

Investigating the genetic variation of selected genotypes of *Rosa damascena* grown in rain-fed conditions using molecular markers

Y. Mohammadi^{1*} and B. Abbaszadeh²

^{1*}Corresponding author, Assist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands (AREEO), Tehran, Iran.

E-mail: mohammadi.yousef63@gmail.com

² Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands (AREEO), Tehran, Iran.

Received: 25/10/2025

Revised: 20/11/2025

Accepted: 05/01/2026

Abstract

Background and Objectives: Genetic and environmental factors continuously shape the genetic structure of plant populations, generating valuable diversity that can be exploited in plant breeding programs. Accurate assessment of genetic diversity is essential for the efficient selection of parental genotypes and the development of improved varieties. Although morphological traits have traditionally been used to evaluate genetic variation, their application has become increasingly limited because they are strongly influenced by environmental conditions and developmental stages. Consequently, molecular markers are now widely employed alongside morphological traits to provide a more reliable assessment of genetic diversity. *Rosa damascena* Mill. is one of the most economically important aromatic and medicinal plants, extensively utilized in the food, pharmaceutical, perfumery, and cosmetic industries. Therefore, the development of cultivars adapted to diverse climatic conditions is of considerable importance. The present study was conducted to investigate the genetic diversity of selected *R. damascena* genotypes using Start Codon Targeted (SCoT) molecular markers and to compare the molecular classification with grouping based on agronomic performance under rain-fed conditions.

Materials and Methods: The genetic diversity of 12 *R. damascena* genotypes was evaluated using SCoT molecular markers. The plant materials consisted of seven elite genotypes previously selected based on plant height, flower yield, and flower essential oil content under rain-fed conditions, together with five additional genotypes collected from East and West Azerbaijan provinces of Iran. Young leaf samples were collected, and genomic DNA was extracted using a modified CTAB protocol. Polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed using 29 SCoT primers, and the amplified DNA fragments were separated by electrophoresis on 5% polyacrylamide gels. Banding patterns were scored as presence (1) or absence (0). Polymorphic information content (PIC), effective multiplex ratio (EMR), and marker index (MI) were calculated using Microsoft Excel. Genetic diversity parameters, including the number of effective alleles (N_e), Shannon's information index (I), expected heterozygosity (H_e), and unbiased expected heterozygosity (uH_e), together with principal coordinate analysis (PCoA), were estimated using GenAlEx software. Jaccard's similarity coefficients and cluster analysis were calculated using NTSYS software. In addition, hierarchical clustering based on agronomic traits



measured under rain-fed conditions was performed and compared with the clustering obtained from molecular marker data.

Results: Among the 29 SCoT primers evaluated, 13 generated clear and reproducible amplification products. A total of 88 polymorphic alleles were detected across the 12 *R. damascena* genotypes. Primer SCoT12 produced the highest number of polymorphic alleles (17), whereas primers SCoT46 and SCoT61 each generated only two polymorphic alleles. On average, 6.76 polymorphic alleles were detected per informative primer. Cluster analysis based on Jaccard's similarity coefficient and the UPGMA algorithm grouped the 12 genotypes into four major clusters at a similarity coefficient of 0.71. Cluster I included genotypes G40, G28, G8, G35, G29, and G6; Cluster II contained genotype G21; Cluster III comprised genotypes GA1 and GA2; and Cluster IV consisted of genotypes GA3, GA4, and GA5. Principal coordinate analysis supported the clustering pattern obtained from the similarity matrix. Based on agronomic traits, including plant height, flower yield, and flower essential oil content, the seven elite rain-fed genotypes were classified into three major groups. Cluster I contained genotypes G6, G8, and G35; Cluster II included genotypes G21, G28, and G29; whereas Cluster III consisted solely of genotype G40.

Conclusion: The results demonstrated substantial genetic divergence between the genotypes maintained at the Research Institute of Forests and Rangelands and those collected from East and West Azerbaijan provinces, suggesting that these materials do not share a recent common genetic origin. Comparison of the clustering patterns derived from SCoT molecular markers and agronomic traits revealed a moderate level of agreement between the two approaches. These findings indicate that combining molecular markers with phenotypic evaluation provides a more comprehensive assessment of genetic diversity and can facilitate the identification of suitable parental genotypes for future *Rosa damascena* breeding programs under rain-fed conditions.

Keywords: Damask rose, Genetic diversity, molecular markers, GenALEx, SCoT.

بررسی قرابت ژنتیکی ژنوتیپ‌های منتخب گل محمدی (*Rosa damascena*) در شرایط دیم با تکیه بر روش مولکولی

یوسف محمدی^{۱*} و بهلول عباس‌زاده^۲

^{۱*} - نویسنده مسئول، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
 پست الکترونیک: mohammadi.yousef63@gmail.com

^۲ - دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۵ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۴/۰۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۱۵

چکیده

مقدمه: عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی باعث تغییر در ساختار ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه گیاهی می‌شود و استفاده از تنوع بوجود آمده در راستای اهداف اصلاحی، بسیار حائز اهمیت است. استفاده از صفات مورفولوژیکی برای بررسی تنوع ژنتیکی، به دلیل معایب نشانگرهای مورفولوژیکی، کم‌رنگ شده است و به همین دلیل امروزه محققان در کنار نشانگرهای مورفولوژیکی از نشانگرهای مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه گیاهی استفاده می‌کنند. گل محمدی یکی از مهمترین گیاهان زینتی و دارویی می‌باشد که در صنایع غذایی، دارویی، عطرسازی و آرایشی استفاده می‌شود و تولید ارقام گل محمدی دیم سازگار به اقلیم‌های مختلف، اهمیت به‌سزایی در تولید این گیاه ارزشمند دارد. این طرح با هدف بررسی قرابت ژنتیکی ژنوتیپ‌های برتر گل محمدی کشت شده با استفاده از نشانگرهای مولکولی SCoT و براساس صفات عملکردی در شرایط دیم طراحی شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی (۷ ژنوتیپ گل محمدی که پیش‌تر براساس صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل در شرایط دیم انتخاب شده بودند و پنج ژنوتیپ که از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی جمع‌آوری شده بودند) با استفاده از نشانگرهای مولکولی SCoT مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌های برگ‌ی از ژنوتیپ‌های مادری جدا شدند و استخراج DNA با روش CTAB تغییر یافته انجام شد و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از ۲۹ نشانگر SCoT برای تولید باندهای DNA انجام گردید. باندهای تکثیر شده بر روی ژل پلی آکرلامید ۵ درصد تفکیک شدند. پس از رتبه‌بندی باندهای حاصل به صورت صفر و یک، شاخص‌های محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگرها، شاخص نشانگر (MI) و نسبت چندگانگی مؤثر (EMR) با نرم‌افزار Excel محاسبه گردید. در این مطالعه، شاخص‌های ژنتیکی شامل تعداد آلل مؤثر (Ne)، شاخص شانون (I)، شاخص هتروزیگوزیستی (He) و شاخص هتروزیگوسیتی تصحیح شده (uHe) و تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نرم‌افزار GenAlex انجام شد. محاسبه ضریب تشابه ژاکارد و خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های منتخب با نرم‌افزار NTSYS انجام گردید. علاوه بر این، خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های براساس صفات عملکردی در شرایط دیم نیز انجام شد و نتایج آن با خوشه‌بندی نشانگرهای مولکولی مقایسه شد.

