

ارزیابی تنوع ژنتیکی میان جمعیت‌های مختلف ترتیزک (*Lepidium sativum* L.)

فائزه السادات مرتضوی مقدم^۱، غلامرضا شریفی سیرچی^{۲*} و اردشیر قادری^۳

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۶

چکیده

در این تحقیق تنوع ژنتیکی گیاه دارویی ترتیزک میان ۱۵ جمعیت کشور و دو جمعیت از کشور چین مورد ارزیابی قرار گرفت. بعد از کشت بذر، از برگ‌های بوته‌های حاصله DNA به روش CTAB استخراج شده و با استفاده از ۸ آغازگر RAPD، تکثیر شده و باندهای واضح و تکرارپذیر تولید کردند. با این تعداد آغازگر در مجموع ۶۹ باند تکثیر شد که ۶۵٪ چندشکل بودند. میزان ضریب تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌ها از ۹۵٪ - ۷۷٪ متغیر بود. بیشترین ضریب تشابه ژنتیکی میان جمعیت‌های ماهان و خمینی‌شهر (با تشابه ژنتیکی ۹۵٪) و کمترین تشابه ژنتیکی میان جمعیت‌های کرمان و چین ۲ (با تشابه ژنتیکی ۷۷٪) مشاهده شد. تجزیه خوشه‌ای تنوع ژنتیکی بالایی بین فنوتیپ‌های ترتیزک را مشخص نمود. بین تنوع مولکولی و پراکنش جغرافیایی ارتباط کمی مشاهده گردید. تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب ۶۹٪ و ۲۴٪ از تنوع بدست آمده را توجیه می‌کنند که خود نشان دهنده توزیع مناسب نشانگرهای ریپید در ژنوم‌های مورد مطالعه می‌باشد. به طور کلی می‌توان گفت که فاصله ژنتیکی این جمعیت‌ها کم بوده و نشان دهنده این است که منشا ژنتیکی آن‌ها ناشی از یک پایه ژنتیکی بوده است.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، مختصات اصلی، ترتیزک.

^۱ کارشناسی ارشد مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه باهنر کرمان، تهران، ایران
^{۲*} گروه کشاورزی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران. sharifisirchi@yahoo.com
^۳ گروه بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

مقدمه

مشاهده شده، هتروزیگوسیتی و خزانه ژن جهانی که حاوی تمام اطلاعات موجود درباره فرآیندهای بیولوژیکی است (Melchinger and Gumber, 1998) بسیار ارزشمند و مورد توجه محققین می باشد. از نشانگر RAPD تاکنون برای بررسی تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای و درون گونه‌ای بسیاری از گیاهان زراعی و باغی استفاده شده است با ۵ آغازگر RAPD روی ۱۰۹ توده مختلف گونه *Bemisiatabasi* در برزیل ۷۲ نشانگر RAPD بدست آمد که با استفاده از آن‌ها میزان تنوع ژنتیکی بین توده‌های مختلف و ارتباط میان بیوتیپ‌های مختلف این گونه شناسایی شد (Lima et al., 2002). تنوع ژنتیکی تعداد ۴۱ ژنوتیپ گل محمدی (*Rosa damascene*) از نواحی مختلف ایران (استان‌های فارس، کرمان، اصفهان، آذربایجان شرقی و خراسان رضوی) و یک ژنوتیپ از بلغارستان با ۳۱ آغازگر RAPD و ۱۰ نشانگر مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق هر دو نشانگر مولکولی و مورفولوژیکی درجه بالایی از چندشکلی را در میان ژنوتیپ‌های گل محمدی در ایران نشان دادند. براساس نتایج RAPD ژنوتیپ‌ها به ۱۰ گروه و براساس صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌ها به ۳ گروه تقسیم بندی شدند (کیانی و همکاران، ۱۳۸۸). در این تحقیق رابطه ژنتیکی میان ۱۵ ژنوتیپ گیاه دارویی ترتیزک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع آوری مواد گیاهی:

در این تحقیق ۱۵ جمعیت ترتیزک از مناطق مختلف ایران و ۲ جمعیت از کشور چین مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). بذره‌های این جمعیت‌ها در گلخانه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج کشت و اقدام به تهیه نمونه های برگ‌ها به منظور انجام مراحل بعدی تحقیق شد.

