

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف گیاه دارویی زنیان با استفاده از نشانگر RAPD

علی سرگزی^۱، براتعلی فاخری^۲، محمود سلوکی^۳، بهمن فاضلی نسب^{۴*}

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۱۵ جمعیت گیاه دارویی زنیان از ۱۵ آغازگر RAPD استفاده شد. آغازگرهای TIBMBC۰۲، TIBMBA۰۶ و TIBMBC۰۶ با ۴ الل کمترین تعداد و آغازگر TIBMBA۰۹ با ۱۱ الل بیشترین تعداد الل داشتند. بیشترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۹ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۹ و کمترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۴ مربوط به آغازگر TIBMBC۱۵، بیشترین میزان شاخص مارکری با میزان ۹/۰۷ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۹ و کمترین میزان شاخص مارکری با میزان ۱/۶۳ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۶، بیشترین میزان تعداد الل مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۹، ۰/۶۷۳ و ۰/۴۸ متعلق به آغازگر TIBMBB۱۲ و کمترین میزان تعداد الل مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۱۵، ۰/۲۵۸ و ۰/۱۳۴ متعلق به آغازگر TIBMBA۰۹ بود. بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و جاکارد کمترین میزان تشابه مربوط به ژنوتیپ‌های زنیان اردبیل با زنیان بروجرد، قم و بشرویه مشاهده و همچنین تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۸۵ درصد کل تغییرات ژنتیکی درون جمعیت‌ها وجود دارد. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها را در چهار گروه مختلف قرار داد که ارتباط متوسط بین فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی را در بین جمعیت‌ها نشان داد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، شباهت ژنتیکی، زنیان، RAPD

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- استاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

*۴- هیئت علمی پژوهشکده کشاورزی و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران Bfazeli@uoz.ac.ir

مقدمه

ژنتیکی و غیره کاربردهای بسیار وسیعی پیدا کرده‌اند (Hashemi et al., ۲۰۱۰). در این راستا نشانگر مولکولی RAPD یکی از عمومی‌ترین نشانگرهای مولکولی بوده که در زمینه‌های مختلف به کاررفته است. RAPD از نوع نشانگر مبتنی بر PCR است (Williams, ۱۹۹۰) که ارزان، سریع و نیازمند به اطلاعات اولیه در مورد ژنوم موردنظر نیست (Agarwal et al., ۲۰۰۸).

تاکنون تحقیقات مختلفی در مورد استفاده از نشانگر RAPD جهت بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف مثل آویشن باغی (Alamdary et al., ۲۰۱۲)، آویشن کوهی (Zabeti et al., ۲۰۱۳)، نعنا (Momeni et al., ۲۰۰۶)، مریم‌گلی (Echeverrigaray and Agostini, ۲۰۰۶)، زیره پارسی (Hashemi et al., ۲۰۱۰)، گزنه (Bharmauria et al., ۲۰۰۹) و زیره سیاه (Dehghan et al., ۲۰۰۸) گزارش شده است.

با توجه به پراکنش زنیان در ایران، این تحقیق باهدف بررسی روابط ژنتیکی بین و درون ۱۵ جمعیت زنیان و دسته‌بندی آن‌ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی، کمک به مطالعات بعدی برای اهداف بهنجاری و همچنین بررسی کارایی نشانگرهای مولکولی RAPD در متمایز نمودن جمعیت‌های خویشاوند و نزدیک زنیان انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ۱۵ جمعیت گیاه دارویی زنیان از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه (جدول ۱) و با استفاده از نشانگر RAPD در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۴ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

زنیان (*Carum copticum*) از خانواده چتریان (*Apiaceae*)، علفی، یک‌ساله، بی کرک، ساقه ایستاده، به ارتفاع ۳۰ تا ۱۰۰ سانتیمتر، برگ‌ها با بریدگی‌های نازک و ظریف، گل‌ها دوجنسی و خودگشن، به رنگ سفید و مجتمع به صورت چتر مرکب، میوه کوچک بیضوی به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد و دارای ۵ خط طولی نخی شکل به رنگ روشن‌تر بوده و دارای ۱۸ کروموزوم است (Chattopadhtay et al., ۱۹۹۰).

منشأ زنیان شبه‌قاره هند و منطقه مدیترانه بوده و در هند، پاکستان، مصر و جنوب ایران در استان‌های سیستان و بلوچستان، خوزستان و فارس به صورت طبیعی وجود داشته و همچنین کشت می‌شود (Fazeli-nasab and Fooladvand, ۲۰۱۶).

ترکیب‌های عمده اسانس زنیان؛ تیمول، گاما ترپینن، فلاندرن، گروه پینن، گروه سیمن و میرسن بوده که از دسته فنل‌ها می‌باشند و بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تأثیر داشته و از رشد چند قارچ جلوگیری می‌نمایند (Agarwal et al., ۲۰۰۸). در طب سنتی زنیان به‌عنوان بادشکن، ضد تهوع، مقوی، ضد کرم، مدر، کاهش‌دهنده کلسترول خون، خلط‌آور و تسکین‌دهنده اسپاسم استفاده می‌شده است (Fazeli-nasab and Fooladvand, ۲۰۱۶).