نتایج: براساس نتایج به دست آمده از الکتروفورز عمودی محصولات PCR، از ۲۹ نشانگر SCoT، در ۱۳ نشانگر تکثیر قطعه انجام شد. در مجموع، برای ۱۳ نشانگر SCoT، ۸۸ آلل چند شکل در ۱۲ ژنوتیپ منتخب گل محمدی دیم شناسایی گردید، به‌طوری‌که آغازگر SCOT12 با ۱۷ آلل چند شکل، بیشترین و آغازگرهای SCOT46 و SCOT61 با دو آلل چند شکل کمترین تعداد آلل چند شکل را به خود اختصاص دادند. به‌طور میانگین ۶/۷۶ آلل چند شکل برای هر آغازگر SCoT شناسایی گردید. پس از تشکیل ماتریس تشابه بین ژنوتیپ‌های منتخب، تجزیه و تحلیل داده مولکولی با استفاده از نرم‌افزار GenALEX انجام شد. خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف براساس روش UPGMA، نشان داد که ۱۲ ژنوتیپ منتخب با در نظر گرفتن ضریب تشابه ۰/۷۱، در چهار کلاسه اصلی قرار گرفتند. به‌طوری‌که در کلاسه I، ژنوتیپ G40، G28، G8، G35، G29 و G6، در کلاسه II، ژنوتیپ G21، در کلاسه III دو ژنوتیپ GA1 و GA2 و نهایتاً در

کلاد IV سه ژنوتیپ GA3, GA4, GA5 قرار گرفته‌اند. در تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های کلکسیون گل محمدی دیم براساس صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل، سه خوشه اصلی تشکیل شد. در کلاد ۱، سه ژنوتیپ G35, G8, G6، در کلاد ۲ ژنوتیپ‌های G21, G28 و G29 و در کلاد ۳، ژنوتیپ G40 قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری: با عنایت به نتایج بدست‌آمده، تنوع ژنتیکی بالایی در بین ژنوتیپ‌های گل محمدی دیم کلکسیون مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و ژنوتیپ‌های آذربایجان وجود دارد که نشان‌دهنده این است که ژنوتیپ‌ها دارای منشأ یکسانی نمی‌باشند. با وجود این، در مقایسه تجزیه خوشه‌ای براساس نشانگرهای مولکولی و تجزیه خوشه‌ای صفات زراعی ۷ ژنوتیپ دیم نتایج نشان داد که الگوی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در این دو رویکرد تا حدی همخوانی داشتند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، گل محمدی دیم، نشانگرهای مولکولی، SCoT, GenALEx

مقدمه

گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) یکی از مهمترین گونه‌های معطر و اسانس‌دار بوده که در صنایع غذایی، دارویی، عطرسازی و آرایشی و بهداشتی کاربرد داشته و در ایران، ترکیه، بلغارستان، هندوستان، ایتالیا و اسپانیا کشت می‌شود ([Beheshti et al., 2022](#)). جام گل ارزشمندترین بخش قابل مصرف این گیاه می‌باشد که فراورده‌های آن به صورت‌های مختلف از قبیل گلاب، اسانس و گل خشک مورد استفاده قرار می‌گیرد و عصاره‌های اتانولی، آبی و کلروفرمی از گل‌ها، گلبرگ‌ها و ساقه‌های گل محمدی نیز کاربرد تحقیقاتی دارند ([Kurkcuglu and Baser, 2003](#)). عصاره گل محمدی حاوی گلیکوزیدها، ترپن‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین می‌باشد. تحقیقات دارویی متعددی روی گل محمدی انجام شده است و تأثیرات آن بر سیستم عصبی مرکزی مورد ارزیابی قرار گرفته است. ترکیبات فنلی گل محمدی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضدالتهابی، ضد-جهش‌زایی و ضدافسردگی هستند. در مورد منشأ گل محمدی در بین گیاه‌شناسان اختلاف نظر وجود دارد. اگرچه نام علمی گونه (*Rosa damascena*) و نام انگلیسی آن Damask rose اشاره به شهر دمشق در کشور سوریه دارد، اما بیشتر گیاه‌شناسان منشأ آن را سوریه نمی‌دانند. برخی از گیاه‌شناسان منشأ گل محمدی را جنوب اروپا و ایتالیا می‌دانند و عده‌ای از آنها در این مورد به‌طور مستقیم به ایران اشاره نموده‌اند ([Venkatesha et al., 2022](#)).

یکی از اهداف اساسی اصلاح‌نژاد گل محمدی، تولید و معرفی ارقام با عملکرد گل و اسانس بالا می‌باشد. عملکرد گل، میوه و یا دانه از مهمترین صفات گونه‌های دارویی و معطر، باغی و یا زراعی بشمار می‌آید. از سویی، ارزیابی این خصوصیت مستلزم صرف زمان و شرایط خاص می‌باشد. بنابراین، خصوصیتی که با آن همبستگی بالایی دارند و در گستره زمانی بیشتری قابل انجام است، به‌عنوان معیار گزینش برای بررسی تنوع ژنتیکی دارای اهمیت می‌باشند. اما با توجه به متنوع بودن شرایط اکولوژیکی مناطق مورد کشت گل محمدی در کشور و تأثیر عوامل محیطی بر عملکرد مسئله سازگاری و ثبات عملکرد یا پایداری عملکرد ژنوتیپ‌ها نیز به اندازه خود عملکرد ژنوتیپ‌ها اهمیت دارد؛ زیرا از دیدگاه اصلاح نباتات ژنوتیپ موفق، ژنوتیپی با عملکرد بالا است که برتری عملکرد آن در شرایط محیطی مختلف قابل اعتماد یعنی پایدار باشد.