ترتیزک در کتاب‌های طب سنتی با نام‌های «جرجیربستانی» و «رشاد» نامبرده شده است و بذر آن را «حب الرشاد»، «حرف ابیض» و «حرف» گویند. گیاهی است از خانواده Crucifera و نام علمی آن *Lepidium sativum* می‌باشد. بذر گونه وحشی ترتیزک از نظر دارویی نسبت به نوع زراعی آن ریزتر و قوی‌تر است. از این گیاه برای درمان آسم و سرفه استفاده می‌شود و به صورت ضماد برای تسکین درد ضربه به کار می‌رود. برگ‌های آن نیروبخش، محرک، مدر و ضدکمبود ویتامین C می‌باشد. این گیاه در بازکننده گرفتگی‌ها، انسداد مجاری کبد و طحال، صاف کننده و خردکننده سنگ مثانه، مولد اسپرم، تسریع هضم غذا و تحلیل نفخ مفید است و اشتهاآور، ضداسهال و تصفیه‌کننده خون است. جوشانده بذر ترتیزک در شیر برای سقط جنین به کار می‌رود. از قدیم در هندوستان از این گیاه و دانه‌هایش در رژیم غذایی زنان شیرده استفاده می‌شده است (زرگر، ۱۳۶۶ و میرحیدری، ۱۳۷۲).

این گیاه در گرگان، گنبد کاووس، رامسر، لاهیجان، رشت، انزلی، تبریز سلماس، مسجد سلیمان شوش، بوشهر، خلیج فارس، جزیره خارک، هرمز، کرمان، زابل، اصفهان، البرز، گچسار و قزوین پراکندگی دارد - (زرگر، ۱۳۶۶؛ مظفریان، ۱۳۷۵ و قهرمان، ۱۳۶۸).

شناسایی و به کارگیری شکل‌های ارثی متفاوت در اصلاح یک گیاه دارای اهمیت ویژه‌ای است که می‌توان بابرخورداری از توان توصیف ژنتیکی ارقام و حفظ خلوص ژنتیکی، روابط ژنتیکی را به نحو قابل توجهی برآورد کرد. همچنین با دانستن روابط ژنتیکی بین ارقام می‌توان از اطلاعات رده‌بندی به عنوان راهنمایی برای بهره‌گیری بهتر از منابع ژنتیکی در استفاده از آن‌ها در تلاقی‌ها و جداسازی ژن‌های مفید استفاده کرد (شریفی سیرچی و کاظمی پور، ۱۳۸۸). ارزیابی تنوع ژنتیکی در سطح گونه به دلایل ارتباط در جهت تغییرات تکاملی با میزان تنوع ژنتیکی

جدول ۱- منشا جغرافیایی جمعیت های ترتیزک مورد مطالعه

شماره جمعیت	منشا	اقلیم	عرض جغرافیایی (N)	طول جغرافیایی (E)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	همدان	گرم- خشک	۲۵°۳۹'	۶۰°۵۳'	۱۷۴۱
۲	چابهار	گرم معتدل با رطوبت نسبی	۳۲°۷۶'	۵۱°۷۰'	۱۱
۳	اصفهان ۱	گرم- خشک	۳۵°۴۲'	۵۴°۲۷'	۱۵۴۲
۴	سمنان	معتدل نیمه خشک	۳۰°۳۵'	۵۷°۵۶'	۱۱۳۰
۵	کرمان	گرم- خشک	۳۶°۲۴'	۵۸°۷۵'	۱۷۵۶
۶	نیشابور	معتدل- خنک	۳۵°۳۱'	۵۱°۶۶'	۱۲۵۰
۷	ورامین	معتدل- خشک	۳۵°۷۳'	۵۰°۸۰'	۹۱۸
۸	البرز- محمد	معتدل- خنک	۳۵°۷۶'	۵۰°۹۱'	۱۳۸۰
۹	شهریار	معتدل- خنک	۳۵°۶۶'	۵۱°۰۶'	۱۰۲۴
۱۰	شهرری	معتدل- خشک	۳۵°۵۸'	۵۱°۴۲'	۱۰۶۲
۱۱	ماهان	معتدل- خنک	۳۰°۰۶۱'	۵۷°۲۹'	۱۸۱۷
۱۲	نی ریز	معتدل- نیمه خشک	۲۹°۱۹'	۵۴°۳۱'	۱۵۱۹
۱۳	مشهد	معتدل- خشک	۳۶°۳۰'	۵۹°۶۰'	۱۰۶۵
۱۴	جوپار	معتدل- خنک	۳۰°۰۶۳'	۵۷°۱۱'	۱۸۰۰
۱۵	خمین شهر	معتدل- خنک	۳۲°۶۹'	۵۱°۵۴'	۱۶۵۰

۱۰ روز در گلخانه با دمای ۲۷ درجه سانتیگراد و رطوبت ۲۵٪ قرار گرفتند و مقدار طول آن ها بر اساس روزانه اندازه گیری شد (جدول ۲).

