیر بود. حداکثر تعداد آل در این بررسی در مکان WGA276 (۹ آل) بود. که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. در بررسی دیگر که توسط Mahmoodi et al. (2013) بر روی ۱۶ نمونه از بانک ژن و ۵ رقم از گردوی ایرانی انجام شد میانگین تعداد آل‌ها در هر مکان ۴/۲۵ گزارش شد که با میانگین تعداد آل در هر مکان در این پژوهش (۶/۹) با توجه به زیادبودن تعداد نمونه‌های مورد بررسی تا حدودی مطابقت دارد. تطابق بین این پژوهش‌ها با بررسی حاضر احتمالاً به دلیل یکسانی منشأ نمونه‌های مورد بررسی است. در پژوهش انجام شده توسط (2016) Taheri et al. که ۶۲ نهال گردوی ایرانی با استفاده از ۱۰ مکان SSR مورد بررسی قرار شد در مجموع ۵۳ آل تولید شد. حداقل و حداکثر تعداد آل به ترتیب برابر ۴ و ۷ بود. میانگین تعداد آل در هر مکان ۵/۳ و تعداد آل‌های مؤثر ۴/۳۰ و شاخص شانون نیز ۱/۵۲ گزارش شد. بیشتر بودن تعداد آل‌های مشاهده شده در هر مکان ژنی در پژوهش کنونی می‌تواند به دلیل تعداد بالای نمونه‌ها باشد. که با توجه به کم‌بودن تعداد نمونه‌ها و مکان‌های ژنی مورد استفاده در مقایسه با این پژوهش، نتایج هر دو پژوهش با هم مطابقت دارند. میانگین تعداد آل‌های مشاهده‌شده در

فرانسوی، گروه ترکی دارای مقادیر متوسط تنوع ژنتیکی بالاتر از گروه آمریکایی-فرانسوی بود. به عنوان مثال، مقادیر Na ، Ne ، Ho و He در گروه ترکی به ترتیب $۰/۸$ ، $۵/۱$ ، $۰/۷۹$ و $۰/۸۴$ بود، در حالی که در گروه آمریکایی-فرانسوی به ترتیب $۰/۷۶$ ، $۴/۴$ ، $۶/۱$ و $۰/۸۱$ بود. در پژوهش کنونی نیز این مقادیر به ترتیب برابر با $۶/۹$ ، $۵/۰۳$ ، $۰/۳۱$ و $۰/۸۰$ بود. تعداد آلل‌ها و همچنین تعداد آلل‌های مؤثر در این بررسی بیشتر از مقادیر مشاهده شده در هر دو گروه ترکی و آمریکایی-فرانسوی بود به طوری که این مقادیر نزدیک به مقادیر گزارش شده مربوط به گونه‌های ترکی است که با توجه به پدیده دگرگشتی و نزدیکی این دو منطقه به هم مطابقت داشتن نتایج منطقی به نظر می‌رسد.

تجزیه ساختار جمعیت و تأیید گروه‌بندی با استفاده از روش *Admixture*، دو گروه احتمالی را شناسایی کرد ولی مقادیر پایین *Fst* و ضرایب تعلق افراد به گروه‌ها نشان داد که هر نمونه به کدام گروه تعلق دارد. به طوری که تمام نمونه‌های گردوی مورد بررسی به جز تعداد اندکی از آن‌ها به هر دو گروه تعلق داشتند (جدول ۴). آنالیزهای *Neighbour Joining* و نرم‌افزار *Structure 2.3.1* تا حد زیادی با هم هم‌خوانی داشتند. به طوری که بیشتر افراد متعلق به یک گروه در بارپلات رسم شده توسط نرم‌افزار *Structure 2.3.1*، در گروه‌بندی انجام شده بر اساس روش *Neighbour Joining* در نرم‌افزار *Tassel 3.0* نیز متعلق به همان گروه یا گروه‌های نزدیک به آن بودند. شباهت زیاد و عدم تمایز کافی بین گروه‌های احتمالی می‌تواند حاکی از وجود پایه‌های مادری مشابه و گرده‌افشانی یکنواخت و همچنین پدیده دگرگشتی موجود بین نهال‌های گردو باشد. این احتمال نیز وجود دارد که انتخاب نهال‌های مورد بررسی برای پرورش در نهالستان به صورت انتخابی و بر اساس یک