از دلایل اهمیت بررسی تنوع ژنتیکی، استفاده از تنوع در مدیریت مجموعه‌های ژنتیکی، با هدف کاهش هزینه‌ها، افزایش دقت و قابلیت استفاده در مراحل مختلف پروژه‌های اصلاحی است.

نشانگرهای مولکولی یک ابزار ارزشمندی را برای توصیف و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ها فراهم کرده‌اند (Zoghalmi et al., ۲۰۰۷) و نشان داده‌شده است که نشانگرهای مختلف، کلاس‌های متفاوتی از تنوع را نشان می‌دهند (Fazeli-Nasab et al., ۲۰۱۰). تفاوت‌هایی که در سطح DNA تظاهر می‌یابند، به نشانگرهای DNA معروف‌اند که در طبقه‌بندی موجودات، تعیین تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های

استخراج و تکثیر DNA

۵/۵ میکرو لیتر مستر میکس، ۱ میکرو لیتر DNA (۱۰ نانوگرم در میکرو لیتر) و با آب دو بار تقطیر حجم نهایی تا ۱۵ میکرو لیتر و سپس سیکل حرارتی بدین صورت که پنج دقیقه واسرشته سازی اولیه در ۹۴ °C، ۴۰ سیکل (تکرشته‌ای شدن DNA در ۹۴ °C؛ یک دقیقه؛ اتصال آغازگر به DNA تکرشته‌ای در دمای ۳۵/۵ °C؛ یک دقیقه و بسط آغازگر در ۷۲ °C؛ دو دقیقه) و بسط نهایی در ۷۲ °C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. جهت الکتروفورز از ژل آگاروز ۱/۵ درصد و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد.

استخراج DNA ژنومی بر مبنای روش SDS (Dellaporta et al., ۱۹۹۳) به صورت تک بوته و از هر جمعیت سه بوته (در مجموع ۴۵ استخراج) انجام شد. تعداد ۲۵ آغازگر RAPD برای این تحقیق انتخاب شد (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز بر اساس دستورالعمل ویلیامز و همکاران (Williams et al., ۱۹۹۰) با اندکی تغییر به به‌قرار زیر انجام شد: آغازگر با غلظت نهایی ۰/۲۵ میکرومولار (یک میکرو لیتر)؛

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مورد استفاده در تحقیق

| کد | نام علمی نمونه | استان | شهرستان | موقعیت جغرافیایی | |
|----|----------------|-------------------|----------|------------------|----------------|
| | | | | عرض | طول |
| ۱ | Carum copticum | کرمان | رفسنجان | ۳۰° ۲۹' ۲۰" | ۵۶° ۳۶' ۳۰" |
| ۲ | Carum copticum | مرکزی | اراک | ۳۴° ۴' ۴۸" | ۴۹° ۴۲' ۰" |
| ۳ | Carum copticum | لرستان | بروجرد | ۳۳° ۴۸' ۰" | ۴۸° ۳۰' ۰" |
| ۴ | Carum copticum | اصفهان | اصفهان | ۳۲° ۳۷' ۴۸" | ۵۱° ۳۹' ۰" |
| ۵ | Carum copticum | سیستان و بلوچستان | ایرانشهر | ۲۷° ۱۲' ۰" | ۶۰° ۴۱' ۲۴" |
| ۶ | Carum copticum | قم | قم | ۳۴° ۳۹' ۳۶" | ۵۰° ۵۲' ۴۸" |
| ۷ | Carum copticum | یزد | شاهدیه | ۳۱° ۵۵' ۴۵" | ۵۴° ۱۵' ۴۵" |
| ۸ | Carum copticum | قزوین | قزوین | ۳۶° ۲۹' ۰" | ۵۰° ۲۵' ۰" |
| ۹ | Carum copticum | یزد | شاهدیه | ۳۱° ۳۵' ۰" | ۵۴° ۲۶' ۲۱" |
| ۱۰ | Carum copticum | فارس | شیراز | ۲۹° ۳۷' ۲۰٫۹" | ۵۲° ۲۳' ۳۶٫۳۲" |
| ۱۱ | Carum copticum | اردبیل | اردبیل | ۳۸° ۲۰' ۰٫۲" | ۴۸° ۱۵' ۱۰" |
| ۱۲ | Carum copticum | یزد | صدوق | ۳۲° ۰' ۰٫۳۳" | ۵۴° ۱۲' ۱۵٫۵۹" |
| ۱۳ | Carum copticum | خراسان جنوبی | بیرجند | ۳۲° ۰۸' ۳۵" | ۶۱° ۱۳' ۸۷" |
| ۱۴ | Carum copticum | خراسان جنوبی | بشرویه | ۳۳° ۴۵' ۴۰" | ۵۷° ۲۸' ۰۵" |
| ۱۵ | Carum copticum | خراسان جنوبی | سربیشه | ۳۲° ۳۲' ۲۳" | ۶۵° ۱۱' ۳۹" |

