

Research Article**Evaluation of Genetic Diversity and Grouping of Rapeseed Cultivars using Molecular Markers****Maryam Abdoli Nasab****Department of Biotechnology, Institute of Science, High Technology and Environmental Science, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran***Key Words**Cluster analysis
Genetic diversity
Principle coordinates analysis
Rapid primer
Rapeseed**Abstract**

Introduction: Rapeseed (*Brassica napus*) is cultivated as a valuable oilseed plant around the world. Knowledge of the distribution of genotypes plays an important role in determining their conservation method. Rapid Amplification Polymorphism DNA (RAPD) as an inexpensive and fast method and no need for basic genome information, is one of the most widely used molecular markers in determining phylogenetic relationships and differentiation of different animal and plant species.

Materials & Methods: Twenty-five important rapeseed genotypes were collected from different parts of the country and after soil preparation; they were planted in greenhouse conditions in a completely randomized design with three replications. In order to investigate the genetic diversity, after extracting DNA from leaves, polymerase chain reaction was performed using RAPD primers. The distinct and reproducible bands of each marker were scored as either (present) or (absent). The number and percentage of polymorphic loci, Nei's genetic similarity coefficient among various material, Nei's genetic diversity index, effective number of allele and Shannon information index was then analyzed by POPGEN V1.31 software. The corresponding cluster analysis was performed using the unweight pair Group method with Arithmetic Average (UPGMA) by NTSYS V2.02 software.

Results: Eighty-three polymorphic bands were amplified, the highest and lowest number of polymorphic bands were observed in primer number 6 and primers number 5 and 8, respectively. The polymorphic information content (PIC) was varied from 0.21 to 0.51 and the Nei's genetic diversity was varied from 0.2 to 0.36. Cluster analysis using UPGMA method and Jacquard coefficient with cofenetic correlation of 0.67 divided the genotypes into three separate groups. Genotypes placed in groups 1 and 3 are spring and winter cultivars, respectively. The majority of the genotypes belongs to group2 (84%) originate from France, Germany, Australia, Iran and Serbia. The lowest genetic distance was observed between Alenso and Nataly genotypes. The principle coordinate analysis showed that the first and second components explained the 81.02% of the obtained diversity, which indicates the appropriate distribution of the studied primers on the genome. Cluster analysis using UPGMA method divided these genotypes into four separate groups. The correlation between the two traits, number of days to flowering and number of days until the emergence of the stem, was equal to 1, positive and significant at the 1% probability level.

Conclusion: Since the Zorica cultivar has high seed and oil yield, this genotype can be used in crossbreeding programs with Iranian cultivars.

Article info* Corresponding Author's email:
m.abdolinasab@gmail.com

Received: 2 October 2024

Reviewed: 3 November 2024

Revised: 6 January 2025

Accepted: 9 February 2025

مقاله علمی - پژوهشی

ارزیابی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام کلزا با نشانگرهای مولکولی و صفات رشدی

مریم عبدلی نسب*

گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: کلزا (*Brassica napus*) به عنوان یک گیاه دانه روغنی با ارزش در سراسر جهان کشت می‌شود آگاهی از پراکندگی ژنوتیپ‌ها در تعیین روش حفاظت آن‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند. نشانگر RAPD به عنوان یک روش ارزان و سریع و بدون نیاز به اطلاعات اولیه ژنوم، یکی از پرکاربردترین نشانگرهای مولکولی در تعیین روابط فیلوژنتیکی و تمایز گونه‌های مختلف جانوری و گیاهی می‌باشد.

تنوع زیستی
تجزیه خوشه‌ای
کلزا
نشانگر
همبستگی

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۵ ژنوتیپ مهم کلزا مورد کشت در مناطق مختلف کشور پس از آماده‌سازی خاک، در شرایط گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و پس از استخراج DNA از برگ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با آغازگرهای RAPD انجام گردید. تعداد و درصد جایگاه‌های چندشکلی، ضریب تشابه ژنتیکی Nei، شاخص تنوع ژنتیکی، تعداد آلل موثر و شاخص اطلاعات شانون توسط نرم‌افزار POPGEN V1.31 و تجزیه و تحلیل خوشه‌ای توسط نرم‌افزار NTSYS V2.02 مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس تعداد ۱۶ شاخص رشدی اندازه‌گیری شده و مقایسه میانگین داده‌ها، همبستگی بین صفات، تجزیه خوشه‌ای و محاسبه ضریب کوفنتیک با نرم‌افزارهای SAS V.9.4، SPSS V.22 و NTYSIS صورت گرفت.

نتایج: تعداد ۸۳ باند چندشکل تکثیر شد، بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد باند چند شکل به ترتیب در آغازگر شماره ۶ و آغازگرهای شماره ۵ و ۸ مشاهده گردیدند. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) از ۰/۲۱ تا ۰/۵ و میزان تنوع ژنتیکی نی از ۰/۲ تا ۰/۳۶ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب جاکارد با همبستگی کوفنتیک ۰/۶۷ ژنوتیپ‌ها را در سه گروه مجزا قرارداد. ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه یک و سه به ترتیب ارقام بهاره و زمستانه می‌باشند. اکثریت ارقام قرار گرفته در گروه دوم (۸۴ درصد) با منشا فرانسه، آلمان، استرالیا، ایران و صربستان می‌باشند. کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های آلسو و ناتالی مشاهده گردید. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که مؤلفه اول و دوم ۸۱/۰۲ درصد از تنوع به دست آمده را توجیه می‌کنند، که نشان‌دهنده توزیع مناسب آغازگرهای مورد بررسی بر روی ژنوم می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA، این ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه مجزا تقسیم نمود. همبستگی بین دو صفت تعداد روز تا گل‌دهی و تعداد روز تا ساقه‌دهی برابر ۱، مثبت و در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود.

بحث و نتیجه‌گیری: از آن‌جا که رقم زوریکا عملکرد دانه و روغن بالا دارد می‌توان از این ژنوتیپ در برنامه‌های تلاقی با ارقام ایرانی استفاده کرد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
m.abdolinassab@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۱ مهر ۱۴۰۳
تاریخ داوری: ۱۳ آبان ۱۴۰۳
تاریخ اصلاح: ۱۷ دی ۱۴۰۳
تاریخ پذیرش: ۲۱ بهمن ۱۴۰۳