طی دهه گذشته از نشانگرهای مولکولی با موفقیت در مطالعات تنوع ژنتیکی و شناسایی ارقام مختلف گل محمدی استفاده شده است. [Agaoglu و همکاران \(۲۰۰۰\)](#) و [Baydar و همکاران \(۲۰۰۴\)](#) با مطالعه بر روی ارقام موجود در ترکیه با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP, RAPD و SSR به این نتیجه رسیدند که بین ارقام مختلف تنوع ژنتیکی کافی وجود ندارد و این ارقام در واقع از یک یا چند ژنوتیپ اولیه مشترک حاصل شده‌اند. محققان با مطالعه بر روی ارقام گل محمدی، نشان دادند که تنوع ژنتیکی بین ارقام گل محمدی

گل محمدی، ثبت ارقام گل محمدی دیم برای کشت در این مناطق حائز اهمیت است. این پروژه با هدف بررسی قرابت ژنتیکی بین ۱۲ ژنوتیپ منتخب گل محمدی با استفاده از نشانگرهای SCoT و صفات عملکردی در شرایط دیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه گیاهی

در این تحقیق از ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی شامل هفت ژنوتیپ منتخب کشت شده در شرایط دیم با منشاء استان‌های ایلام، چهارمحال و بختیاری، کرمانشاه، هرمزگان، مرکزی و اصفهان از کلکسیون مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و پنج ژنوتیپ گل محمدی از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی استفاده شد (جدول ۱).

موجود در بلغارستان وجود ندارد و در این مطالعه از نشانگرهای SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی استفاده کرده بودند. محققان مزبور همچنین از تجزیه و تحلیل ارقام موجود در ایران، ترکیه و هند به این نتیجه رسیدند که این ارقام همان ارقام موجود در بلغارستان می‌باشند ([Rusanov et al., 2009](#)).

با توجه به اهمیت روزافزون گل محمدی به عنوان مهمترین گونه معطر و ارزش بالای اقتصادی فرآورده‌های مختلف آن از یکسو و ظرفیت‌های ارزشمند باغی و زراعی این گونه از جمله کم توقع بودن، توان رشد در طیفی از شرایط مختلف محیطی، سهولت کاشت و دائمی بودن، فاصله کوتاه زمانی تا رسیدن به تولید و داشتن تولید اقتصادی از سوی دیگر و قابلیت حفاظت آب و خاک، این گونه به تازگی در ردیف اولویت‌های تحقیقاتی کشاورزی و منابع طبیعی کشور قرار گرفته است. با توجه به وجود زمین‌های مستعد کشت دیم

جدول ۱- فهرست هفت ژنوتیپ منتخب گل محمدی دیم و پنج ژنوتیپ از منطقه آذربایجان و محل جمع‌آوری آن‌ها

Table 1. List of seven selected genotypes of *Rosa damascena* grown under rainfed conditions and five genotypes from Azerbaijan region and their collection areas

Genotype	Origin (provinces of Iran)
G6	Ilam
G8	Chaharmahal and Bakhtiari
G21	Kermanshah
G28	Markezi
G29	Hormozgan
G35	Isfahan
G40	Isfahan
GA1	East Azerbaijan
GA2	East Azerbaijan
GA3	West Azerbaijan
GA4	West Azerbaijan
GA5	East Azerbaijan

آغازگرهای جدول ۲. ([Luo et al., 2010](#); [Vivodik et al., 2019](#)) و با شرایط زیر انجام شد.

چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۴۰ چرخه با واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد با توجه به آغازگر به مدت یک دقیقه، بسط در

ارزیابی مولکولی با استفاده از نشانگرهای SCoT نمونه‌های برگ‌ی از گیاهان مادری ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی دیم جدا و استخراج DNA به روش CTAB انجام و کمیت و کیفیت DNA استخراجی با روش اسپکتروفتومتری انجام شد. پس از اطمینان از خلوص DNA استخراجی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر با استفاده از

دما ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. پس از انجام واکنش PCR، تفکیک قطعات تکثیری با استفاده از ژل پلی‌آکرلامید ۵ درصد انجام شد.

جدول ۲- مشخصات و توالی آغازگرهای SCoT مورد استفاده در ژنوتیپ‌های گل محمدی

Table 2. Name and sequence of SCoT markers used in *Rosa damascene* genotypes

Primer name	Primer sequence
SCoT-2	CAACAATGGCTACCACCC
SCoT-3	CAACAATGGCTACCACCG
SCoT-4	CAACAATGGCTACCACCT
SCoT 5	CAACAATGGCTACCACGA
SCoT 7	CAACAATGGCTACCACGG
SCoT-8	CAACAATGGCTACCACGT
SCoT 9	CAACAATGGCTACCAGCA
SCoT 10	CAACAATGGCTACCAGCC
SCoT-11	AAGCAATGGCTACCACCA
SCoT-12	ACGACATGGCGACCAACG
SCoT-14	ACGACATGGCGACCACCG
SCoT-15	ACGACATGGCGACCGCGA
SCoT-21	CACCATGGCTACCACCAT
SCoT 23	CACCATGGCTACCACCAG
SCoT 24	CCATGGCTACCACCGCAG
SCoT 26	ACCATGGCTACCACCGTC
SCoT 28	CAACAATGGCTACCACCA
SCoT 30	CCATGGCTACCACCGGCG
SCoT 32	CAACAATGGCTACCACGC
SCoT 35	CATGGCTACCACCGGCC
SCoT 41	CAATGGCTACCACCTGACA
SCoT 42	CAATGGCTACCATTAGCG
SCoT 44	CAATGGCTACCATTAGCC
SCoT 45	ACAATGGCTACCACCTGAC
SCoT 46	ACCATGGCTACCACCGC
SCoT 54	ACAATGGCTACCACCAGC
SCoT 60	ACAATGGCTACCACCACA
SCoT 61	CAACAATGGCTACCACCG
SCoT 62	ACCATGGCTACCACGGAG