اندازه گیری های مورفولوژیکی

برای اندازه گیری طول دمبرگ و برگ گیاهان آن ها را در گلدان در خاک شنی لومی که از مقدار بیشتری رس تشکیل شده بود کاشت شدند و به مدت

جدول ۲- خصوصیات مورفولوژیکی برگ و دمبرگ توده های مختلف شاهی ایران

روز	دوم	دوم	چهارم	چهارم	ششم	ششم	هشتم	هشتم	دهم	دهم
نام مناطق	دمبرگ	برگ	دمبرگ	برگ	دمبرگ	برگ	دمبرگ	برگ	دمبرگ	برگ
خمینی شهر	۱/۴	۰/۳	۳	۱/۱	۴	۱/۳	۴/۹	۱/۶	۵/۶	۱/۸
مشهد	۰/۷	۰/۳	۲/۹	۰/۹	۳/۳	۱/۳	۵	۱/۵	۵/۶	۱/۷
اصفهان	۱	۰/۳	۲	۱/۱	۳/۱	۱/۱	۴	۱/۷	۵/۱	۱/۵
چین ۱	۰/۵	۰/۵	۳	۰/۹	۴/۵	۰/۹	۵/۱	۱/۳	۵/۷	۱/۴
ورامین	۱	۰/۸	۲/۳	۱/۲	۳/۵	۱/۵	۵	۲/۲	۶	۲/۲
نیشابور	۰/۸	۰/۴	۳/۴	۰/۸	۴/۶	۱/۳	۶/۳	۱/۴	۷	۱/۶
شهر ری	۱/۱	۰/۴	۴	۰/۸	۵/۳	۱/۲	۶/۵	۱/۳	۷	۱/۶
چابهار	۱/۵	۰/۳	۳/۵	۰/۹	۵	۱/۴	۶/۵	۱/۷	۷/۲	۲
نی ریز	۱/۲	۰/۶	۲/۸	۱/۱	۴/۲	۱/۳	۵	۱/۸	۵/۷	۲/۳
سمنان	۰/۸	۰/۲	۲	۱	۳/۲	۱/۱	۳/۸	۱/۵	۵/۳	۱/۷
جوپار	۰/۸	۰/۴	۲/۵	۱	۳/۲	۱/۳	۴/۱	۱/۶	۵	۱/۶
البرز	۱/۸	۰/۴	۴/۵	۱/۳	۶	۱/۵	۷/۵	۲	۷/۷	۲/۳
کرمان	۱/۱	۰/۵	۳/۲	۱/۲	۴/۳	۱/۴	۵/۷	۱/۵	۶/۱	۲

استخراج DNA

جدول ۳- غلظت‌های مواد مورد استفاده در واکنش PCR برای آغازگرها

مقدار مصرف شده در هر واکنش	غلظت مورد استفاده	مواد تشکیل دهنده واکنش
۲/۵ μl	۱۰ X	PCR Buffer
۲/۵ μl	۱۰ mM	dNTP
۲ μl	۲۵ mM	MgCl ₂
۱ μl	۱۰ Pmol	Primer
۰/۲ μl	۵ Unit	Taq DNA Polymerase
۳/۷۵ μl	۵ ng/μl	DNA
۱۴/۰۵ μl	-	D.D.W
۲۵ μl	-	Total

واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از ۸ آغازگر RAPD بر روی DNA ژنومی جمعیت‌های مورد مطالعه انجام گردید. در این تحقیق از ۸ آغازگر RAPD ساخت شرکت سیناژن استفاده شد، برای گذاشتن PCR از دستگاه ترموسایکلر اپندورف (Eppendorf Mastercycler gradient) استفاده گردید، دمای اتصال آغازگرها ۲ درجه پایینتر از دمای TM آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۴).

برگ‌های جوان از هر جمعیت برداشت و بعد از شستشو با آب جاری در هاون چینی با ازت مایع پودر شدند. استخراج DNA به روش CTAB با اندکی تغییرات انجام شد (Porebski et al., 1997). بافر استخراج شامل:

(NaCl 1.4 M, TricHcl 100 mM pH:8, CTAB 2% w/v, β-Mercaptoethanol 0/2% w/v, PVP 4%)

که به هر نمونه برگگی (۱/۰ گرم) ۸۵۰ میکرولیتر از آن اضافه شد. کیفیت و غلظت DNA استخراج شده توسط الکتروفورز ژل آگارز و دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت (رضایی و همکاران، ۱۳۹۱).