جدول ۲- نام، توالی و دمای اتصال آغازگرهای RAPD مورد استفاده (Williams et al., ۱۹۹۰)

| توالی | نام آغازگر | توالی | نام آغازگر |
|---------------|------------|---------------|------------|
| GGC TTG ACC T | TIBMBC۰۳ | TGC TCG GCT C | TIBMBA۰۲ |
| GAG GCG ATT G | TIBMBC۰۵ | GTG CGA GAA C | TIBMBA۰۳ |
| GAA GGC GAG A | TIBMBC۰۶ | GGA CGA CCG T | TIBMBA۰۶ |
| GGT CTT CCC T | TIBMBC۰۸ | GGA ACT CCA C | TIBMBA۰۹ |
| AAC GTC GAG G | TIBMBC۱۰ | CTT CGG TGT G | TIBMBA۱۳ |
| CCT CCA CCA G | TIBMBC۱۲ | AAG TGC CCT G | TIBMBA۱۵ |
| CTG GTG CTC A | TIBMBC۱۶ | TCG GCA CCG T | TIBMBA۱۶ |
| | | ACA CCG TGC C | TIBMBA۱۷ |

تجزیه و تحلیل داده‌ها

لازم به ذکر است که شاخص چندشکلی (DI) یا محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC= Polymorphism Information Content) هر آغازگر برای هر نشانگر مولکولی می‌تواند با استفاده از فرمول

$$PIC = 1 - \sum_{j=1}^n P_j^2$$

ال‌های تولیدی ژنوتیپ‌های مورد استفاده (Anderson et al., ۱۹۹۷; Bryan et al., ۱۹۹۳) و یا با استفاده از

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i P_j$$

فرمول (Pasqualone et al., ۱۹۹۹) محاسبه گردد. ضمناً گزارش شده (Anderson et al., ۱۹۹۸; senior et al., ۱۹۹۳) همان DI است.

شاخص مارکری (Marker Index) نشان دهنده‌ی کارایی نشانگر است و با استفاده از فرمول $MI = EMR * DI (or PIC)$ که در آن EMR نسبت چندگانه مؤثر بوده و بیانگر تعداد جایگاه‌های ژنی چند شکل موجود در یک ژنوم است به دست آمد. EMR با استفاده از فرمول $EMR = N_a * \beta$ که در آن N_a تعداد مکان‌های چند شکل و β نیز نسبت مکان‌های چند

در این تحقیق امتیازبندی ال‌گوهای ال‌لی به صورت یک (وجود) و صفر (عدم وجود) برای هر ال انجام شد. صفاتی همچون تعداد ال‌های تکثیر شده (AB=Amplified Bands)، تعداد ال‌های چند شکل (PB= Ploymorphic Bands)، تعداد ال مؤثر (Ne=Effective number of alleles)، درصد چندشکلی (PP= Percent of Polymorphic)، شاخص چندشکلی (DI= Diversity Index)، شاخص شانن (I= Shannon's Information index)، شاخص نی (h= Nei's gene diversity) و ارتباط بین تعداد ال تکثیر شده توسط هر آغازگر ISSR و RAPD با شاخص چندشکلی اندازه‌گیری شد. شاخص چندشکلی که میزان آن بین صفر تا یک است (Agrama and Tuinstra, ۲۰۰۳) با استفاده از فرمول

$$DI = 1 - \sum_{j=1}^n p_j^2$$

جمعیت‌های مورد ارزیابی محاسبه شد (Botstein et al., ۱۹۸۰). ضمناً شاخص مارکری (MI) (Khaled et al., ۲۰۱۵)، شاخص تنوع شانن (Lewontin, ۱۹۷۲)، شاخص تنوع نی (Nei, ۱۹۷۳) و تنوع بین و درون جمعیتی بر اساس هر دو نشانگر ISSR و RAPD با استفاده از نرم‌افزار POPGENE ۱,۳۲ محاسبه شد.

(TIBMBC۰۸) تا ۹۱/۶۶ درصد (TIBMBA۰۹) متغیر و میانگین ۷۹/۱۲ به دست آمد (جدول ۳). برای بررسی قدرت تفکیک آغازگرها در نمایش چندشکلی در یک جمعیت، شاخص چندشکلی (DI) و شاخص مارکری (MI) هر آغازگر محاسبه شد. بیشترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۵ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۹ و کمترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۱ مربوط به آغازگر TIBMBA۱۵ و با میانگین کل ۰/۱ مشاهده گردید (جدول ۳). بیشترین میزان شاخص مارکری با میزان ۵/۴۹ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۹ و کمترین میزان شاخص مارکری با میزان ۰/۷۴ مربوط به آغازگر TIBMBA۰۶ و میانگین ۱/۸۶ مشاهده گردید (جدول ۳).

برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت، شاخص تنوع ژنی نی (h)، شاخص اطلاعات شانن (I) و تعداد ال‌های مؤثر (Ne) محاسبه شد (جدول ۳). بیشترین میزان تعداد ال مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۹، ۰/۶۷۳ و ۰/۴۸ متعلق به آغازگر TIBMBA۱۲ و کمترین میزان تعداد ال مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۱۵، ۰/۲۵۸ و ۰/۱۳۴ متعلق به آغازگر TIBMBA۰۹ بود.