تجزیه و تحلیل نشانگرهای ملکولی SCoT

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نشانگرها، شاخص نشانگر (MI) و نسبت چندگانگی مؤثر (EMR) با استفاده از نرم‌افزار Excel برای هر آغازگر محاسبه شد. در این مطالعه تعداد آلل (Na)، تعداد آلل مؤثر (Ne)، شاخص شانون (I)، شاخص هتروزیگوسیتی (He) و شاخص هتروزیگوسیتی تصحیح شده (uHe) با استفاده از نرم‌افزار GenAlex (Peakall and Smouse, 2012) در ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی محاسبه شدند. تجزیه به مختصات اصلی (PCOA) به وسیله نرم‌افزار GenAlex مورد بررسی قرار گرفت. از این تجزیه برای یافتن شاخص‌هایی استفاده می‌شود

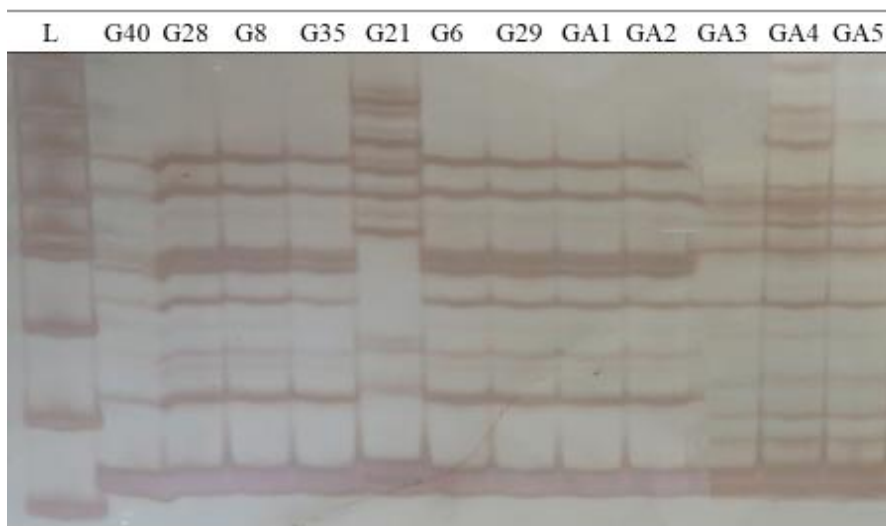
که تقریباً تمام اطلاعات موجود در داده‌های اصلی را دارا بوده و تعداد آن‌ها به مراتب کمتر از متغیرهای اصلی باشد. ضرایب تشابه ژنتیکی ژاکارد بین ژنوتیپ‌های مختلف و تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS (Rohlf, 2000) انجام شد.

علاوه بر این، تجزیه خوشه‌ای هفت ژنوتیپ گل محمدی دیم براساس صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل با استفاده از روش پیوند میانگین (Average Linkage) در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

نتایج

پس از اطمینان از کمیت DNA استخراجی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با ۲۹ نشانگر SCoT انجام گردید. با توجه

به غربال اولیه، ۱۳ آغازگر به دلیل داشتن باندهای شفاف برای بررسی تنوع ژنتیک ۱۲ ژنوتیپ استفاده شد. الکتروفورز عمودی با ژل پلی آکرلامید ۵ درصد انجام شد. نمونه‌ای از عکس باندهای تکثیر شده در شکل ۱ آورده شده است.



شکل ۱- آلل‌های حاصل از تکثیر DNA ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی با استفاده از آغازگر SCoT 44

Figure 1. Alleles resulting from DNA amplification of different *R.damascena* genotypes using SCoT44

توانایی در تعیین فاصله ژنتیکی پایه‌ها بود. همچنین بیشترین شاخص MI با مقدار ۶/۲۷ مربوط به SCoT ۱۲ بود.

محاسبه شاخص‌های ژنتیکی

با استفاده از نرم‌افزار GenAlex و آنالیز داده‌ها، تعداد آلل، تعداد آلل مؤثر، شاخص شانون، شاخص‌های هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی تصحیح شده در نشانگرهای تکثیر شده بررسی گردید (جدول ۴). نتایج نشان می‌دهد که بیشترین تعداد آلل با ۲، به آغازگرهای SCoT12، SCoT21 و SCoT35 تعلق دارد. بیشترین تعداد آلل مؤثر با ۱/۸۲، به SCoT12 و بیشترین شاخص شانون با مقدار ۰/۶۱۹، بیشترین هتروزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی تصحیح شده با مقادیر ۰/۴۲۸ و ۰/۴۴۶ به آغازگر SCoT2 تعلق دارد.

محاسبه چندشکلی در نشانگرهای SCoT

برای نشانگرها در مجموع ۱۰۰ آلل مشاهده شد که ۸۸ آلل یا به عبارت دیگر ۸۸ درصد آلل‌ها به عنوان آلل چندشکلی تشخیص داده شدند. تعداد آلل‌ها برای آغازگر در این مطالعه از ۲ تا ۱۷ متغیر بود که آغازگر SCoT46 با ۲ آلل کمترین و SCoT12 با ۱۷ آلل بیشترین آلل را در بین آلل‌های تولیدی توسط هریک از آغازگرها داشتند (جدول ۳).