مقدمه

نشانگرهای SRAP، ژنوتیپ‌ها به چهار گروه تقسیم و چندشکلی ۲۴ درصد گزارش شد (۱۲). در ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های زمستانه کلزا با استفاده از نشانگرهای AFLP (Amplified fragment length polymorphism) و SSR (Simple Sequence Repeats)، متوسط میانگین گروه‌های چندشکل به ترتیب ۱۰۰، ۵۳/۹ و ۹۰/۶ درصد برآورد شد که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد (۱۳). Mirzaei Delbari و همکاران، در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی ارقام کلزا با استفاده از آغازگر ISSR، متوسط تعداد باند چندشکل به ازای هر آغازگر را ۸/۷۷ و بیش‌ترین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC: Polymorphic information content) را ۰/۷۸ گزارش نمودند. با وجود گستردگی نشانگرهای مختلف مولکولی و ابداع تکنیک‌ها و روش‌های جدید، هنوز نشانگر RAPD کارایی خود را جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی حفظ نموده است (۱۴). در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی ارقام بهار و زمستانه کلزای مورد کشت در کشور بررسی شده است. با اطلاع از وضعیت پراکندگی ژنتیکی گونه‌ها می‌توان با برنامه‌ریزی آتی در برنامه‌های تلاقی جهت اصلاح گونه‌ها گام برداشت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۵ ژنوتیپ کلزا (جدول ۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته واقع در کرمان کشت شد. نمونه برگی در مرحله رشد شش برگی از گیاهان برداشت و استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) (۱۵) با اندکی تغییرات انجام گرفت. کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA ژنومی استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگاروز تعیین گردید. واکنش زنجیره‌ای پلی مرز با استفاده از آغازگرهای RAPD (جدول ۲) در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۵۰ میلی‌مولار MgCl₂، ۱۰ میکرومولار آغازگر و یک واحد آنزیم Taq پلیمرز انجام گردید. چرخه حرارتی شامل ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ °C سپس ۴۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه واسرشته‌سازی در ۹۴ °C، ۱ دقیقه اتصال آغازگر در دمای مناسب و ۲ دقیقه مرحله بسط در دمای ۷۲ °C صورت گرفت و آخرین چرخه هم به صورت ۵ دقیقه بسط انتهایی در دمای ۷۲ °C انجام گرفت. الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام و عکس‌برداری باندها با دستگاه ژل داگ (Bio-Rad) صورت گرفت. الگوی باندها بر اساس وجود (یک) و یا فقدان (صفر) باند صورت گرفت. فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف با روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای و معیارهای مختلف شباهت ارزیابی و در نهایت گروه‌بندی ارقام به روش متوسط

کلزا (*Brassica napus* L.) از تیره چلیپائیان و خانواده شب بو، یک آمفی‌دیپلوئید طبیعی حاصل از دورگیری *Brassica oleracea* و *Brassica rapa* می‌باشد (۱). کلزا دومین گیاه روغنی مهم اقتصادی جهان بوده (۲) و دارای ۴۰ تا ۴۵ درصد روغن و ۲۵ تا ۲۶ درصد پروتئین می‌باشد. روغن کلزا حاوی تقریباً ۹۲/۵-۹۰ درصد اسید چرب اشباع نشده و ۱۰-۷/۵ درصد اسیدچرب اشباع شده می‌باشد (۳). به دلیل پایین بودن میزان کلسترول و ارزش تغذیه‌ای بالای روغن و تحمل بالای گیاه نسبت به تنش‌های محیطی به خصوص دما به دلیل نقطه ذوب پایین اسیدهای چرب غیراشباع از جمله امگا ۳ (۴) کشت و به‌نژادی این گیاه مورد توجه بوده است. بر اساس آمار سازمان خواربار کشاورزی (Food and Agriculture Organization) با سطح زیر کشت ۳۴/۰۳ میلیون هکتار و با متوسط عملکرد ۷۰/۵ میلیون تن تولید به ترتیب اولین کشورهای بزرگ تولیدکننده این محصول چین، هند، فرانسه، اوکراین و آلمان می‌باشند. متوسط تولید کلزا در ایران در سال ۲۰۱۹ میزان ۲۹۰ هزار تن و سطح زیر کشت ۱۴۰ هزار هکتار گزارش شده است (۵). از مهم‌ترین مراحل به‌نژادی گیاهی، تجزیه و تحلیل دقیق تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما می‌باشد که ضمن طبقه‌بندی و توصیف نمونه‌ها، زیرمجموعه و نمونه‌هایی که امکان استفاده موثر از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی وجود دارد را معرفی می‌کند (۶). به منظور شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌ها، آگاهی از ساختار ژنتیکی ضروری است. پیشرفت‌های جدید در علم ژنتیک مولکولی، زمینه لازم جهت رده‌بندی گونه‌ها، بررسی روابط فیلوژنی و تکاملی گونه‌ها فراهم کرده است (۷). از جمله ابزارهای مولکولی جهت ارزیابی میزان و توزیع اختلافات ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها، نشانگرهای DNA مبتنی بر چندشکلی طبیعی در ژنوم می‌باشد (۸). چندشکلی ناشی از تکثیر تصادفی DNA (RAPD: Rapid Amplification Polymorphism DNA)، روش ارزان و سریع و بدون نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ژنوم، از پرکاربردترین نشانگرهای مولکولی در تعیین روابط فیلوژنتیکی و تمایز گونه‌های مختلف جانوری و گیاهی و به خصوص کلزا می‌باشد (۹). مزایای عمده این روش استفاده از نشانگرهای کوتاه دارای توالی تصادفی برای تکثیر قسمت‌های مجزای ژنوم یک موجود، مقدار DNA اندک، انجام سریع و آسان آزمایش‌ها و عدم نیاز به اطلاعات پیشینه ژنتیکی اشاره کرد (۱۰، ۱۱). Mehrabi و Safari، در بررسی تنوع ژنتیکی برخی ارقام کلزا با نشانگر RAPD، ژنوتیپ‌ها به هفت دسته اصلی تقسیم نمودند. درصد پلی مورفیسم ژنوتیپ‌ها برای همه نشانگرها صد درصد گزارش شد. در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ارقام کلزا مورد کشت در چین با استفاده از

گردید. در تعداد ده ژنوتیپ بهاره مورد مطالعه صفات رشدی تعداد روز تا جوانه‌زنی، اندازه هیپوکوتیل، طول و عرض برگ، اندازه و تعداد میانگره، تعداد روز تا گل‌دهی و خورجین‌دهی، طول خورجین، تعداد شاخه فرعی، تعداد روز تا برداشت، تعداد دانه در خورجین، اندازه بذر، وزن هزار دانه، تعداد خورجین در بوته، تعداد دانه در بوته، درصد روغن بذر و مقدار پروتئین بذر اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS V9.3 انجام گرفت.