شکل به تعداد کل مکان‌ها است محاسبه شد (Khaled et al., ۲۰۱۵; Gautam Murty et al., ۲۰۱۳). محاسبه شاخص‌های تنوع نی، شانن، تعداد ال مؤثر با نرم‌افزار POPGENE ۱,۳۲، تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار GeneAlex ۶,۵، تجزیه خوشه‌ای با ترسیم خوشه بر اساس روش (UPGMA) و با نرم‌افزار NTSYS-pc v.۲,۱ (Rohlf, ۲۰۰۲) مبتنی بر ماتریس تشابه نی و لی (Nei and Li, ۱۹۷۲) و جاکارد (Jaccard, ۱۹۱۲)، همبستگی بین ماتریس تشابه نی و لی و جاکارد با استفاده از آزمون مانتل و همچنین تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد.

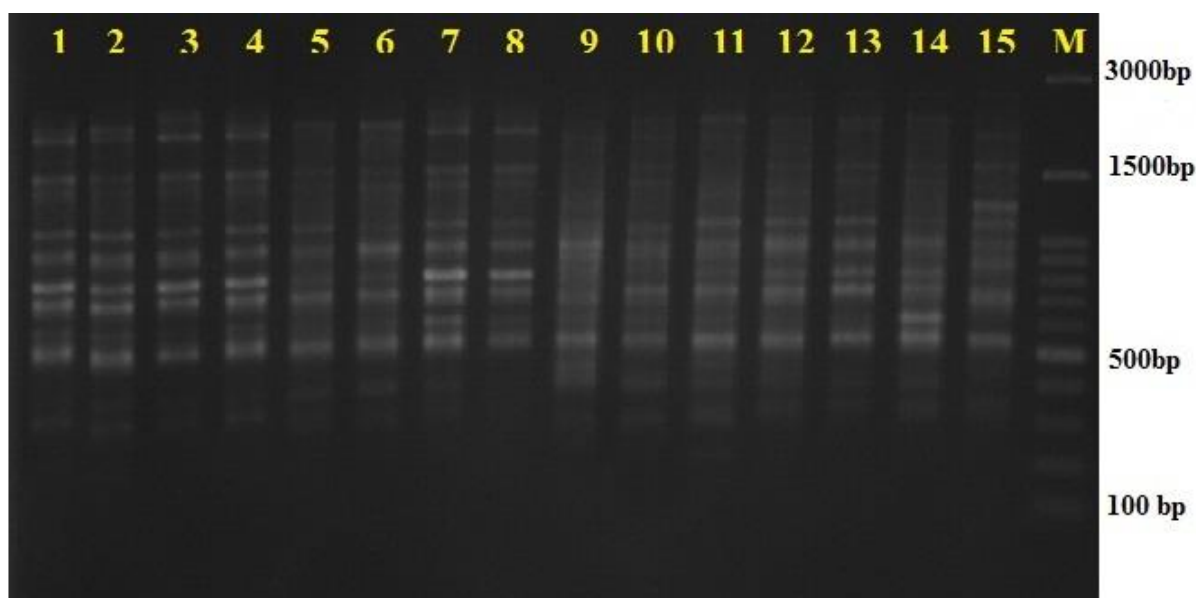
نتایج

چندشکلی و شاخص‌های کمی

از ۲۵ آغازگر مورد استفاده در این تحقیق، ۱۵ آغازگر تکثیر و چند شکل بودند (شکل ۱). آغازگر TIBMBC۰۲، TIBMBA۰۶ و TIBMBC۰۶ با ۴ ال کمترین تعداد و آغازگر TIBMBA۰۹ با ۱۱ ال بیشترین تعداد ال را در میان ال‌های تکثیری توسط هر آغازگر داشتند. میانگین تعداد ال در کل جایگاه‌ها برابر ۵/۷۳ بود. ضمناً درصد چندشکلی از ۶۶ درصد

جدول ۳- تعداد ال تکثیرشده (AB)، تعداد ال چندشکلی (PB)، تعداد ال مؤثر (Ne)، شاخص چندشکلی (DI)، شاخص شانن (I)، شاخص نی (h) و شاخص مارکری (MI) هر آغازگر