انجام واکنش RAPD-PCR

واکنش PCR _ RAPD بر اساس روش (Yeonsang et al., 2001) انجام گرفت. مواد مورد استفاده از شرکت فرمنتاز و با غلظت‌های زیر تهیه گردید و حجم نهایی واکنش PCR، ۲۵ μL در نظر گرفته شد (جدول ۳).

جدول ۴- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای واکنش PCR

ردیف	نام آغازگر	TM	توالی آغازگر
۱	OPJ-04	۳۴	CCGAACACGG 3' 5'
۲	OPJ-10	۳۴	AAGCCCGAGG 3' 5'
۳	OPJ-13	۳۲	5' CCACACTACC 3'
۴	OPJ-19	۳۲	5' GGACACCACT 3'
۵	OPJ-20	۳۴	5' AAGCGGCCTC 3'
۶	UBC-747	۳۸/۵	5' CCACCAACCC 3'
۷	OPA-09	۳۸/۷	5' GGGTAACGCC 3'
۸	OPB-01	۳۲	5' GTTTCGCTCC 3'

الگوی نواریندی محصولات حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمرز از ژل آگارز ۱/۵٪ استفاده شد.

چرخه حرارتی و مدن زمان هر یک بر اساس جدول ۵ تنظیم گردید. پس از اتمام چرخه‌ها، نمونه‌ها از دستگاه خارج شده و تا قبل از الکتروفورز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد. برای مشاهده

جدول ۵- چرخه حرارتی ترموسایکلر

مرحله	نام مرحله	دمای °C	زمان (دقیقه)
۱	واسرشت سازی اولیه	۹۴	۴
۲	۴۰ چرخه	-	-
۱-۲	واسرشت سازی	۹۴	۴۵
۲-۲	اتصال آغازگرها	۳۸-۳۰	۱
۳-۲	بسط	۷۲	۲
۴	بسط نهایی	۷۲	۵

تجزیه آماری

پس از ثبت اطلاعات ژل بدست آمده، با استفاده از نرم افزار Exel متغیرهای مربوط به هر آغازگر در ردیف‌ها و نام جمعیت‌ها در ستون قرار گرفت، سپس ماتریس تشابه و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم افزار NTSYS pc ver.2 امتیازدهی شد. برای حضور باند عدد ۱ و عدم حضور باند عدد صفر در نظر گرفته شد. با انجام و دندوگرام براساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه DICE ترسیم شد. ضریب MAXCOMP که با استفاده از ضریب-های COPH و SM بدست آمده است برای آزمون منتل استفاده شد (Anderson et al., 1993).

نتایج

نتایج PCR RAPD

داده‌های آنالیز حاصل از ژل‌های امتیازدهی شده نشان داده، در مجموع از ۶۹ باند تکثیر شده از تعداد کل باندها ۴۵ باند پلی مورف و ۲۴ باند مونو مورف بدست آمد، که باندهای پلی مورف ۶۸٪ از کل

باندهای تکثیر شده را به خود اختصاص داده است بیشترین تعداد باندهای تکثیر شده مربوط به آغازگر OPJ-10 با ۱۳ باند و کمترین تعداد آن مربوط به آغازگرهای OPA-09 و OPB-01 و UBC-747 با ۵ باند بودند. بیشترین باند پلی مورف مشاهده شده مربوط به آغازگر OPJ-10 با ۱۲ باند و کمترین آن مربوط به آغازگر OPA-09 و OPB-01 با صفر باند بود، همچنین بیشترین باند مونومورف مربوط به آغازگر OPA-09 و OPB-01 با ۵ باند و کمترین باند مونومورف مربوط به آغازگر OPJ-20 با صفر باند بود (جدول ۶ و ۷). باندها بر اساس وجود (۱) یا عدم وجود باند (۰) کد گذاری و پس از محاسبه ماتریس تشابه، تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و رسم دندروگرام با استفاده از نرم افزار NTSYS محاسبه و ترسیم گردید.