فاصله بین گروه‌ها (UPGMA: Unweight Pair Group Method with Arithmetic Mean) تجزیه خوشه‌ای و معیار فاصله جاکارد به کمک نرم‌افزار NTSYS صورت گرفت. تعداد آل موثر، شاخص شانون، تعیین تنوع ژنی نی (۱۶) با استفاده از نرم‌افزار POPGENE V1.31 و MAPMAKER V3.25 (۱۷، ۱۸) تعیین گردید. جهت تجزیه به مختصات اصلی (PCOA) از نرم‌افزار NTSYS v2.02 و برای انجام تجزیه تابع تشخیص از نرم‌افزار MAPMAKER V 3.25 استفاده

جدول ۱: مشخصات ژنوتیپ‌های کلزای مورد مطالعه

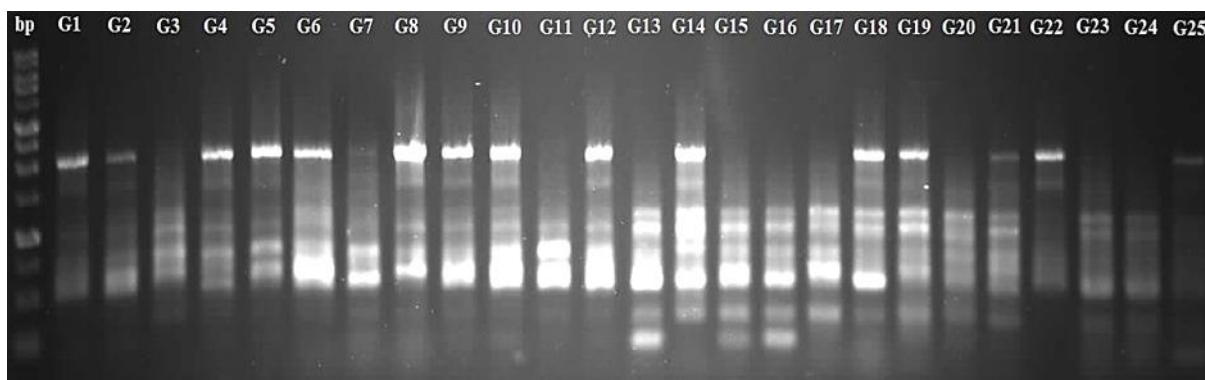
Table 1: Characteristics of the studied rapeseed genotypes

Number	Genotype name	Genotype type	Growth type	Genotype origin	Genotype code
1	Julius	Hybrid	Spring	Germany	G1
2	Hyola 50	Hybrid	Spring	Australia	G2
3	Alonso	Hybrid	Winter	France	G3
4	Delgan	Free pollinator	Spring	Iran	G4
5	DK 7170	Hybrid	Spring	Australia	G5
6	Rytmo	Hybrid	Winter	France	G6
7	Agamax	Hybrid	Spring	Germany	G7
8	Danube	Hybrid	Winter	France	G8
9	Hydromel	Hybrid	Winter	France	G9
10	Jerry	Hybrid	Spring	Germany	G10
11	Garou	Hybrid	Winter	Germany	G11
12	Hyola 4815	Hybrid	Spring	Australia	G12
13	Zlatna	Free pollinator	Winter	Serbia	G13
14	Elvis	Hybrid	Winter	France	G14
15	Rohan	Hybrid	Winter	Germany	G15
16	Trapper	Hybrid	Spring	Germany	G16
17	Zarfam	Free pollinator	Winter	Iran	G17
18	Artist	Hybrid	Winter	France	G18
19	Nataly	Hybrid	Winter	France	G19
20	Ahmadi	Free pollinator	Winter	Iran	G20
21	Hyola 61	Hybrid	Spring	Australia	G21
22	Neptune	Hybrid	Winter	France	G22
23	Okapi	Free pollinator	Winter	France	G23
24	Zorika	Free pollinator	Winter	Serbia	G24
25	DK 7130	Hybrid	Spring	Australia	G25

باند چندشکل را دربر داشتند. بیش‌ترین درصد پلی مورفیسیم (۱۰۰ درصد) در آغازگرهای شماره ۲ و ۹ و کم‌ترین مقدار آن (۶۳/۴ درصد) در آغازگر شماره ۱۰ مشاهده گردید. محتوای اطلاعات چندشکل، به تفکیک برای هر یک از آغازگرهای مورد مطالعه محاسبه و نتایج مربوطه در جدول ۲ ارائه شده است. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) در این تحقیق بین ۰/۲۱ تا ۰/۵ و میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/۴۴ بود (جدول ۲). بالاترین میزان PIC در آغازگر شماره ۶ و سپس در آغازگرهای شماره ۳، ۴ و ۷ تعیین شد که نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق می‌باشد.

نتایج

همان‌گونه در شکل ۱ مشاهده می‌شود، نشانگرهای مذکور توانسته‌اند ضمن ایجاد چندشکلی قابل مشاهده، الگوی باندهای واضح و با کیفیتی تولید کنند. با استفاده از ده آغازگر RAPD در مجموع ۱۲۷ باند در محدوده ۱۵۰ تا ۳۵۰۰ جفت باز با میانگین تعداد ۱۱ باند برای هر آغازگر تکثیر شد که از بین آن‌ها ۸۳ باند با میانگین ۹ باند برای هر آغازگر چندشکل بودند (جدول ۲). از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگر شماره ۶ با تعداد ۱۴ باند چندشکل بیش‌ترین تعداد باند چندشکل و آغازگرهای شماره ۵، ۸ و ۱۰ با تعداد ۷ باند کم‌ترین تعداد



شکل ۱: الگوی باندهای RAPD حاصل از تکثیر ژنوتیپ‌های مختلف کلزا با آغازگر شماره ۶ بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد؛ bp: نشانگر وزنی
 Figure 1: RAPD band pattern resulting from amplification of different canola genotypes with primer number 6 on 1.5% agarose gel; bp: 1kb weight marker (Fermentase); G1-G25: studied genotypes

جدول ۲: نام، توالی و شاخص‌های تنوع آغازگرهای RAPD در نمونه‌های کلزا مورد مطالعه

Table 2: Name, sequence and diversity indices of RAPD primers in the studied rapeseed samples

Initiator name	Primer sequence	Junction temperature Initiator	Number of polymorph bands	Total number of bands	Polymorphic band percentage	The number of effective alleles	Nei index	Shannon index	Polymorphic information content
1	CAGTCATGTT	40	9	11	81.81	1.65	0.36	0.51	0.49
2	CGTTTAACTA	42	10	10	100	1.5	0.34	0.48	0.34
3	ATATATCAGT	44	9	12	75	1.52	0.29	0.43	0.5
4	GTACTGACTA	38	8	11	72.72	1.58	0.31	0.44	0.5
5	GTACTGACTT	40	7	9	77.77	1.56	0.32	0.46	0.49
6	CTAAATTGAT	44	14	17	82.35	1.53	0.31	0.46	0.41
7	AAACTTTGAT	44	9	11	81.81	1.5	0.29	0.44	0.5
8	GGACTCAATA	36	7	9	77.77	1.43	0.27	0.41	0.42
9	ATATATTACG	44	10	10	100	1.27	0.2	0.33	0.21
10	TGCCGAGCTG	37	7	11	63.4	1.35	0.28	0.23	0.41
Mean			11	9	83.25	1.51	0.3	0.44	0.44