| MI | DI | h | I | PP | Ne | PB | AB | نام آغازگر |
|------|------|-------|-------|-------|------|----|----|------------|
| ۰/۸۷ | ۰/۲۲ | ۰/۳۷۳ | ۰/۵۴۷ | ۶۶/۶۶ | ۱/۶۷ | ۴ | ۶ | TIBMBA۰۲ |
| ۱/۲۴ | ۰/۳۱ | ۰/۲۳۹ | ۰/۳۹۲ | ۸۰ | ۱/۳۴ | ۴ | ۵ | TIBMBA۰۶ |
| ۵/۴۹ | ۰/۵ | ۰/۱۳۴ | ۰/۲۵۸ | ۹۱/۶۶ | ۱/۱۵ | ۱۱ | ۱۲ | TIBMBA۰۹ |
| ۳/۳۵ | ۰/۴۲ | ۰/۳۵۳ | ۰/۵۳۰ | ۸۸/۸۸ | ۱/۵۹ | ۸ | ۹ | TIBMBA۱۳ |
| ۰/۸ | ۰/۱ | ۰/۳۷۳ | ۰/۵۵۱ | ۸۰ | ۱/۶۵ | ۸ | ۱۰ | TIBMBA۱۵ |
| ۱/۹۷ | ۰/۳۳ | ۰/۳۶۱ | ۰/۵۳۰ | ۸۵/۷۱ | ۱/۶۶ | ۶ | ۷ | TIBMBA۰۳ |
| ۱/۰۳ | ۰/۲۶ | ۰/۳۲۸ | ۰/۴۹۹ | ۶۶/۶۶ | ۱/۵۴ | ۴ | ۶ | TIBMBA۰۶ |
| ۱/۹۴ | ۰/۳۹ | ۰/۴۸ | ۰/۶۷۳ | ۸۳/۳۳ | ۱/۹ | ۵ | ۶ | TIBMBA۱۲ |
| ۱/۱۹ | ۰/۲۴ | ۰/۳۵۸ | ۰/۵۳۲ | ۷۱/۴۲ | ۱/۶۲ | ۵ | ۷ | TIBMBA۱۶ |
| ۰/۷۴ | ۰/۱۵ | ۰/۳۳۶ | ۰/۵۲ | ۸۳/۳۳ | ۱/۵۸ | ۵ | ۶ | TIBMBA۰۳ |
| ۳/۰۸ | ۰/۴۴ | ۰/۳۲۴ | ۰/۴۶۵ | ۸۷/۵ | ۱/۵۲ | ۷ | ۸ | TIBMBA۱۷ |
| ۱/۹۹ | ۰/۴ | ۰/۳۱۹ | ۰/۴۶۶ | ۸۳/۳۳ | ۱/۵۶ | ۵ | ۶ | TIBMBA۰۵ |
| ۰/۷۸ | ۰/۲۶ | ۰/۳۴۸ | ۰/۵۴ | ۶۰ | ۱/۴۹ | ۳ | ۵ | TIBMBA۰۸ |
| ۱/۷۴ | ۰/۳۵ | ۰/۳۲۶ | ۰/۴۶۵ | ۸۳/۳۳ | ۱/۶ | ۵ | ۶ | TIBMBA۱۰ |
| ۱/۷۴ | ۰/۲۹ | ۰/۳۶۵ | ۰/۵۱۸ | ۷۵ | ۱/۶۸ | ۶ | ۸ | TIBMBA۱۶ |



شکل ۱- الگوی نواری تکثیرشده در نشانگر RAPD با استفاده از آغازگر TIBMBA13

تشابه ژنتیکی

به‌منظور شناسایی و درک بهتر شباهت‌ها و تفاوت‌ها در میان جمعیت‌های موردبررسی، ماتریس تشابه در بین ۱۵ ژنوتیپ زنیان مورداستفاده با توجه به کل ۱۹۶ ال تولیدشده در نشانگر RAPD، بر اساس روش نی و لی (Nei and Li, ۱۹۷۹) و جاکارد (Jaccard, ۱۹۱۲) محاسبه گردید؛ که بر اساس ماتریس تشابه نی و لی (Nei and Li, ۱۹۷۹) بیشترین میزان تشابه مربوط به زنیان صدوق و زنیان ایرانشهر (۰/۷۲) و کمترین میزان تشابه مربوط به ژنوتیپ‌های زنیان اردبیل با زنیان بروجرد، قم و بشرویه (صفر) با میانگین ۰/۳۳ مشاهده

گردید. همچنین بر اساس ماتریس تشابه جاکارد (Jaccard, ۱۹۱۲) بیشترین میزان تشابه مربوط به زنیان صدوق و زنیان ایرانشهر (۰/۵۶) و کمترین میزان تشابه مربوط به ژنوتیپ‌های زنیان اردبیل با زنیان بروجرد، قم و بشرویه (صفر) با میانگین ۰/۲۱ مشاهده گردید.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی که در آن تغییرات مشاهده شده داخل و بین اجزا جمعیت با استفاده از فاصله‌های ژنتیکی دسته‌بندی می‌شود محاسبه و بر اساس نتایج این تحقیق ۸۵ درصد تغییرات ژنتیکی یافت شده درون جمعیت‌ها و ۱۵ درصد در بین جمعیت‌ها بود (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های زنیان با استفاده از نشانگر RAPD