جدول ۶- لیست مربوط به آغازگرهای استفاده شده و تعداد باندهای تکثیر شده توسط آن‌ها

کد	آغازگر	توالی	تعداد باندهای تکثیر شده	تعداد باندهای چندشکل Π_p	تعداد باندهای تکثیر شده توسط آن‌ها	درصد چند شکلی	درصد تک شکلی
۱	OPJ-04	CCGAACACGG 3'5'	۱۱	۱۰	۱	۹۰	۱۰
۲	OPJ-10	AAGCCCGAGG 3'5'	۱۳	۱۲	۱	۹۲	۸
۳	OPJ-13	5' CCACACTACC 3'	۱۲	۸	۴	۶۶	۳۴
۴	OPJ-19	5' GGA CACCACT 3'	۸	۴	۴	۵۰	۵۰
۵	OPJ-20	5' AAGCGGCCTC 3'	۱۰	۱۰	۰	۱۰۰	۰
۶	OPB-01	GTTTCGCTCC 3'5'	۵	۰	۵	۰	۱۰۰
۷	UBC-747	CCACCAACCC 3'5'	۵	۱	۴	۲۰	۸۰
۸	OPA-09	GGGTAACGCC 3'5'	۵	۰	۵	۰	۱۰۰

جدول ۷- β و EMR هر کدام از مارکرهای رپید.

کد	آغازگر	β	EMR
۱	OPJ-04	۰/۹	۹
۲	OPJ-10	۰/۹	۱۰/۸
۳	OPJ-13	۰/۷	۵/۶
۴	OPJ-19	۰/۵	۲
۵	OPJ-20	۱	۱۰
۶	OPB-01	۰	۰
۷	UBC-747	۰/۲	۰/۲
۸	OPA-09	۰	۰

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش UPGMA در فاصله ژنتیکی ۰/۸۶ جمعیت‌ها را به پنج گروه اصلی طبقه‌بندی کرد، که عبارتند از: گروه اصلی اول شامل جمعیت‌های کرمان و ورامین بودند. گروه اصلی دوم به دو زیرگروه تقسیم‌بندی شدند که در زیرگروه اول ۳ زیرمجموعه البرز، همدان و مشهد قرار داشتند و در زیرگروه دوم ۵ زیرمجموعه سمنان، جوپار، ماهان، خمینی شهر و چابهار بودند و در گروه اصلی سوم ۲ زیر گروه قرار داشتند که زیرگروه اول شامل نیشابور و شهریار بود و زیرگروه دوم شامل نی ریز و چین ۱ بود. گروه اصلی چهارم شامل اصفهان بود و در گروه اصلی ۵ جمعیت‌های شهرری و چین ۲ قرار داشتند.

براساس این گروه‌بندی بیشترین فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌های کرمان و چین ۲ (با تشابه ژنتیکی ۰/۸۷) و کمترین فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌های ماهان و خمینی شهر (با تشابه ژنتیکی یک) وجود داشت. با توجه به شباهت بالای مشاهده شده میان جمعیت‌های مورد مطالعه می‌توان اظهار داشت که احتمالاً منشاء جمعیت‌های مورد مطالعه بسیار به هم نزدیک می‌باشد، در شکل شماره ۱ دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۷ جمعیت ترتیزک براساس نشانگرهای مولکولی RAPD نشان داده شده است.

تجزیه به مختصات اصلی

شکل پراکنش بر اساس دو مولفه اول توانست جمعیت‌های ترتیزک را به ۴ گروه تقسیم کند که تا

کوفنتیک استفاده می‌شود که آن را با r نشان می‌دهند که برای محاسبه آن دندوگرام به معتدل آن تبدیل می‌شود، که آن را ماتریس همبستگی یا کوفنتیک می‌نامند. پس از بدست آوردن این ماتریس، ماتریس تشابه با آن مقایسه شد. در این بررسی از ضریب SM و روش تجزیه خوشه‌ای UPGMA برای رسم شکل خوشه‌ای استفاده شده است که این شکل دارای ضریب کوفنتیک $r = 0.81$ در تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های مولکولی ضریب کوفنتیک بالا نشان‌دهنده کارایی شکل حاصل است. درجه برآزش می‌تواند در دامنه $0.1 < r < 1$ متغیر باشد. $r < 0.9$ برآزش بسیار خوب $0.7 < r < 0.9$ و کوچکتر از 0.7 برآزش ضعیف می‌باشد. r بدست آمده برابر 0.81 بود که نشان دهنده برآزش خوب است. از سوی دیگر ضریب کوفنتیک دلیل بر عدم کارایی شکل حاصل نمی‌تواند باشد، بلکه ضریب همبستگی کوفنتیک پایین ممکن است به دلیل شرایط غیر عادی در داده‌ها به ویژه داده‌های کیفی باشد.