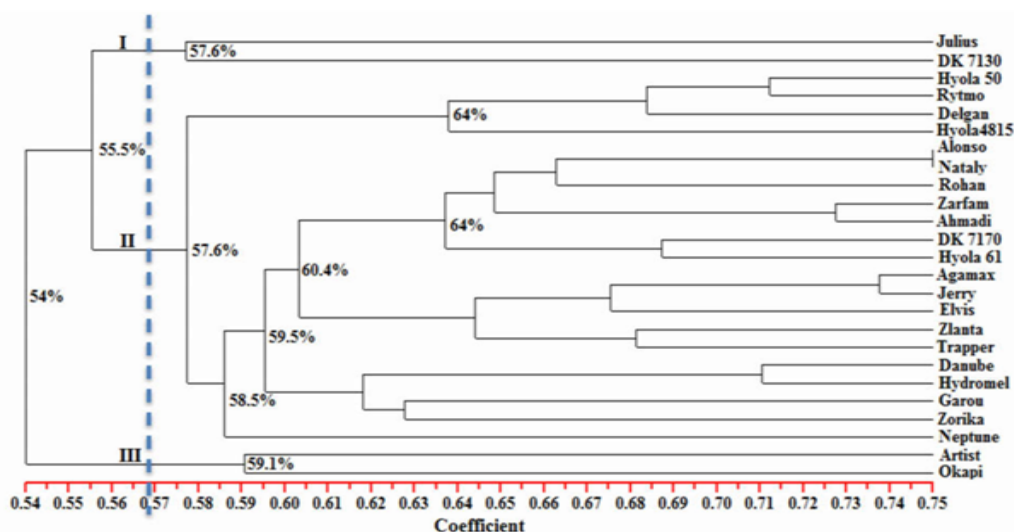
شاخص شانون می‌باشد. تجزیه خوشه‌ای به روش متوسط فاصله بین کلاستر (UPGMA) نشان داد که گروه‌بندی بر اساس ضریب تطابق ساده بهترین روش گروه‌بندی از بین روش‌های مورد بررسی است. از آنجایی که روش UPGMA با معیار فاصله جاکارد ضریب همبستگی کوفنتیگ ۰/۶۷ بهترین نتیجه را در گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه ارائه داد، لذا تنها نتایج این روش گزارش گردید. تعیین تعداد گروه‌ها بر اساس روش بیش‌ترین گسیختگی بر مبنای تغییر ناگهانی در اختلاف دوفاصله ادغام متوالی انجام گردید (۱۷). بدین صورت که تفاوت ($\Delta\alpha$) مقدار ادغام گروه‌ها در تجزیه کلاستر (α_{i+1}) از مقدار قبلی خود (α_i) محاسبه (رابطه ۱) و در هر مرحله از تجزیه که این مقدار تفاوت بیش‌تری نسبت به سایر مراحل داشت به عنوان نقطه برش دندروگرام انتخاب شد:

$$\Delta\alpha = \alpha_{i+1} - \alpha_i \quad (\text{رابطه ۱})$$

برای $i=1, 2, \dots, n-1$ برابر با i امین فاصله ادغام در دندروگرام حاصل از تجزیه و n تعداد ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

تعداد آلل‌های موثر در بین نشانگرهای مطالعه شده متغیر و در محدوده ۱/۲۷ تا ۱/۶۸ با میانگین ۱/۵۱ در جمعیت مشاهده گردید (جدول ۲). بیش‌ترین تعداد آلل موثر به ترتیب مربوط به آغازگرهای شماره ۱، ۴ و ۵ در بین کل ارقام بود. از آنجایی که یکی از معیارهای مهم در انتخاب آغازگرهای مناسب و سودمند، تعداد آلل‌های موثر است (۱۸)، می‌توان از این آغازگرها برای مطالعات بعدی به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ارقام کلزا استفاده کرد. یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنی در بین ارقام و جمعیت‌ها، شاخص تنوع ژنی می‌باشد. برآورد شاخص نی نشان داد که میزان تنوع ژنی از ۰/۲۰ تا ۰/۳۶ متغیر بود (جدول ۲) و آغازگر شماره ۱ بیش‌ترین تنوع ژنی را نشان دادند. ضریب شانون بیانگر میزان چندشکلی در بین ژنوتیپ‌ها است. در این تحقیق میانگین ضریب شانون ۰/۴۴ برآورد گردید که نشان دهنده تنوع متوسط در ژنوتیپ‌های مورد بررسی است. آغازگرهای شماره ۱ و ۲ دارای بیش‌ترین شاخص شانون بودند (جدول ۲). این نتیجه مبین این است که آغازگرهای مورد اشاره می‌توانند تنوع ژنتیکی درون جمعیتی را بهتر توجیه کنند و آغازگر شماره ۱۰ دارای کم‌ترین

افراد، احتمال انتساب صحیح و از تقسیم فراوانی‌های انتساب غیر صحیح به کل افراد، احتمال انتساب غیر صحیح محاسبه می‌گردد (۲۰). با بررسی‌های انجام شده تعداد سه گروه به‌عنوان بهترین تعداد گروه برای این روش انتخاب شد. گروه اول شامل ارقام جولوس و DK7130، گروه دوم شامل DK7170، ریتمو، دلگان، آلسو، دانوب، آگامکس، جری، الویس، زرفام، هایولا ۶۱، تراپر، گارو، احمدی، روهان، ناتالی، زلانتا، نپتون، زوریکا، هایولا ۴۸۱۴، هایولا ۵۰ و هیدرومل و گروه سوم شامل ارقام اوکاپی و آرتیست می‌باشد (شکل ۲).



شکل ۲: دندروگرام مربوط به طبقه‌بندی ۲۵ ژنوتیپ کلزای مورد مطالعه بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگرهای RAPD
Figure 2: Dendrogram related to the classification of 25 studied rapeseed genotypes based on data obtained from RAPD markers

آن، آگاهی از پراکندگی ژنوتیپ‌های گیاهی در تعیین روش نگاه‌داری و حفاظت آن‌ها نقش مهمی ایفا می‌کند (۲۱). در بررسی حاضر مشخص گردید ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه I (ارقام جولوس و DK 7130) و III (ارقام آرتیست و اوکاپی فرانسه) به ترتیب ارقام بهاره و زمستانه می‌باشند. هم‌چنین اکثریت ارقام قرار گرفته در گروه دوم (۸۴ درصد) با منشأ فرانسه، آلمان، استرالیا، ایران و صربستان می‌باشند. بیش‌ترین شباهت ژنتیکی بین ارقام زمستانی آلسو و ناتالی فرانسه (۰/۷۵)، ارقام بهاره آگامکس و جری آلمان (۰/۷۴) و ارقام زمستانه زرفام و احمدی ایران (۰/۷۳) مشاهده گردید. نتایج گروه‌بندی نشان داد که فاصله ژنتیکی ۲۵ ژنوتیپ کلزای مورد مطالعه از ۰/۲۵ تا ۰/۵۴ متغیر است. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۵۴) بین ارقام زمستانه هیدرومل و آرتیست با منشأ فرانسه، ارقام نپتون (فرانسه) و گارو (آلمان)، ارقام بهاره هایولا ۵۰، هایولا ۴۸۱۵ و ارقام زمستانه آلسو و آرتیست (فرانسه)، ارقام زمستانه آلسو (فرانسه) و جولوس (آلمان) و کم‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۲۵) بین ارقام زمستانه آلسو و ناتالی (فرانسه) مشاهده گردید. Mirzaei Delbari و همکاران، در تجزیه و تحلیل خوشه‌ای ارقام