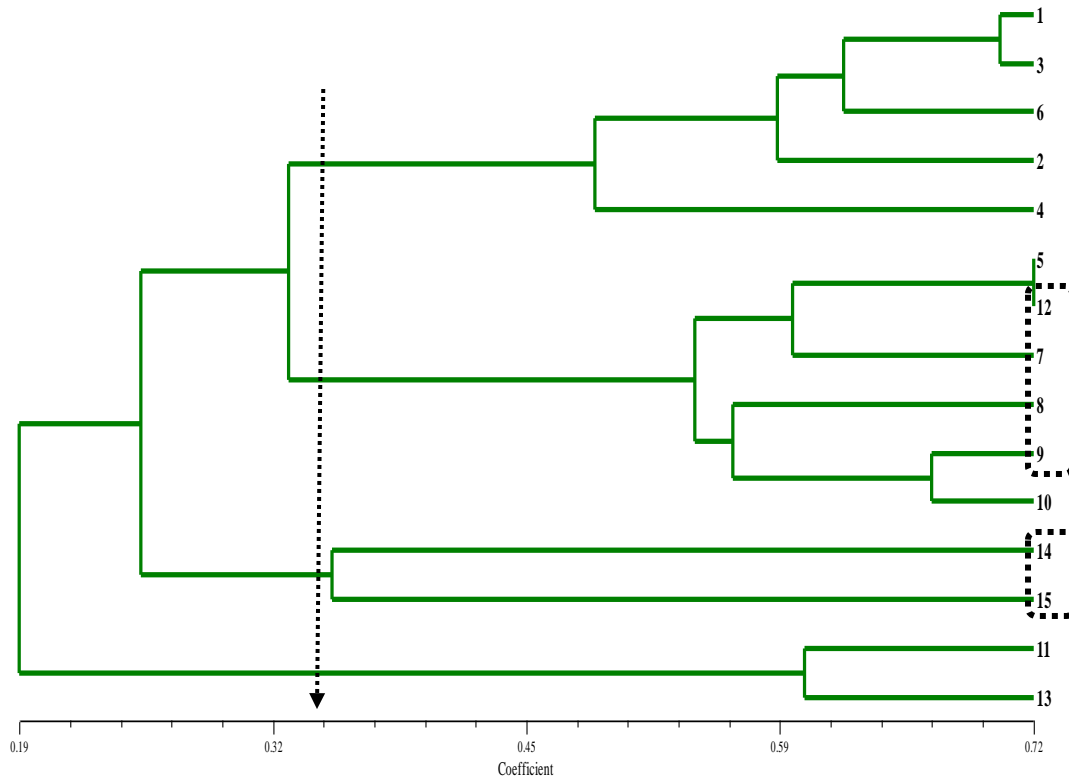
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | درصد واریانس |
|---------------|------------|----------------|--------------|
| بین جمعیت | ۱۴ | ۱۵/۴۴** | ۱۵ |
| درون جمعیت | ۳۰ | ۵/۸۹ | ۸۵ |
| جمع کل | ۴۴ | | ۱۰۰ |

** تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد ($P < 0.01$)

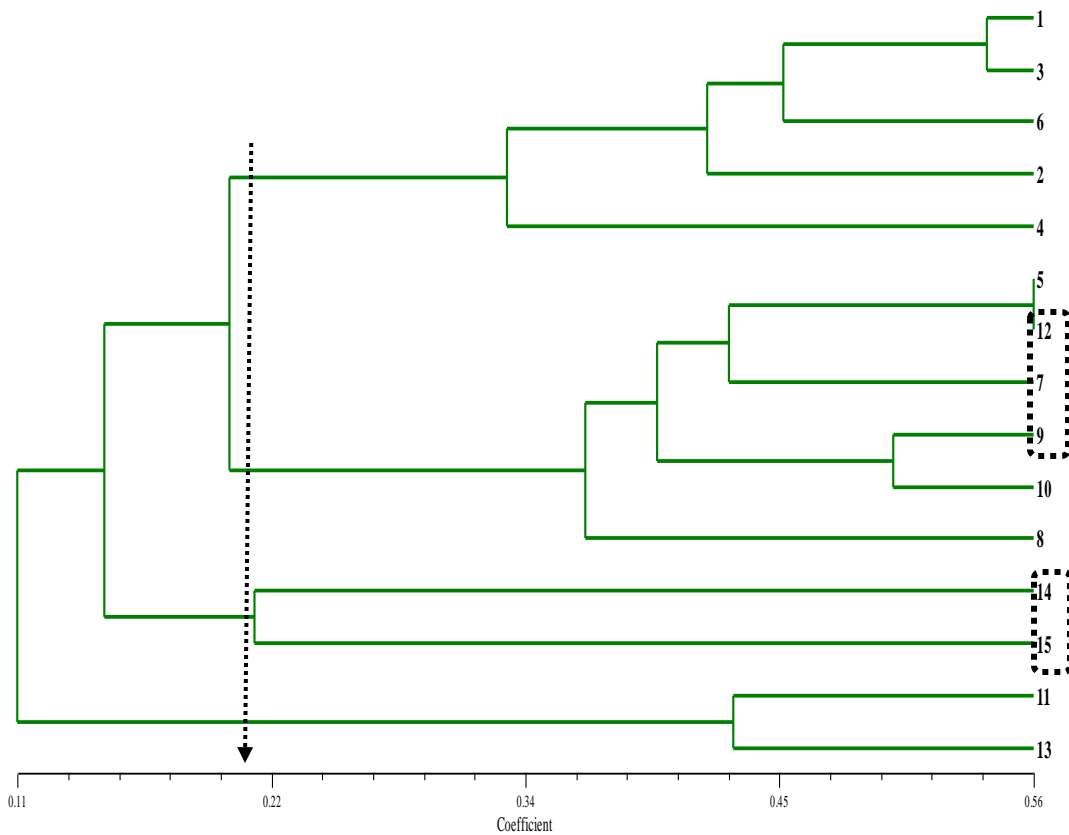
تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و جاکارد

تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف زنیان بر اساس نشانگر RAPD، با استفاده از روش شباهت ژنتیکی نی و لی و جاکارد و بر اساس روش UPGMA، با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc (Rohlf, ۲۰۰۲) انجام شد که این ژنوتیپ‌ها در هر دو روش در چهار گروه مختلف

طبقه‌بندی شدند. در ضمن مشاهده شد جمعیت‌ها از لحاظ موقعیت جغرافیایی از همدیگر تفکیک نشدند (شکل ۲؛ شکل ۳)؛ اما در هر دو روش جاکارد و نی و لی جمعیت‌های زنیان خراسان جنوبی (بشرویه و سربیشه) با هم در یک گروه مجزا قرار گرفتند و همچنین جمعیت‌های استان یزد (صدوق و شاهده) با هم در یک گروه گرفتند که نشان دهنده خصوصیات نزدیک این جمعیت‌ها بوده است.