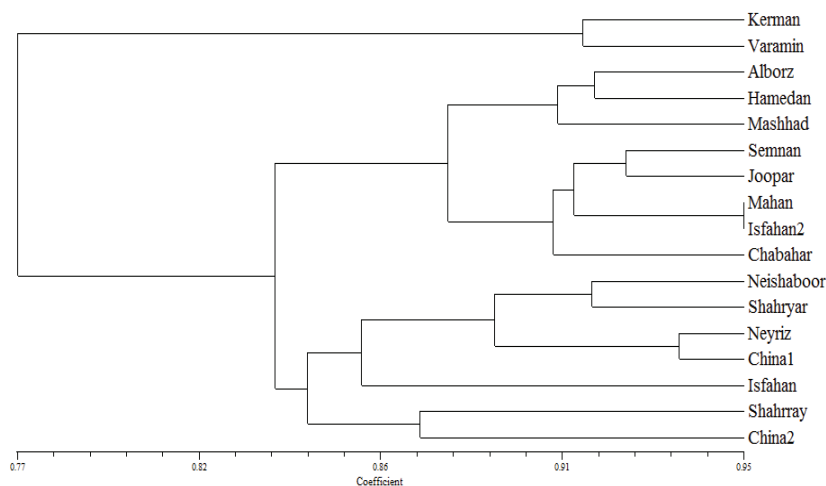
حدود زیادی مبین گروه‌بندی‌های انجام شده به روش تجزیه خوشه‌ای می‌باشد.

گروه اول شامل جمعیت‌های کرمان، گروه دوم شامل جمعیت البرز و گروه سوم شامل جمعیت‌های چین ۲، شهرری، جوپار، سمنان، ماهان، مشهد، چابهار، نیریز، چین ۱، شهریار و نیشابور بودند و گروه چهارم شامل جمعیت اصفهان بود.

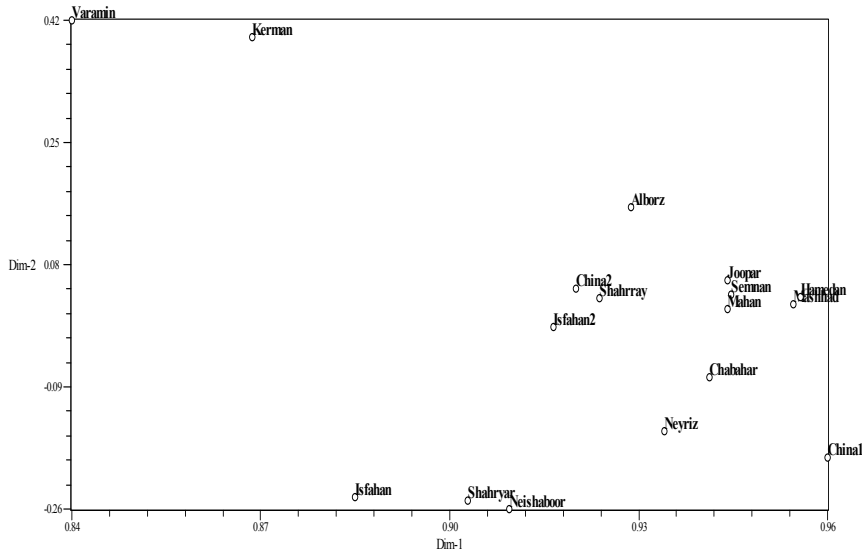
بنابراین بر طبق نتایج (PCO) می‌تواند به عنوان یک شاخص در متمایز کردن جمعیت‌های ترتیزک از سایر گونه‌های مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۲).

نتایج حاصل از آزمون منتل

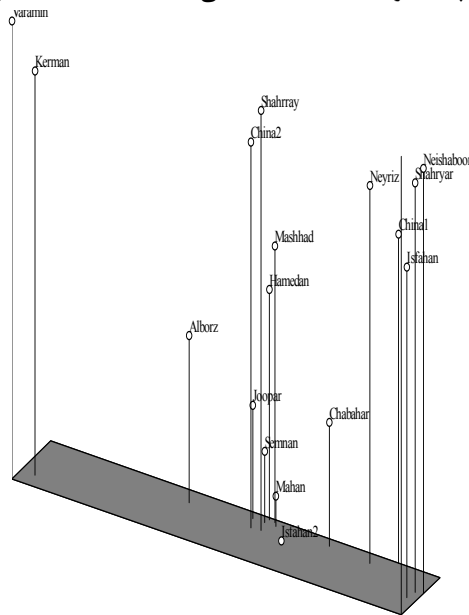
از آزمون منتل برای نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده می‌شود و هدف از محاسبه آن شناسایی شاخص‌هایی است که تمام جنبه‌های اطلاعاتی موجود در داده‌های اصلی را دربر می‌گیرد و یک تعداد آن‌ها به مراتب کمتر از تعداد متغیرهای اصلی است، به این منظور از ضرایب همبستگی