در نشانگرهای غالب شاخص اطلاعات چندشکلی نشانگرها PIC از صفر تا ۰/۵ متغیر بوده و هرچه این عدد بزرگ‌تر باشد بیانگر فراوانی بیشتر چندشکلی برای آن جایگاه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و توانایی بالای آن در تعیین فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌هاست. در این مطالعه بالاترین میزان شاخص PIC با مقدار ۰/۴۸۶ مربوط به ۴۵- SCoT ۴۶ و پایین‌ترین میزان با مقدار ۰/۱۶۳ مربوط به SCoT ۴۱ بود. بدین ترتیب ۴۵- SCoT ۴۶ دارای بیشترین

جدول ۳- نام نشانگرها، دمای اتصال، تعداد کل باندها، تعداد باندهای چندشکل، محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها، نسبت چندگانگی مؤثر و

شاخص نشانگر در ژنوتیپ‌های گل محمدی با استفاده از آغازگرهای SCoT

Table 3: Name, annealing temperature (Ta), total number band (N), Number of polymorphic bands (PB), Polymorphic information content (PIC), Effective multiplex ratio (EMR) and Marker index (MI) in genotypes of *R.damascena* using SCoT markers

Primer name	Primer annealing Temperature (Ta)	Polymorphic Information Content Value (PIC)	Total Band (N)	Polymorphic Band (PB)	Effective Multiplex Ratio (EMR)	Marker Index (MI)
SCoT2	55	0.218	7	7	7.0	1.52
SCoT5	55	0.385	8	8	8.0	3.08
SCoT12	53	0.369	17	17	17.0	6.27
SCoT21	53	0.331	6	6	6.0	1.98
SCoT28	54	0.282	10	9	8.1	2.84
SCoT35	54	0.321	9	9	9.0	2.88
SCoT41	54	0.163	8	4	2.0	0.32
SCoT44	52	0.412	12	12	12.0	4.94
SCoT45	52	0.486	3	3	3.0	1.45
SCoT46	52	0.486	2	2	2.0	0.97
SCoT54	51	0.243	6	3	1.5	0.36
SCoT60	55	0.300	7	6	5.2	1.54
SCoT61	55	0.194	5	2	0.8	0.15

Total number of Bands (N) تعداد کل باندها

Polymorphic Bands (PB) تعداد باندهای چندشکل

Polymorphic information content (PIC) محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها

Effective multiplex ratio (EMR) نسبت چندگانگی مؤثر

Marker index (MI) شاخص نشانگر

جدول ۴- نام نشانگرها، تعداد آلل، تعداد آلل مؤثر، شاخص شانون، شاخص‌های هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی تصحیح شده در

ژنوتیپ‌های گل محمدی با استفاده از آغازگرهای SCoT

Table 4: Name, annealing temperature (Ta), total number band (N), Number of polymorphic bands (PB), Polymorphic information content (PIC), Effective multiplex ratio (EMR) and Marker index (MI) in genotypes of *R.damascena* using SCoT markers

Primer name	Alleles number (Na)	Effective number of alleles (Ne)	Shannon's information index (I)	Expected heterozygosity (He)	Unbiased expected heterozygosity (uHe)
SCoT2	2.00	1.75	0.61	0.42	0.44
SCoT5	1.60	1.53	0.44	0.30	0.31
SCoT12	2.00	1.82	0.61	0.43	0.45
SCoT21	2.00	1.53	0.47	0.31	0.32
SCoT28	1.90	1.55	0.49	0.32	0.34
SCoT35	2.00	1.65	0.55	0.37	0.38
SCoT41	1.50	1.33	0.28	0.19	0.20
SCoT44	1.50	1.54	0.44	0.30	0.32
SCoT45	1.00	1.42	0.32	0.22	0.23
SCoT46	0.57	1.24	0.18	0.13	0.13
SCoT54	1.50	1.37	0.30	0.21	0.22
SCoT60	1.71	1.42	0.39	0.26	0.27
SCoT61	1.40	1.22	0.21	0.14	0.15

Alleles number (Na) تعداد آلل

Effective number of alleles (Ne) تعداد آلل مؤثر

Shannon's information index (I) شاخص شانون

Expected heterozygosity (He) شاخص‌های هتروزیگوسیتی مورد انتظار

Unbiased expected heterozygosity (uHe) شاخص‌های هتروزیگوسیتی تصحیح شده

می‌شود بیشترین تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ G28 با G40، G35 با G29، G6 با G8 و کمترین تشابه ژنتیکی نیز بین GA5 با ژنوتیپ‌های G40 و G28 مشاهده شده است.

ضرایب تشابه بین ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی پس از امتیازدهی قطعات تکثیر شده، ماتریس ضرایب تشابه ژاکارد با نرم‌افزار NTSYS محاسبه گردید و نتایج در جدول ۵ نشان داده شده است. همانگونه که در شکل مشاهده

جدول ۵- ماتریس ضرایب تشابه ژاکارد بین ژنوتیپ‌های منتخب گل محمدی *

Table 5. Jaccard similarity coefficient matrix between selected genotypes of rainfed *R.damascena*

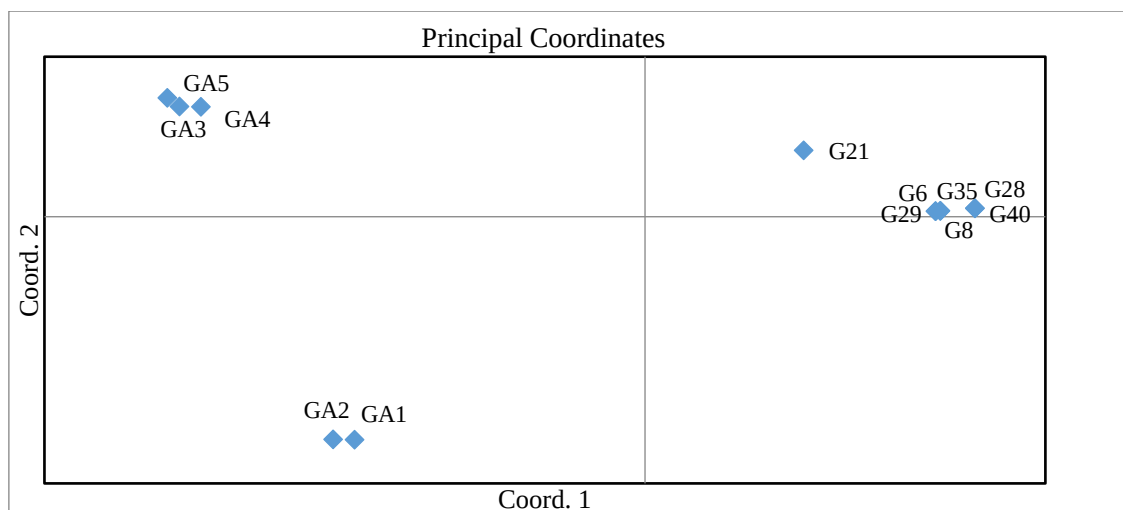
Genotypes*	G40	G28	G8	G35	G29	G6	G21	GA1	GA2	GA3	GA4	GA5
G40	1.00											
G28	1.00	1.00										
G8	0.89	0.89	1.00									
G35	0.90	0.90	0.99	1.00								
G29	0.90	0.90	0.99	1.00	1.00							
G6	0.89	0.89	1.00	0.99	0.99	1.00						
G21	0.61	0.61	0.69	0.70	0.70	0.69	1.00					
GA1	0.42	0.42	0.49	0.49	0.49	0.49	0.35	1.00				
GA2	0.41	0.41	0.48	0.48	0.48	0.48	0.34	0.97	1.00			
GA3	0.36	0.36	0.43	0.43	0.43	0.43	0.37	0.53	0.56	1.00		
GA4	0.37	0.37	0.44	0.44	0.44	0.44	0.38	0.55	0.53	0.97	1.00	
GA5	0.33	0.33	0.40	0.40	0.40	0.40	0.34	0.49	0.52	0.95	0.92	1.00