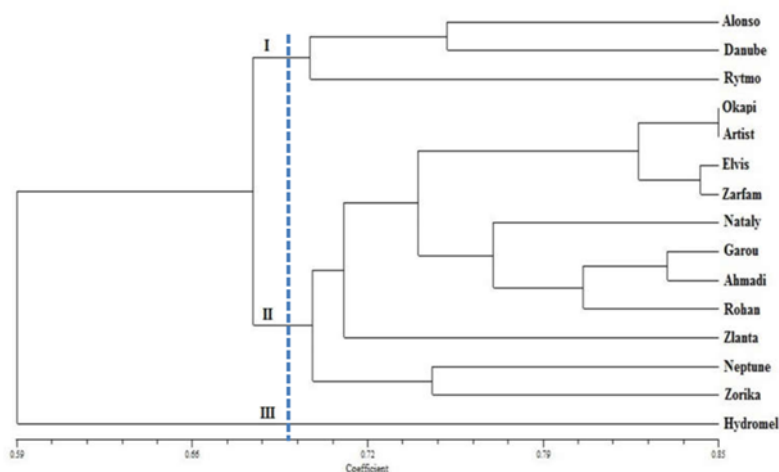
در تشخیص تعداد گروه‌ها به کمک تابع تشخیص، با کنارگذاشتن یک عضو در هر بار، تجزیه براساس مشاهدات سایر افراد گروه‌ها انجام و سپس تفاوت میانگین مشاهدات فرد کنارگذاشته شده بر اساس تابع تشخیص حاصل از میانگین گروه‌ها به دست می‌آید و فرد به گروهی که به میانگین آن نزدیک‌تر است تعلق می‌گیرد. اگر فرد به گروه خود تعلق گیرد به فراوانی‌های انتساب صحیح یک واحد اضافه و در غیر این صورت به فراوانی‌های انتساب غیر صحیح یک واحد اضافه می‌گردد. از تقسیم فراوانی‌های انتساب صحیح به کل

کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین ارقام ناتالی و آلسو مشاهده گردید. هر دو این ارقام زمستانه و با منشأ فرانسه می‌باشند. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که مؤلفه اول و دوم ۸۳/۶۶ درصد از تنوع به دست آمده را توجیه می‌کنند که مبین توزیع مناسب نشانگرها در کل ژنوم می‌باشد. همان‌گونه که در شکل ۵ مشخص شده است، ژنوتیپ‌هایی که بر اساس تجزیه به مختصات اصلی به هم شباهت زیادی دارند در فاصله کم‌تری و نزدیک به هم قرار گرفته‌اند و ارقام کلزا با درصد شباهت بیش‌تر به چهار گروه تقسیم می‌شوند. گروه اول (I) شامل ارقام DK7170، روهان، زرفام، ناتالی، احمدی، هایولا ۶۱، اوکاپی و نپتون، گروه دوم (II) شامل ارقام جولوس، هایولا ۵۰، دلگان، ریتمو و آرتیست، گروه سوم (III) شامل ارقام آگامکس، هیدرومل، جری، هایولا ۴۸۱۵، تراپر و DK 7130 و گروه چهارم (IV) شامل ارقام گارو، الویس، آلسو، زوریکا، زلانتا و دانوب می‌باشند.

بحث

ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی از مهم‌ترین مولفه‌های برنامه‌های اصلاحی و به‌خصوص تلاقی محسوب می‌گردد. افزون بر

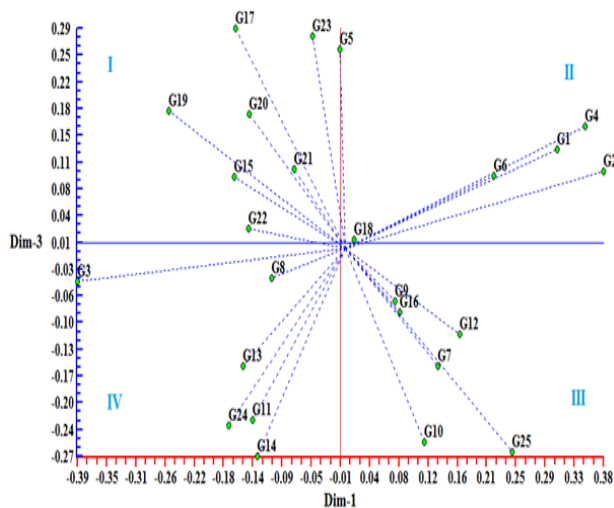
تحلیل خوشه‌ای ارقام کلزا توسط Darvish Nia و همکاران دو رقم الویس و زرفام در یک گروه قرار گرفتند (۲۲) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.



شکل ۴: دندروگرام مربوط به طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های زمستانه کلزای مورد مطالعه بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگرهای RAPD

Figure 4: Dendrogram related to the classification of winter rapeseed genotypes studied based on data obtained from RAPD markers

تنوع ژنی، شاخص شانون و میزان PIC برای آغازگرهای شماره ۱، ۲ و ۶ نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های کلزا در این تحقیق می‌باشد.

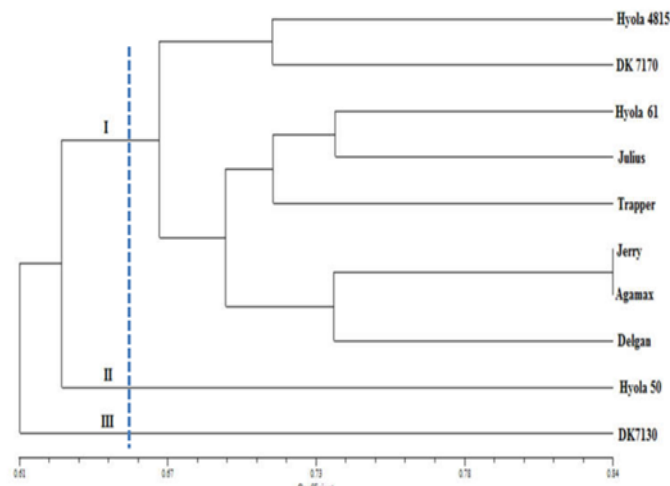


شکل ۵: نمودار تنوع ژنتیکی ۲۵ ژنوتیپ مختلف کلزای مورد مطالعه با استفاده از تجزیه به مختصات اصلی

Figure 5: Genetic diversity diagram of 25 different canola genotypes studied using principal coordinate analysis

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها مقایسه میانگین (جدول ۳ و ۴) نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه

کلزا با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR گزارش کردند که رقم اوکاپی بیش‌ترین فاصله ژنتیکی را در بین ارقام مورد مطالعه داراست (۱۴) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت دارد. (شکل ۲). تجزیه و