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های زنیان بر اساس نشانگر RAPD، ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA

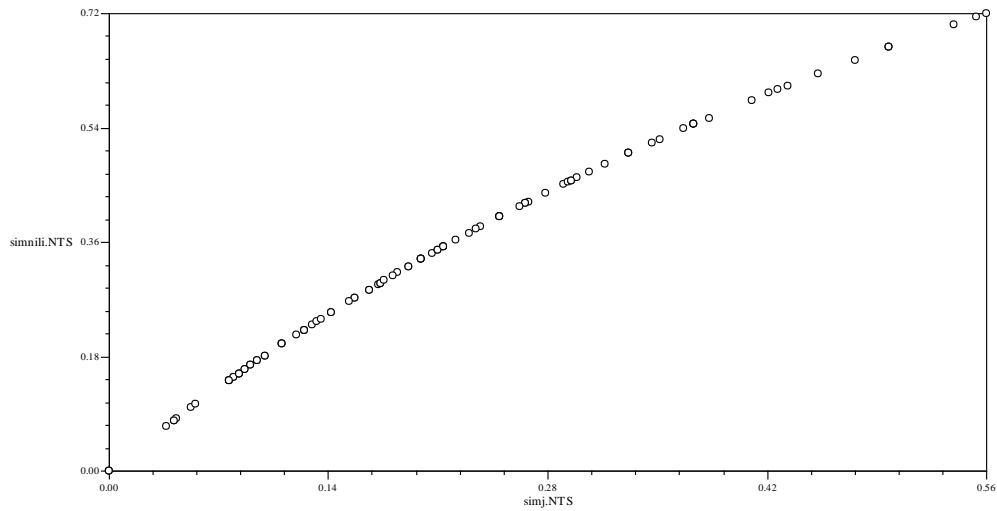


شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های زنیان بر اساس نشانگر RAPD، ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA

آزمون مانتل

برای تعیین همبستگی بین ماتریس‌های حاصل از تجزیه و تحلیل‌های داده‌ها بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و جاگرد از آزمون مانتل استفاده شد. بر اساس این

آزمون مشاهده شد که همبستگی بسیار بالایی بین ماتریس‌های تشابه حاصل از روش نی و لی و جاگرد وجود دارد ($r = 0.992$) (شکل ۴) که نشان می‌دهد دو ماتریس نتایج یکسانی را ارائه داده‌اند (شکل ۲ و شکل ۳).