*The code and origin of the genotypes are given in Table 1.

*: کد و منشأ ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است.

GenAlex استفاده شد (شکل ۲). نتایج حاصل نشان می‌دهد که مؤلفه اول، دوم و سوم به ترتیب ۶۱، ۲۲ و ۱۰ درصد و در مجموع ۹۳ درصد از تغییرات را توجیه می‌کنند.

تجزیه به مختصات اصلی برای بررسی تنوع آلی در بین ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی از تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نرم‌افزار



شکل ۲- نمودار پراکنش ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی حاصل از تجزیه به مختصات هماهنگ اصلی

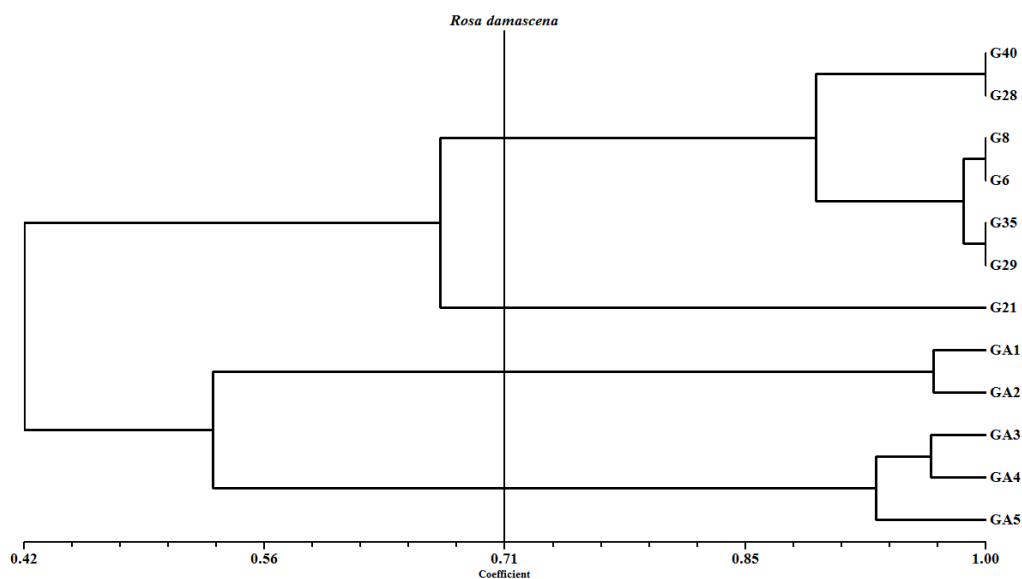
Figure 2. Scatter plot of different *R.damascena* genotypes resulting from Principal coordinate Analysis

(The code and origin of the genotypes are given in Table 1.)

(کد و منشأ ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است)

ژنوتیپ G40، G28، G8، G35، G29 و G6، در کلاد II، ژنوتیپ G21، در کلاد III دو ژنوتیپ GA1 و GA2 و نهایتاً در کلاد IV سه ژنوتیپ GA3، GA3، GA5 قرار گرفته‌اند. نتایج نشان داد که در ژنوتیپ‌های دیم، ژنوتیپ G21 با منشاء کرمانشاه، به خوبی از سایر ژنوتیپ‌های استان‌های مرکزی و جنوبی کشور تفکیک شد. همچنین در بین ژنوتیپ‌های آذربایجان نیز، بجز ژنوتیپ GA5، ژنوتیپ‌های استان‌های آذربایجان غربی و شرقی بخوبی از هم متمایز شدند.

تجزیه خوشه‌ای براساس نشانگرهای مولکولی برای بررسی میزان شباهت بین ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی و دسته‌بندی کردن آن‌ها با استفاده از الگوریتم UPGMA و داده‌های حاصل از ماتریس تشابه ژاکارد، دندروگرام ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی براساس ۱۰۰ آلل نمره‌دهی شده از ۱۳ آغازگر SCoT برای ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی با استفاده از نرم‌افزار NTSYS رسم شد (شکل ۳). با در نظر گرفتن ضریب ۰/۷۱، چهار کلاد اصلی تشکیل شده است. به‌طوری‌که در کلاد I،



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی به روش UPGMA با استفاده از ۱۳ آغازگر چندشکل SCoT براساس ضریب تشابه ژاکارد

Figure 3. Dendrogram of UPGMA cluster analysis of 12 *R.damascena* genotypes using 13 polymorphic SCoT markers based on Jaccard similarity coefficient.

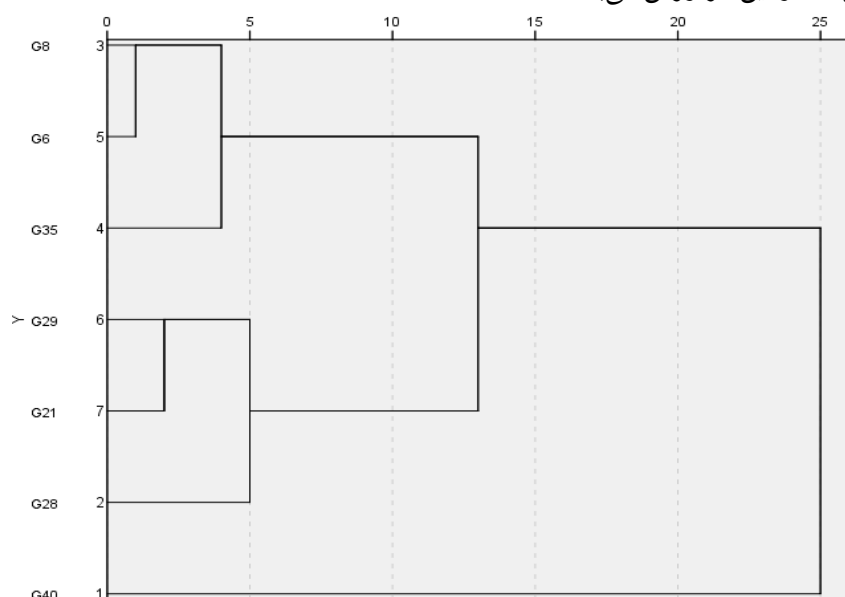
The code and origin of the genotypes are given in Table 1.