شکل ۳: دندروگرام مربوط به طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های بهاره کلزای مورد مطالعه بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگرهای RAPD

Figure 3: Dendrogram related to the classification of the studied spring rapeseed genotypes based on data obtained from RAPD markers

با عنایت به مقادیر تشابه بین ارقام می‌توان نتیجه گرفت تلاقی بین ژنوتیپ‌ها با کم‌ترین مقدار تشابه (بیش‌ترین فاصله ژنتیکی) بهترین نتیجه را در دستیابی به هیبرید یا دستیابی به حداکثر تفکیک در نسل‌های آتی خواهد داشت. ارقام ایرانی دلگان، زرفام و احمدی بیش‌ترین شباهت ژنتیکی را با ارقام کلزا با منشا استرالیا و فرانسه نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای، ده ژنوتیپ بهاره مورد مطالعه را در سه گروه مجزا قرار داد. بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ استرالیایی هایولا ۵۰ و DK 7130 و بیش‌ترین شباهت ژنتیکی بین دو ژنوتیپ آلمانی جری و آگامکس مشاهده شد (شکل ۳). هم‌چنین در تجزیه خوشه‌ای ۱۵ ژنوتیپ زمستانه کلزای مورد مطالعه تعداد سه گروه مجزا تشکیل گردید. بیش‌ترین شباهت ژنتیکی بین دو ژنوتیپ فرانسوی اوکاپی و آرتیست مشاهده گردید. ژنوتیپ هیدرومل در یک گروه مجزا قرار گرفت و بیش‌ترین فاصله ژنتیکی را با دیگر ارقام نشان داد (شکل ۴). نتایج تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که دو مؤلفه اول بیش از ۸۱ درصد از کل تغییرات را توجیه می‌کنند که نشان‌دهنده توزیع مناسب نشانگرهای RAPD در کل ژنوم است. ارقام مورد مطالعه کلزا با منشا صربستان (زوریکا و زلاتتا) کم‌ترین شباهت ژنتیکی را با ارقام ایرانی نشان دادند. در گزارش Eyni Nargeseh و همکاران رقم زوریکا بیش‌ترین عملکرد دانه و روغن را نسبت به سایر ارقام مورد بررسی نشان داد (۲۳). لذا می‌توان از این ژنوتیپ در برنامه‌های تلاقی با ارقام ایرانی استفاده کرد. بالا بودن معیارهای تعداد آلل موثر،

بیش‌ترین تعداد تعداد خورجین در بوته در رقم DK 7130 و کم‌ترین میزان در رقم دلکان مشاهده گردید. از نظر صفت تعداد روز تا برداشت بیش‌ترین میزان در رقم جری و کم‌ترین میزان در رقم هایولا ۴۸۱۵ مشاهده گردید. بیش‌ترین تعداد دانه در خورجین در رقم آگامکس و کم‌ترین میزان در رقم جری مشاهده گردید. از نظر صفت ارتفاع بوته رقم هایولا ۶۱ بیش‌ترین میزان و رقم دلکان کم‌ترین میزان را نشان داد. بیش‌ترین اندازه و وزن هزاردانه بذر در رقم هایولا ۴۸۱۵ و کم‌ترین میزان این صفات در رقم آگامکس مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان روغن بذر در رقم تراپر و کم‌ترین میزان در رقم هایولا ۶۱ مشاهده گردید. بیش‌ترین مقدار پروتئین بذر در رقم جری و کم‌ترین میزان این صفت در رقم DK7130 مشاهده گردید.

صفات مورد بررسی، به جزء صفت تعداد شاخه فرعی در بوته با سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد اختلاف معنی‌داری دارند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که صفت تعداد روز تا جوانه‌زنی رقم جولیبوس بیش‌ترین و رقم دلکان کم‌ترین میزان را نشان دادند. بیش‌ترین مقدار طول هیپوکوتیل در رقم دلکان و تراپر و کم‌ترین در رقم هایولا ۵۰ مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان طول برگ در رقم هایولا ۶۱ و کم‌ترین میزان در رقم DK 7170 مشاهده گردید. از نظر صفت عرض برگ رقم هایولا ۵۰ بیش‌ترین و DK7170 کم‌ترین میزان را نشان دادند. بیش‌ترین تعداد روز تا گل‌دهی و خورجین‌دهی در رقم جری و کم‌ترین میزان در رقم دلکان مشاهده گردید. بیش‌ترین تعداد میانگه در بوته در رقم آگامکس و کم‌ترین میزان در رقم هایولا ۶۱ مشاهده گردید.

جدول ۳: تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های بهاره مورد مطالعه

Table 3: Analysis of variance of the evaluated traits in the studied spring genotypes

Sources of change	degrees of freedom	MS X1	MS X2	MS X3	MS X4	MS X5	MS X6	MS X7	MS X8
Genotype	9	3.68**	0.17*	4.38**	2.2**	15138**	1516.92**	380.99**	374.03**
Error	20	0.4	0.065	1.168	0.463	112.16	163.43	76.3	98.23
coefficient of variation		19.48	6.52	10.39	9.59	15.46	10.18	14.21	15.69

ns, *, **, به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد
ns, *, **, non-significant, significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

ادامه جدول ۳: تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های بهاره مورد مطالعه

Continue of Table 3: Analysis of variance of the evaluated traits in the studied spring genotypes

Sources of change	degrees of freedom	MS X9	MS X10	MS X11	MS X12	MS X13	MS X14	MS X15	MS X16
Genotype	9	1.46 ^{ns}	1476.15**	41.07**	475.11**	0.001**	1.01**	0.001*	0.572**
Error	20	1.13	172.1	4.767	123.33	2.34×10 ⁻⁴	0.128	3.13×10 ⁻⁴	0.043
coefficient of variation		16.66	18.95	12.12	13.43	10.52	11.6	12.01	8.95

ns, *, **, به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد
ns, *, **, non-significant, significant at the 5% and 1% probability levels, respectively

Seed size	X13	Number of branches per plant	X9	Number of days to flowering	X5	Number of days to germination	X1
Thousand-seed weight (g)	X14	Number of days until withdrawal	X10	Number of days until harvest	X6	Hypocotyl length (cm)	X2
Oil content (mg/0.5 g seed)	X15	Number of seeds in the pod	X11	Number of internodes per plant	X7	Leaf length (cm)	X3
Seed protein (mg)	X16	Plant height (cm)	X12	Number of pods per plant	X8	Leaf width (cm)	X4

جدول ۴: مقایسه میانگین داده‌های حاصل از صفات رشدی ژنوتیپ‌های بهاره کلزای مورد مطالعه

Table 4: Comparison of average data obtained from growth traits of spring rapeseed genotypes studied