انجام شده توسط ایشان میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده و هتروزیگوتی مورد انتظار به ترتیب $۰/۶۲$ و $۰/۷۳$ بود. میانگین شاخص تثبیت میان منطقه‌ها به نسبت کم بود. همچنین نرم‌افزار *Structure (Fst=۰/۰۷)* و همچنین جمع‌آوری شده را در دو گروه اصلی طبقه‌بندی کرد. (Guney et al. (2021) تنوع ژنتیکی میان ۹۱ نمونه گردوی ایرانی را با استفاده از ۴۵ نشانگر *SSR* مورد بررسی قرار دادند. در مجموع ۳۹۰ آلل شناسایی شد. تعداد آلل‌ها در هر مکان بین ۳ تا ۱۹ آلل با میانگین مقدار ۹ آلل در هر مکان متغیر بود. در بررسی تنوع ژنتیکی سیب شرقی (*Malus orientalis*) در شش رویشگاه مختلف جنگل‌های هیرکانی ایران با استفاده از شش جفت نشانگر *SSR* توسط (Rostami et al. (2019) شده $۸/۵۸$ ، و میانگین آلل‌های مؤثر $۷۰/۳۰$ گزارش شد. (Eser et al. (2019) ۸۰۰ پرایمر *SSR* را طراحی کرده و بر روی هشت رقم ترکی، سه رقم فرانسوی و پنج رقم آمریکایی از *Juglans regia* آزمایش کردند که ۸۸ پرایمر (۱۱ درصد) باند تولید نکردند، ۱۶۱ پرایمر (۲۰/۱ درصد) مونومورفیسم و ۵۵۱ پرایمر (۶۸/۹ درصد) پلی‌مورفیسم نشان دادند. دندروگرام *UPGMA* نشان داد که ارقام گردو بر اساس منشأشان به دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند. همه ارقام ترکی در یک گروه قرار شدند، در حالی که ارقام آمریکایی-فرانسوی در گروه دوم قرار شدند و به عبارت دیگر نشان دادند که نشانگرهای *SSR* توانستند ارقام مختلف گردو را از هم جدا کنند. در این بررسی برای استفاده از بهترین *SSR*ها، ۲۰ جایگاه *SSR* با بالاترین مقادیر تنوع ژنتیکی برای پژوهش‌های بیشتر در مورد خصوصیات ژرم پلاسم، شناسایی والدین، ژنتیک جمعیت و تنوع ژنتیکی در گردو تعیین شد و در تجزیه و تحلیل جداگانه گروه‌های ترکی و آمریکایی-

راه‌های مطمئن برای دستیابی به هتروزیس بالا، استفاده از مواردی است که دارای کمترین خویشاوندی باشند. بهتر است برای مشخص شدن گروه‌هایی با فاصله ژنتیکی مناسب، تعداد زیادی نهال گردو با نشانگرهای دیگر به همراه ویژگی‌های مورفولوژیک و رابطه خویشاوندی آن‌ها نیز مورد بررسی قرار بگیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه که امکانات لازم برای انجام این پژوهش را فراهم کردند، صمیمانه تشکر کنند.

References

- Aly, M. A.; Fjellstrom, R. G.; McGranahan, G. H.; Parfitt, D. E., Origin of walnut somatic embryos determined by RFLP and isozyme analysis. *HortScience* **1992**, *27* (1), 61-63.
- Bayazit, S.; Kazan, K.; Gülbitti, S.; Cevik, V.; Ayanoğlu, H.; Ergül, A., AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotypes from Hatay, Turkey. *Scientia Horticulturae* **2007**, *111* (4), 394-398.
- Bradbury, P. J.; Zhang, Z.; Kroon, D. E.; Casstevens, T. M.; Ramdoss, Y.; Buckler, E. S., TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* **2007**, *23* (19), 2633-2635.
- Charney, M., Sunflower seeds and their products. *Journal of Agricultural & Food Information* **2010**, *11* (2), 81-89.
- Cho, G.-T.; Lee, J.-R.; Moon, J.-K.; Yoon, M.-S.; Baek, H.-J.; Kang, J.-H.; Kim, T.-S.; Paek, N.-C., Genetic diversity and population structure of Korean soybean landrace [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Journal of Crop Science and Biotechnology* **2008**, *11* (2), 83-90.
- Dangl, G. S.; Woeste, K.; Aradhya, M. K.; Koehmstedt, A.; Simon, C.; Potter, D.; Leslie, C. A.; McGranahan, G., Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of walnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **2005**, *130* (3), 348-354.
- Doyle, J. J., Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* **1990**, *12*, 13-15.
- Ebrahimi, A.; Zarei, A.; Lawson, S.; Woeste, K. E.; Smulders, M., Genetic diversity and genetic structure of Persian walnut (*Juglans regia*) accessions from 14 European, African, and Asian countries using SSR markers. *Tree genetics & genomes* **2016**, *12* (6), 1-12.
- Eser, E.; Topcu, H.; Kefayati, S.; SÜTYEMEZ, M.; Islam, M. R.; Kafkas, S., Highly polymorphic novel simple sequence repeat markers from Class I repeats in walnut (*Juglans regia* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **2019**, *43* (2), 174-183.
- FAO, F., Available online at: <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>. *Food and Agriculture Organization* **2021**.
- Fornari, B.; Cannata, F.; Spada, M.; Malvolti, M., Allozyme analysis of genetic diversity and differentiation in European and Asiatic walnut (*Juglans regia* L.) populations. *Forest genetics* **1999**, *6* (2), 115-127.
- Fornari, B.; Malvolti, M. E.; Turchini, D.; Fineschi, S.; Beritognolo, I.; McCaglia, E.; Cannata, F., Isozym and organellar DNA analysis of genetic diversity in natural/naturalised European and Asiatic