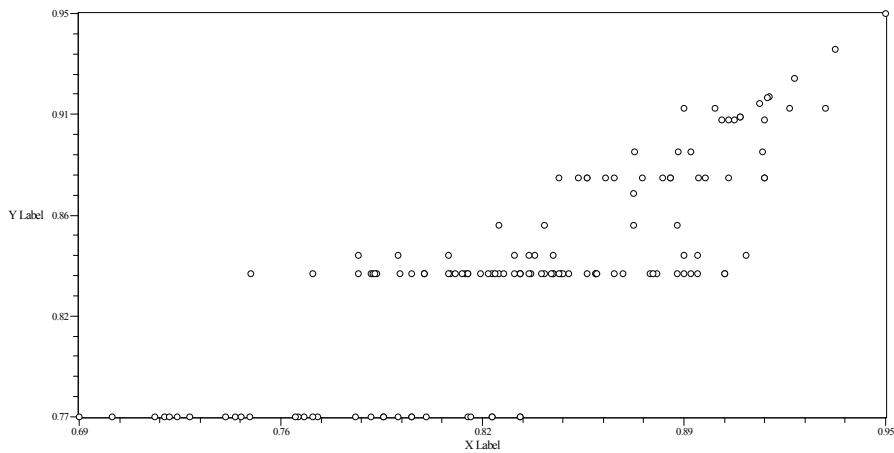
شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۷ فنوتیپ ترتیزک براساس نشانگر مولکولی RAPD.



شکل ۲- پلات دو بعدی مختصات اصلی PCO جمعیت‌های مورد مطالعه.



شکل ۳- پلات سه بعدی مختصات اصلی PCO جمعیت‌های مورد مطالعه



شکل ۴- تصویر گرافیکی حاصل از آزمون منتل، با استفاده از ضریب‌های COPH و SM ضریب MAXCOMP به دست آمده است و تایید کننده تجزیه کلاستر حاصل از روش تجزیه خوشه‌ای UPGMA است.

بحث

داد که رابطه معنی‌داری میان تنوع ژنتیکی و پراکنش جغرافیایی وجود ندارد. تجزیه به مختصات اصلی (PCO) نشان داد که مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب 69٪ و 24٪ از تنوع بدست آمده را توجیه می‌کنند که خود نشان دهنده توزیع مناسب نشانگرهای رپید مورد استفاده در ژنوم‌های مورد مطالعه می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی نشان داد که نمونه‌های کرمان و شهریار بیشترین فاصله ژنتیکی را دارند و می‌توان از آن‌ها برای تولید ارقام هیبرید و بهره‌وری از پدیده هتروزیس استفاده نمود، علی‌رغم تشابه ژنتیکی بالا میان جمعیت‌های مورد مطالعه مارکر رپید توانسته است تفاوت‌های ژنتیکی بین این جمعیت‌ها را نیز آشکار سازد. بطور کلی نتیجه نشانگر مولکولی رپید را می‌توان به عنوان ابزار مفید در بررسی روابط خویشاوندی و فاصله ژنتیکی نمونه‌های مختلف ترتیزک مورد استفاده قرار داد.

محققان تنوع ژنتیکی موجود در بین ۱۸ ژنوتیپ ترتیزک جمع‌آوری شده از کشور مصر را با استفاده از ۵۰ پرایمر رپید مورد بررسی قرار دادند که طی آن از این تعداد ۳۲ پرایمر تکثیر شدند و در کل ۴۱۴ باند بدست آمد که از این تعداد باند ۳۶۱ باند چندشکلی و ۵۳ باند تک‌شکلی بودند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش تجزیه خوشه‌ای و با استفاده از الگوریتم UPGMA، ۱۸ ژنوتیپ را در ۲ گروه بزرگ قرار گرفت و این دندوگرام ماتریس تشابه به اندازه ۲۳ تا ۶۶٪ را بین ۱۸ ژنوتیپ از خود نشان دادند (Bansal et al., 2012).