Genotype	Number of days to germination	Hypocotyl length (centimeters)	Leaf length (centimeters)	Leaf width (centimeters)	Number of days to flowering
Hyola 4815	7±0.57 ^a	3.76±0.25 ^{abc}	11.36±1.18 ^{bc}	8.8±0.26 ^{bc}	43±1.73 ^f
Hyola 61	7±0.57 ^a	3.86±0.15 ^{ab}	13.46±1.37 ^a	9.63±0.7 ^{ab}	106±1.08 ^e
Hyola 50	5±0.57 ^b	3.33±0.28 ^c	12.8±0.6 ^{ab}	10.16±0.66 ^a	134±1.97 ^c
DK 7170	5±0.57 ^b	3.76±0.3 ^{abc}	9.1±0.36 ^c	7.7±0.95 ^c	183±2 ^c
DK 7130	7±0.57 ^a	3.56±0.32 ^{abc}	11.7±1.57 ^{abc}	8.46±0.46 ^{bc}	180±3.71 ^c
Julius	7±1 ^a	3.4±0.36 ^{bc}	10.3±1.57 ^{cd}	8.7±1.3 ^{bc}	207±2.78 ^b
Jerry	5±0.57 ^b	3.8±0.17 ^{abc}	11.83±0.92 ^{abc}	8.53±0.11 ^{bc}	235±4.59 ^a
Agamax	6±0.00 ^{ab}	3.43±0.35 ^{bc}	11.93±1.1 ^{abc}	9.33±0.57 ^{ab}	47±2.64 ^f
Trapper	5±1 ^{bc}	4±0.00 ^a	11.66±0.57 ^{abc}	9.73±0.64 ^{ab}	152±1.04 ^d
Delgan	4±0.00 ^c	4±0.00 ^a	11.33±0.72 ^{bc}	7.56±0.2 ^c	42±2.51 ^f

ادامه جدول ۴: مقایسه میانگین داده‌های حاصل از صفات رشدی ژنوتیپ‌های بهاره کلزای مورد مطالعه

Continue of Table 4: Comparison of average data obtained from growth traits of spring rapeseed genotypes studied

Genotype	Number of days until harvest	Number of internodes per plant	Number of pods per plant	Number of days until withdrawal	Number of seeds in the pod
Hyola 4815	51±2.5 ^c	44±2.5 ^a	38±1.84 ^{bc}	87±3.78 ^f	15±1 ^{cd}
Hyola 61	121±4.4 ^d	18±3.05 ^b	34±1.52 ^c	165±2.5 ^e	17±2.51 ^{bc}
Hyola 50	148±3.65 ^c	21±3.6 ^b	43±1.02 ^{abc}	190±4.5 ^d	17±1.15 ^{bc}
DK 7170	194±2.88 ^b	21±2.88 ^b	43±2.08 ^{abc}	239±2.7 ^{bc}	18±1.15 ^{bc}
DK 7130	190±3.57 ^b	22±2.51 ^b	61±3.71 ^a	225±1.59 ^c	17±1.52 ^{bc}
Julius	223±5.63 ^a	19±3.6 ^b	55±2.37 ^{ab}	256±1.56 ^{ab}	11±1.16 ^{de}
Jerry	242±3.57 ^a	19±2.51 ^b	54±2.08 ^{ab}	272±1.77 ^a	11±1 ^c
Agamax	58±4.23 ^e	46±1 ^a	43±2.35 ^{abc}	97±1 ^f	23±2.51 ^a
Trapper	163±5.3 ^c	22±1 ^b	34±3.6 ^c	198±2.08 ^d	16±2.08 ^{ab}
Delgan	47±4.5 ^e	39±1.57 ^a	25±2.5 ^c	85±3.05 ^f	20±2.51 ^{ab}

ادامه جدول ۴: مقایسه میانگین داده‌های حاصل از صفات رشدی ژنوتیپ‌های بهاره کلزای مورد مطالعه

Continue of Table 4: Comparison of average data obtained from growth traits of spring rapeseed genotypes studied

Genotype	Plant height (cm)	Seed size (cm)	Thousand Grain Weight (g)	Oil content (mg/0.5 g seed)	Seed protein (mg)
Hyola 4815	99.33±3.05 ^{ab}	0.23±0.02 ^a	3.73±0.68 ^a	0.176±0.025 ^{bc}	2.06±0.14 ^{cde}
Hyola 61	111.33±1.15 ^a	0.2±0.01 ^{abc}	2.7±0.26 ^b	0.146±0.005 ^c	1.91±0.126 ^{cde}
Hyola 50	83.33±3.54 ^{bc}	0.21±0.3 ^{ab}	2.7±1 ^b	0.183±0.025 ^{abc}	2.3±0.279 ^c
DK 7170	99.33±3.05 ^{ab}	0.17±0.01 ^{cde}	2.23±0.3 ^{bc}	0.19±0.026 ^{ab}	2.66±0.27 ^b
DK 7130	99.33±2.5 ^{ab}	0.19±0.01 ^{bcde}	2.8±0.17 ^b	0.178±0.017 ^{bc}	1.81±0.129 ^c
Julius	74.33±2.5 ^c	0.16±0.01 ^{de}	1.8±0.2 ^c	0.153±0.005 ^{bc}	2.24±0.317 ^{cd}
Jerry	103±1.34 ^{ab}	0.19±0.01 ^{bcde}	2.8±0.2 ^b	0.193±0.005 ^{ab}	3.039±0.066 ^a
Agamax	95.66±3.85 ^{ab}	0.16±0.01 ^e	1.46±0.3 ^c	0.193±0.035 ^{ab}	2.24±0.107 ^{cd}
Trapper	99±3.56 ^{ab}	1.66±0.57 ^{abc}	3.56±0.56 ^{ab}	0.22±0.026 ^a	2.936±0.192 ^{ab}
Delgan	73±2.52 ^c	1.33±0.72 ^{bc}	2.52±0.6 ^b	0.163±0.005 ^{bc}	1.86±0.26 ^{de}

گروه بندی حاصل از داده‌های رشدی هم خوانی نشان داد. اختلاف مشاهده شده به دلیل اثر محیط و شرایط محیطی بر شرایط رشدی گیاه می‌باشد. در بررسی همبستگی بین صفات اندازه گیری شده صفات طول برگ و عرض برگ، تعداد روز تا گلدهی با تعداد روز تا خورجین دهی و تعداد خورجین در بوته، تعداد روز تا خورجین دهی با تعداد خورجین در بوته و تعداد روز تا برداشت، تعداد روز تا گلدهی و تعداد روز تا برداشت، تعداد روز تا خورجین دهی و تعداد روز تا برداشت، تعداد روز تا برداشت با تعداد میان گره در بوته و تعداد خورجین در بوته، وزن هزار دانه با اندازه بذر و تعداد روز تا خورجین دهی، پروتئین بذر با روغن بذر همبستگی مثبت و معنی دار نشان دادند. هم چنین همبستگی منفی و معنی دار بین صفات تعداد میان گره در بوته با تعداد روز تا گلدهی و تعداد روز تا خورجین دهی، تعداد دانه در خورجین با صفات تعداد روز تا گلدهی، تعداد روز تا خورجین دهی، تعداد روز تا برداشت و تعداد شاخه فرعی در بوته، صفت وزن هزار دانه با صفت تعداد روز تا برداشت مشاهده گردید (جدول ۵).

دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات رشدی پس از استاندارد کردن داده‌ها با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه فاصله اقلیدسی (Euclidean Distance) با ضریب کوفنتیک ۰/۷۳۹ ترسیم گردید (شکل ۴). ژنوتیپ‌های بهاره کلزای مورد مطالعه در چهار گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های Hyola 4815، Hyola 61، Hyola 50 و Agamax می‌باشد. در گروه دوم ژنوتیپ ایرانی Delgan و در گروه سوم ژنوتیپ‌های DK 7170، DK 7130، Jerry و Trapper قرار گرفتند. ژنوتیپ Julius در گروه چهارم قرار گرفت. اکثر ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه اول و دوم کمترین تعداد روز را از نظر صفات فنولوژیکی مانند تعداد روز تا گلدهی و تعداد روز تا خورجین دهی نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها دارا بودند. ژنوتیپ‌های مناطق جغرافیایی یا منشاء کشوری در یک گروه قرار گرفتند طوری دو ژنوتیپ استرالیایی DK 7170 و DK 7130 در گروه سوم بیشترین شباهت را نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها نشان دادند، هم چنین ژنوتیپ‌های آلمانی Jerry و Trapper در گروه سوم با هم شباهت زیادی را نشان دادند. ژنوتیپ‌های استرالیایی Hyola 4815 و Hyola 61 در گروه یک قرار گرفتند. گروه بندی حاصل از داده‌های مولکولی تا حدودی با

- linear detection function analysis. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 13(47): 529-542. (In Persian)
21. **Shokrpour, M., Abedi, Z., Kalantari, S. and Salami, S.A., 2016.** Study of genetic variation in some Iranian saffron accessions using molecular markers of RAPD and ISSR. *Saffron Agronomy & Technology*. 4(4): 257-265. doi: 20.1001.1.23831529.1395.4.4.1.9 (In Persian)
 22. **Darvish Nia, D.F., Fakheri, B.A., Nazarian, F.F. and Panjehkeh, N., 2015.** Genetic diversity of rapeseed (*Brassica napus L.*) using SSR and ISJ molecular markers. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 46(1): 1-14. doi: 10.22059/ijfcs.2015.54041 (In Persian)
 23. **Eyni Nargeseh, H.E., Aghaalikhani, M., Rad, A.H., Mokhtasi-Bidgoli, A. and Sanavy, S.A., 2019.** Response of new genotypes of rapeseed (*Brassica napus L.*) to late season with holding irrigation under semi-arid climate. *Journal of Plant Production*. 41(4): 55-68. <https://doi.org/10.22055/ppd.2018.22672.1491> (In Persian)
 24. **Ehteshami, S.M, Tehrani Aref, A. and Samadi, B., 2014.** Effect of planting date on some phenological and morphological characteristics, yield and yield components of five rapeseed (*Brassica napus L.*) cultivars. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*. 109: 111-120. (In Persian)
 25. **Mostafavi rad, M. and Hazavaei, M.A., 2010.** The effect of seed amount on important agronomic traits in three varieties of winter canola. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 41(4): 685-697. doi: 20.1001.1.20084811.1389.41.4.5.0 (In Persian)
 6. **Moradi, M. and Soltani Howyzeh, M., 2018.** Evaluation of genetic diversity and heritability of the grain yield and yield components in spring rapeseed cultivars. *Journal of Crop Breeding*. 10(26): 207-214. doi: 10.29252/jcb.10.26.207 (In Persian)
 7. **Imani Harsini, J., Rezaei, H.R., Naderi, S. and Varasteh Moradi, H., 2015.** Surveying the structure and genetic diversity of red foxes in the North East of Iran, based on cytochrome b gene. *Journal of Animal Environment*. 4: 25-34. (In Persian)
 8. **Belletti, P., Monteleone, I. and Ferrazzini, D., 2008.** A population genetic study in a scattered forest species, Wild service tree [*Sorbus torminalis (L.) crantz*], using RAPD markers. *European Journal of Forest Research*. 127(2): 103-114. doi: 10.1007/s10342-007-0187-1
 9. **Gerke, A., Schierholt, A. and Becker, H.C., 2012.** Extending the rapeseed gene pool with resynthesized *Brassica napus napus* II: Heterosis. *Theoretical and Applied Genetics*. 124(6):1017-1026. doi: 10.1007/s00122-011-1765-7
 10. **Ghahari, J. and Mahmoodi, Sh., 2021.** Assessment of genetic structure of common buzzard species in East Azerbaijan using PCR-RAPD Markers. *Journal of Animal Environment*. 13(1): 119-128. doi: 10.22034/aej.2020.132966 (In Persian)
 11. **Naghavi, M.R., Ghareyazi, B. and Hoseini Salkadeh, G., 2007.** Molecular markers. Tehran University, Iran. 350 p. (In Persian)
 12. **Safari, S. and Mehrabi, A.A., 2017.** Genetic Relationships of Rapeseed Cultivars Revealed by RAPD Markers. *Journal of Crop Breeding*. 8 (19) :177-170. doi: 20.1001.1.22286128.1395.8.19.14.9 (In Persian)
 13. **Havlickova, L., Jozova, E., Rychla, A., Klima, M., Kucera, V. and Curn, V., 2014.** Genetic diversity assessment in winter oilseed rape (*Brassica napus L.*) Collection using AFLP, ISSR and SSR markers. *Czech Journal Genet Plant Breed*. 50(3): 216-225. doi: 10.17221/220/2013-CJGPB
 14. **Mirzaei Delbari, A., Noryazdan, H., Vatandoost, J., Bayat Shahparast, F. and Armin, M., 2017.** Evaluation of genetic variation in some canola cultivars using ISSR markers. *Biotechnology in Agriculture*. 16(2): 73-80. (In Persian)
 15. **Murray M.G. and Thampson, W.F., 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acid Research*. 8(19): 4321-4325. doi: 10.1093/nar/8.19.4321
 16. **Nei, M., 1972.** Genetic distance between populations. *The American Naturalist*. 106(949): 283-292. doi: 10.1086/282771
 17. **Jobson, J.D., 1992.** Applied Multivariate Data Analysis. © Springer-Verlag New York, IncChapter 10; Cluster analysis and multidimensional scaling. 483-616.
 18. **Lincoln, S.E., Daly, M.J. and Lander, E.S., 1993.** Constructing genetic maps with Mapmaker/Exp version 3.0, a tutorial and reference manual. In: Whitehead Inst. Biomed Res. Tech. Rpt. (3rd ed). Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge.
 19. **Zhou, R., Wu, Z., Cao, X. and Jiang, F., 2015.** Genetic diversity of cultivated and wild tomatoes revealed by morphological traits and SSR markers. *Genetics and Molecular Research*. 14(4): 13868-13879. doi: 10.4238/2015.October.29.7
 20. **Rabiee, B. and Rahimi, M., 2009.** Evaluation of grouping methods of rapeseed genotypes using Fisher