- walnut (*Juglans regia*) populations. *Acta Horticulturae* **2001**, 544, 167-178.
- Gerard, W.K.; Crocker, T.F.; Bertrand, P.F., Minor Fruits and Nuts in Georgia. *University of Georgia* **2003**, 214 p.
- Guney, M.; Kafkas, S.; Keles, H.; Zarifikhosroshahi, M.; Gundesli, M. A.; Ercisli, S.; Necas, T.; Bujdoso, G., Genetic diversity among some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes by SSR markers. *Sustainability* **2021**, 13 (12), 6830.
- Hagh-Jooyan, R. Investigation genetic diversity of tuiserkan walnut population and four walnut collections of country by morphologic and RAPD markers. Ph. D. Thesis in Horticulture Science, Research Sciences Unit of Tehran, 2003.
- Hassani, D.; Atefi, J.; Haghjooyan, R.; Dastjerdi, R.; Keshavarzi, M.; Mozaffari, M.; Soleimani, A.; Rahmanian, A.; Nematzadeh, F.; Malmir, A., Jamal, a new Persian walnut cultivar for moderate-cold areas of Iran. *Seed and Plant Improvement Journal* **2012a**, 28-1 (3), 525-528. (In Persian)
- Hassani, D.; Atefi, J.; Haghjooyan, R.; Dastjersi, R.; Keshavarzi, M.; Mozaffari, M. R.; Soleimani, A.; Rahmanian, A. R.; Nematzadeh, F.; Malmir, A., Damavand, a new Persian walnut cultivar as a pollinator for Iranian walnut cultivars and genotypes. *Seed and Plant Improvement Journal* **2012b**, 28-1, 529-531. (In Persian)
- Karimi, R.; Ershadi, A.; Vahdati, K., Analysis of genetic diversity among some Persian walnut populations of Hamedan Province using SSR markers. *Plant Production Technology* **2008**, 9 (2), 43-53.
- Mahmoodi, R.; Rahmani, F.; Rezaee, R., Genetic diversity among *Juglans regia* L. genotypes assessed by morphological traits and microsatellite markers. *Spanish journal of agricultural research* **2013**, 11 (2), 431-437.
- McGranahan, G. H. ; Charles, A. ; Leslie, C. A. ; Philips, H. A. ; Dandaker, A., Walnut Propagation. In: D. Ramos (ed.), *Walnut Production Manual* **1998**, pp, 71-83.
- Naghavi, M.; Gharayazi, B.; Hosseini, Gh., Molecular Markers. Tehran University Press, **2005**; 350 pp. (In Persian)
- Nassaj Hosseini, M.; Shams-Bakhsh, M. Phylogenetic analysis methods. First Edition, Haghshenass press **2010**, 238 pp. (In Persian)
- Nicese, F.; Hormaza, J.; McGranahan, G., Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers. *Euphytica* **1998**, 101 (2), 199-206.
- Ovesna, J.; Poláková, K.; Leišová, L., DNA analyses and their applications in plant breeding. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* **2002**, 38 (1), 29.
- Peakall, R.; Smouse, P. E., GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes* **2006**, 6 (1), 288-295.
- Potter, D.; Gao, F.; Aiello, G.; Leslie, C.; McGranahan, G., Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of walnut (*Juglans regia*) cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **2002**, 127 (1), 75-81.
- Pritchard, J. K.; Stephens, M.; Donnelly, P., Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **2000**, 155 (2), 945-959.
- Rostami, R.; Seyedi, N.; Yousefzadeh, H., Genetic diversity of wild apple (*Malus orientalis* Uglitz.) in hyrcanian Forests of Iran by SSR markers. *Forest Research and Development* **2019**, 5 (2), 169-179.
- Ruiz-Garcia, L.; Lopez-Ortega, G.; Denia, A. F.; Tomas, D. F., Identification of a walnut (*Juglans regia* L.) germplasm collection and evaluation of their genetic variability by microsatellite markers. *Spanish Journal of Agricultural Research* **2011**, 9 (1), 179-192.
- Sehgal, D.; Raina, S.N., DNA markers and germplasm resource diagnostics: new perspectives in crop improvement and conservation strategies. In: Arya ID, Arya S (Eds) Utilization of biotechnology in plant sciences. Microsoft Printech (I) Pvt. Ltd, Dehradun, **2008**; pp, 39-54.
- Shamlu, F.; Rezaei, M.; Lawson, S.; Ebrahimi, A.; Biabani, A.; Khan-Ahmadi, A., Genetic diversity of superior Persian walnut genotypes in Azadshahr, Iran. *Physiology and Molecular Biology of Plants* **2018**, 24 (5), 939-949.
- Taheri, A.; Seyedi, N.; Abdollahi Mandoulakani., SSR-based assessment of genetic diversity in Iranin walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of forest and wood product* **2016**, 68 (2), 277-286. (In Persian)