به طور کلی عوامل مختلفی برآورد روابط ژنتیکی میان افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهد که از آن جمله می‌توان به تعداد نشانگرهای مورد استفاده، توزیع نشانگر در ژنوم، طبیعت مکانیزم‌های تکاملی که در واقع زیر بنای تنوع محاسبه شده می‌باشند، اشاره نمود (شریفی سیرچی و کاظمی پور، ۱۳۸۸؛ Antonio et al., 2004). نشانگر RAPD یکی از نشانگرهای مهم برای تعیین تنوع ژنتیکی به شمار می‌آید، زیرا قطعات تکثیر شده توسط آغازگرهای RAPD شامل مناطق تصادفی از نواحی کدکننده و غیر کدکننده هستند که تمامی ژنوم را دربرمی‌گیرند. علاوه بر این نشانگرهای RAPD نشانگرهای ارزان، سریع و کم‌زحمتی هستند. بنابراین یکی از استراتژی‌های مهم برای تعیین تنوع ژنتیکی غربالگری اولیه گیاهان با استفاده از این نشانگر است. (Sun et al., 1999)

در این تحقیق از ۸ جفت آغازگر تصادفی RAPD برای تعیین تنوع ژنتیکی ۱۵ جمعیت ترتیزک مناطق مختلف ایران و دو جمعیت از کشور چین استفاده شد. که طی آن قطعات تکثیر خوبی از خود نشان دادند با این تعداد آغازگر در مجموع ۶۹ باند تکثیر شد که ۶۵٪ چندشکل بودند، میزان ضریب تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌ها از ۹۵٪ - ۷۷٪ متغیر بود، بیشترین ضریب تشابه ژنتیکی میان جمعیت‌های ماهان و خمینی‌شهر (با تشابه ژنتیکی ۹۵٪) و کمترین تشابه ژنتیکی میان جمعیت‌های کرمان و چین ۲ (با تشابه ژنتیکی ۷۷٪) بود، تجزیه خوشه‌ای تنوع ژنتیکی بالایی بین فنوتیپ‌های ترتیزک را مشخص نمود و همچنین نتایج نشان

- diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetics and Molecular Biology*, 27: 579-88.
- Bansal, D., Pragma, B., Yadav, O.P. and Punia, A. (2012). Assessment of genetic diversity in *Lepidium sativum* (Chandrasur) a medicinal herb used in folklore remedies in India using RAPD. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 10:39-45.
- Lima, L.H.C., Campos, L., Moretzsohn, M.C., Navia, D. and Oliveira, M. R.V. (2002). Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Genn.) Populations in Brazil revealed by RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, 25:217-223.
- Melchinger, A. E. and Gumber, R. K. (1998). Overview of heterosis and heterotic groups in agronomics crops. In: K. R. Lamkey and J. E. Stuber [eds]. *Concepts and breeding of heterosis in crop plants*. Madison, WI. CSSA. pp. 29-43.
- Porebski, S., Grant, B. L. and Baum, B. R. (1997). Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15:5-15.
- Sun, G.I., Diaz, O., Salomon, B. and Bothmer R.v. (1999). Genetic diversity in *Elymus caninus* as revealed by isozyme, RAPD, and microsatellite markers. *Genome*, 42:420-431.
- Yeonsang, S., Nunome, T., InHu, C., Youngseok, J.m., Wonyul, C. and JongHwan, P., (2003). Detection of randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers related to bolting, bulb color, and clove adherent type of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of the Korean Society for Horticulture Science*, 42(3): 305-309.
- منابع**
- رضایی، ل.، قادری، ا.، نقوی، م. ر.، ابراهیمی، م. ع.، ریاضی، ا.، مهر آفرین، ع. و نقدی بادی، ح. (۱۳۹۱). بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) نشانگرهای مولکولی AFLP، فصلنامه گیاهان دارویی، ۴، ۴۴: ۶۹ - ۶۲.
- زرگری، ع. (۱۳۶۶). گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، جلد اول، ص ۱۸۷.
- شریفی سیرچی، غ. و کاظمی پور، ع. (۱۳۸۸). بیوتکنولوژی اصول و مبانی، انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان، جلد اول، ص ۲۰۰.
- قهرمان، ا. (۱۳۶۸). فلور رنگی ایران، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، جلد ششم، ص ۷۰۰.
- کیانی، م.، زمانی، ذ.، خلیقی، اح. و فتاحی مقدم، م. (۱۳۸۸). بررسی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی گل محمدی با استفاده از نشانگرهای RAPD، مجله ژنتیک نوین، ۴: ۲۵-۳۲.
- مظفریان، و. (۱۳۷۵). فرهنگ نام‌های گیاهان ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، جلد اول، ص ۶۷۱.
- میرحیدر، ح. (۱۳۷۳). معارف گیاهی کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها. انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ص ۵۲۷.
- Anderson, J. A., Churchill, G. A., Autrique, J. E., Tanksley, S. D. and Sorrells, M. E. (1993). Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome*, 36: 181-6.
- Antonio, A. F. G., Benchimol, L.L., Barbosa, A. M. M., Geraldi, I.Q. and Souza C.L. (2004). Comparison of RAPD, RFLP, AFLP, SSR markers for