کد و منشاء ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است.

خوشه‌بندی، ژنوتیپ G40 با منشاء اصفهان به‌خوبی از بقیه ژنوتیپ‌ها تفکیک شد. با مقایسه دو خوشه‌بندی انجام شده در این تحقیق، بجز ژنوتیپ G21 و G40، که به ترتیب در روش ملکولی و عملکردی در خوشه متفاوتی قرار گرفتند، بقیه ژنوتیپ‌ها در هر دو روش مولکولی و عملکردی در

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های دیم براساس صفات عملکردی تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های کلکسیون گل محمدی براساس صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل، سه خوشه اصلی تشکیل شد. در کلاد یک، سه ژنوتیپ G6، G8 و G35، در کلاد دو ژنوتیپ‌های G21، G28 و G29 و در کلاد سه، ژنوتیپ G40 قرار گرفتند (شکل ۴). در این

خوشه‌های یکسان قرار گرفتند که که نشان‌دهنده همخوانی الگوی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در این دو روش می‌باشد.



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش میانگین فاصله بین جفت نمونه‌ها روی ۷ ژنوتیپ منتخب دیم بر مبنای میانگین

صفات ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل محمدی

Figure 4: Dendrogram obtained from cluster analysis (Average Linkage method) of seven selected genotypes of *R.damascena* grown in rainfed based on plant height, flower number and essential oil percentage

The code and origin of the genotypes are given in Table 1.

کد و منشأ ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ آمده است.

بحث

کلن‌ها، جنبه‌های زراعی و باغی و غیره مرتبط را دربر گرفت. در یکی از پروژه‌های آن، ۷ ژنوتیپ به عنوان ژنوتیپ‌های منتخب گل‌محمدی دیم که از لحاظ صفات عملکردی در شرایط دیم ارزیابی شده بودند در این تحقیق استفاده شد. با توجه به دستورالعمل‌های ثبت و معرفی رقم در مؤسسه ثبت گواهی بذر و نهال کشور، علاوه بر تفاوت‌های مورفولوژیکی موجود در بین ژنوتیپ‌ها، بایستی تفاوت‌های مولکولی آشکاری بین ژنوتیپ‌ها نیز بررسی گردد تا به عنوان ارقام جدید ثبت گردند. بر همین اساس، برای پی بردن به تمایز ژنوتیپ‌های مختلف گل‌محمدی از ۲۹ نشانگر مختلف SCoT استفاده شد و در نهایت ۱۳ آغازگر با ۸۸ آلل چند شکل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که اختلافات مولکولی

گل‌محمدی مهمترین گونه معطر کشت شده در مناطق مختلف ایران بوده و دارای خصوصیات مهم خوراکی، دارویی و عطرسازی است. همچنین این گونه ظرفیت‌های ارزشمند باغی و زراعی ازجمله کم توقع بودن، توان رشد در طیفی از شرایط مختلف محیطی، سهولت کاشت و دائمی بودن و فاصله کوتاه زمانی تا رسیدن به تولید را دارد. ازاین‌رو، از سال ۱۳۸۰ در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور یک طرح جامع تحقیقاتی کاربردی با نزدیک به ۴۰ پروژه تحقیقاتی ستادی، منطقه‌ای و استانی برای گل محمدی آغاز شد (Tabaei-Aghdaei et al., 2004). این طرح جامع تقریباً تمام جنبه‌های تحقیقات مولکولی و سیتوژنتیکی، خصوصیات مورفولوژیکی، فنولوژیکی، فیتوشیمیایی، خصوصیات کمی و کیفی اسانس

تنوع آب و هوایی و وجود ژنوتیپ‌های مختلف، می‌تواند به عنوان مخزن ژنی مهم در ایجاد دورگ‌های گل محمدی پربازده عمل بکند.

در راستای تحلیل‌های انجام‌شده و با استناد به نتایج به‌دست‌آمده، می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت ژنتیکی میان هفت ژنوتیپ گل محمدی دیم که توسط مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفته‌اند با ژنوتیپ‌های منتخب از آذربایجان به‌طور قابل‌توجهی بالاست. این اختلاف ژنتیکی قابل توجه نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه احتمالاً مسیرهای تکاملی یا انشعابات ژنتیکی متفاوتی را طی کرده‌اند. فراهم بودن چنین تفکیکی می‌تواند نتیجه‌گیری‌های مهمی را درباره تاریخچه فیلوژنتیک و فرایندهای انتخاب طبیعی و اصلاحی در حوزه گل محمدی در ایران را ارائه دهد. علاوه بر این، همبستگی نسبی مناسبی میان گروه‌بندی‌های حاصل از خوشه‌بندی ژنتیکی و صفات عملکردی گل محمدی ایجاد شد. به عبارت دیگر، برخی از خوشه‌های ژنتیکی که با نشانگرهای SCoT مشخص شدند، دارای همبستگی قابل توجهی با صفات عملکردی مانند ارتفاع گیاه، تعداد گل در هکتار و درصد اسانس گل بودند.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور برگرفته شده از طرح ۰۹-۰۹-۰۴۹-۰۰۰۵۶۳ و شرکت زیست کشت فناوریان فدک انجام شد، بنابراین نویسندگان کمال تشکر و قدردانی را دارند.