- Vahdati, K.; Zareie, N., Evaluation of side-stub and hypocotyle grafting efficiency for walnut propagation in Iran. *Acta Horticulturae* **2006**, 705, 175-179.
- Vahedi, A. A.; Bijani, A. R.; Khatib-Nia, E., Spatial analysis and long-term dynamics for above-ground biomass of Caspian poplar (*Populus caspica* Bornm.) in developmental stages of natural stands in Nour Forest Park. *Forest Research and Development* **2016**, 2 (3), 257-271.
- Woeste, K.; Burns, R.; Rhodes, O.; Michler, C., Thirty polymorphic nuclear microsatellite loci from black walnut. *Journal of Heredity* **2002**, 93, 58-60.

Genetic diversity in Persian walnut (*Juglans regia* L.) seedlings using SSR markers

A. Taheri¹, N. Seyedi^{*2}, B. Abdollahi Mandoulakani³, Gh. Mirzaghaderi⁴, S. Najafi⁵, K. Vahdati⁶

1- Ph.D. of Forestry, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran.
(Taheri_ayda@yahoo.com)

2- Associate Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (n.seyedi@urmia.ac.ir)

3- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (b.abdollahi@urmia.ac.ir)

4- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, I. R. Iran. (gh.mirzaghaderi@uok.ac.ir)

5- Assistant Professor, Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Van Yuzuncu Yil University, Van, Turkey. (solmaznajafi.agri@gmail.com)

6- Professor, Department of Horticulture, College of Aburaihan, Pakdasht, University of Tehran, Tehran, I. R. Iran. (kvahdati@ut.ac.ir)

Received: 30.06.2021 Accepted: 15.09.2021

Abstract

The first and basic step in identification, conservation, protection of gene resources, genetic research, and breeding programs is determination of genetic diversity in plant material. Using of molecular markers is one of the most important tools in this field. Therefore, the conservation and evaluation of genetic diversity of native plants is necessary. In order to evaluate the genetic diversity of 140 Iranian walnut seedlings, 20 SSR primer pairs were used. The used SSR loci generated 138 alleles. The minimum and maximum number of alleles were for SSR loci WGA69, WGA71, JRHR211298 (five alleles) and WGA202 (nine alleles), respectively. Loci JRHR211298 and loci JRHR217037 produced the minimum and maximum number of effective alleles, respectively. The most value of observed heterozygosity (H_o) generated by loci WGA69. All used SSR loci, showed deviation ($P \leq 0.001$) from Hardy–Weinberg. Neighbour-joining dendrogram divided 140 walnut seedlings into five main groups. The study of population structure, with Structure 2.3.1 software, identified two possible groups ($k=2$). The results of both were largely consistent. The data based on the individual membership share matrix and the F_{st} rate showed that there was no significant difference between two possible groups.

Keywords: Cluster analyses, Hardy–Weinberg equilibrium, Observed heterozygosity.

* Corresponding author

Tel: +989144474598