قابل توجهی در بین ۱۲ ژنوتیپ منتخب گل محمدی وجود دارد که اغلب مربوط به ژنوتیپ‌های منطقه آذربایجان است. مطالعات مختلفی بر روی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف در ترکیه و بلغارستان انجام شده است. [Agaoglu و همکاران \(۲۰۰۰\)](#) و [Baydar و همکاران \(۲۰۰۴\)](#) با استفاده از نشانگرهای مولکولی مختلف به این نتیجه رسیدند که تنوع ژنتیکی کافی بین ژنوتیپ‌های گل محمدی ترکیه وجود ندارد و در واقع ژنوتیپ‌های کشت شده در مناطق مختلف ترکیه از یک یا چند ژنوتیپ اولیه مشترک حاصل شده‌اند. همچنین مطالعه‌ای در بلغارستان با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR، نشان داد که در بین ژنوتیپ‌های گل محمدی بلغارستان نیز تفاوت ژنتیکی مشهودی وجود ندارد ([Rusanov, 2005](#)). [Pirsevedi و همکاران \(۲۰۰۵\)](#) تنوع ژنتیکی بالایی در بین ۱۲ ژنوتیپ گل محمدی مختلف جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران را با استفاده از نشانگرهای AFLP گزارش کردند (که کارایی مطلوب نشانگر مذکور در تمایز ژنوتیپ‌ها را نشان داد) که با نتایج این طرح مطابقت دارد. علت این موضوع می‌تواند به قدرت تمایز نشانگرهای مولکولی SCoT و AFLP و وجود تفاوت ژنتیکی ذاتی در بین ژنوتیپ‌ها باشد. [Babaei و همکاران \(۲۰۰۷\)](#) با بررسی تنوع ژنتیکی بین ۴۰ ژنوتیپ گل محمدی موجود در ایران از ۲۸ استان، گزارش کردند که نشانگرهای SSR توانستند ۴۰ ژنوتیپ را در ۹ خوشه متمایز گروه‌بندی بکنند. بزرگترین خوشه شامل ۲۷ ژنوتیپ بود که ارقام ترکیه و بلغارستان نیز در این خوشه قرار گرفتند. آنان نتیجه گرفتند که ژنوتیپ‌های موجود در ترکیه و بلغارستان احتمالاً از ایران به این کشورها منتقل شده‌اند. مطالعات [Kiani و همکاران \(۲۰۰۸\)](#) نشان داد که نشانگرهای RAPD توانایی تمایز بین ۴۱ ژنوتیپ موجود در ایران را داشتند. در همخوانی با این مطالعه، ارقام موجود در ۱۰ گروه مختلف طبقه‌بندی گردید که ارقام موجود در ترکیه و بلغارستان نیز در بزرگترین گروه بودند. [Mohammadi و Banaei \(۲۰۲۴\)](#) با استفاده از نشانگرهای SSR، نشان دادند که تنوع ژنتیکی مناسبی بین نه ژنوتیپ منتخب گل محمدی وجود دارد. این نتایج نشان داد که کشور ایران به دلیل داشتن

References

- Agaoglu, Y.S., Ergül, A. and Baydar, N., 2000. Molecular analysis of genetic diversity oil rose (*Rosa damascena* Mill.) grown in Isparta (Turkey) region. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 14(2), 16-18.
- Babaei, A., Tabaei-Aghdai, S.R., Khosh-Khui, M., Omidbaigi, R., Naghavi, M. R., Esselink, G. D. and Smulders, M. J. 2007. Microsatellite analysis of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) accessions from various regions in Iran reveals multiple genotypes. *BMC Plant Biology*, 7(1), 12.
- Baydar, N.G., Baydar, H. and Debener, T. 2004. Analysis of genetic relationships among *Rosa damascena* plants grown in Turkey by using AFLP and microsatellite markers. *Journal of biotechnology*, 111(3), 263-267.
- Beheshti, F., Ahmadabady, S., Baghcheghi, Y., Anaeigoudari, A. and Hosseini, M. 2021. A mini review of neuropharmacological effects of *Rosa damascena* Herrm. *Pharmaceutical Sciences*, 28(2), 232-238.
- Kiani, M., Zamani, Z., Khalighi, A., Fatahi, R. and Byrne, D. H., 2008. Wide genetic diversity of *Rosa damascena* Mill. germplasm in Iran as revealed by RAPD analysis. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 386-392.
- Kurkcuoglu, M. and Baser, K.H.C. 2003. Studies on Turkish rose concrete, absolute, and hydrosol. *Chemistry of natural compounds*, 39, 457-464.
- Luo, C., He, X.H., Chen, H., Ou, S.J., Gao, M.P. 2010. Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(6): 1176-1184.
- Mohammadi, Y. and Banaei-Asl, F. 2024. Genetic diversity of nine elite *Rosa damascena* genotypes using molecular markers. *Iranian Journal of Genetics & Plant Breeding (IJGPB)*, 13(2), 21-27 (In Persian).
- Peakall, R., Smouse P.E., 2012. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Pirseyedi, S.M., Mardi, M., Davazdahemami, S., Kermani, M.J. and Mohammadi, S.A., 2005. Analysis of the genetic diversity 12 Iranian Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) genotypes using amplified fragment length polymorphism markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 3(4), 225-230.
- Rohlf F.J., 2000. NTSYS 2.1: numerical taxonomic and multivariate analysis system. New York, Exeter Software.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Stefanova, K., Atanasov, A. and Atanasov, I. 2009. *Rosa damascena*-Genetic resources and capacity building for molecular breeding. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(4), 1436-1439.
- Tabaei-Aghdai, S.R., Rezaei, M.B., Jafari, A.A., Assareh, M.H., Ghamari Zare, A., Mirjani, M. 2004. Adaptability trials on *Rosa damascena* Mill. genotypes in different provinces of Iran. Research institute of forest and rangelands. Project No: 0-100-170000-08-8301-83001. Tehran, Iran (In Persian).
- Venkatesha, K.T., Gupta, A., Rai, A.N., Jambhulkar, S.J., Bisht, R. and Padalia, R.C. 2022. Recent developments, challenges, and opportunities in genetic improvement of essential oil-bearing rose (*Rosa damascena*): A review. *Industrial Crops and Products*, 184, 114984.
- Vivodík M., Balážová Ž., Gálová Z., Petrovičová, L., 2019. Start codon targeted polymorphism for evaluation of functional genetic variation and relationships in cultivated castor (*Ricinus communis* L.) genotypes. *Genetika*, 51(1): 137-146.