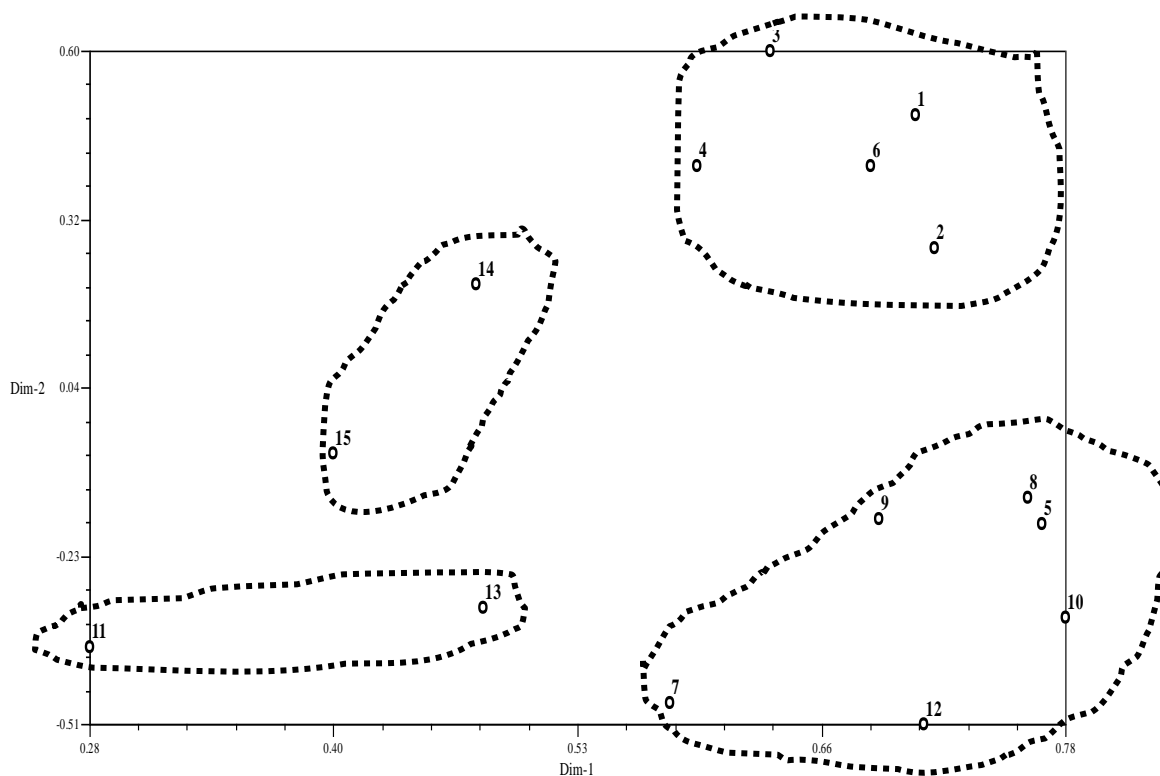


شکل ۴- همبستگی بین دو ماتریس تشابه به دست آمده از روش‌های نی و لی و جاگرد

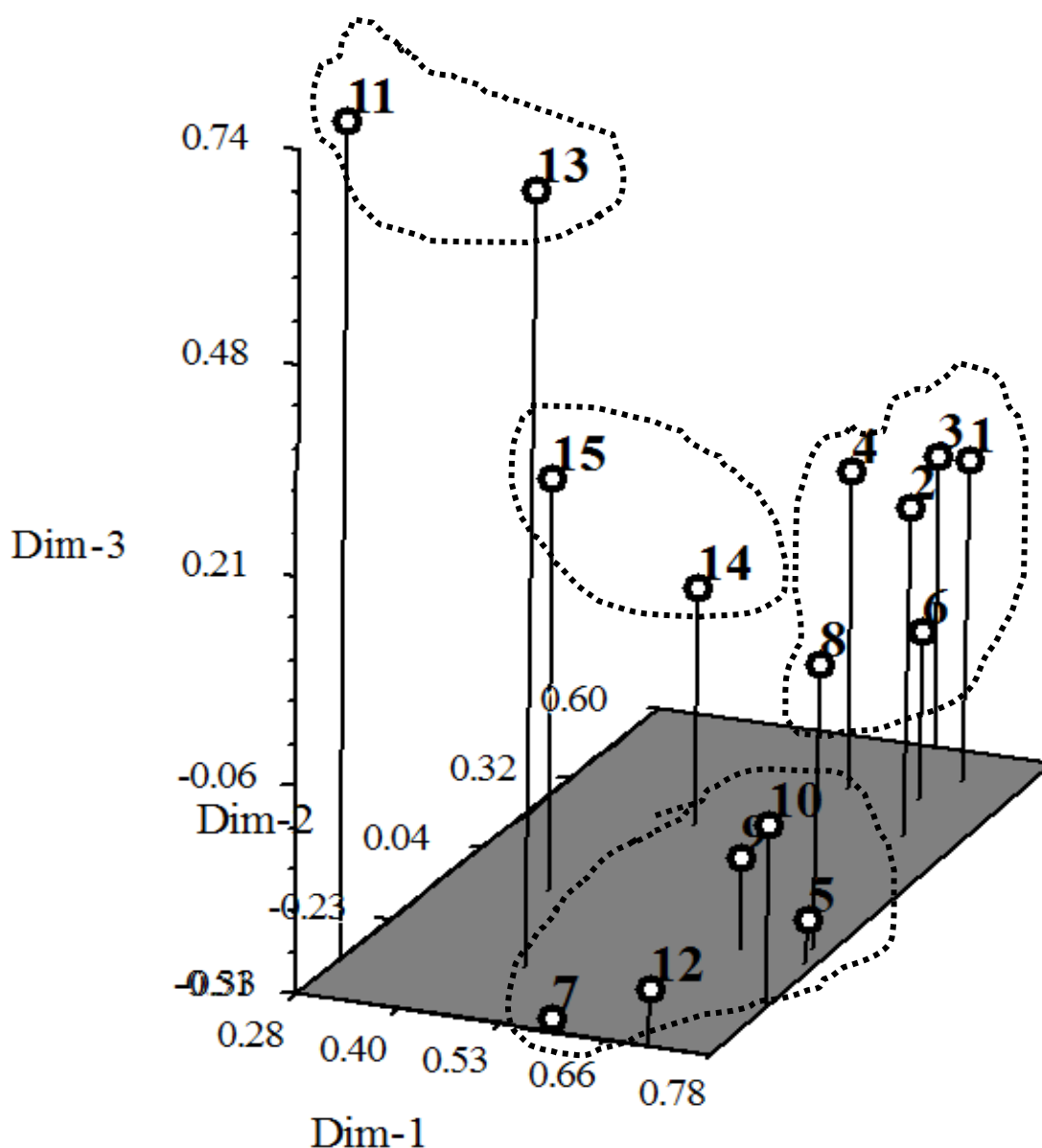
تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

در این بخش از تحقیق تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر روی داده‌های RAPD نشان داد که مقادیر ویژه در روش نی و لی برای سه مؤلفه اول ۶۲/۶ درصد کل واریانس را توجیه می‌کند. از طرفی کاهش اطلاعات به

دو یا سه مؤلفه اصلی به‌منظور بیان ویژگی‌های عمده داده‌ها به شکل ساده‌تر امکان‌پذیر و تا حدودی بیانگر گروه‌بندی به‌دست‌آمده از روش تجزیه خوشه‌ای بوده و نشان‌دهنده این است که اکثر مارکرها، اطلاعات مستقلی را در رابطه با ساختار ژنتیکی جمعیت‌های زنیان در این مطالعه ارائه می‌دهند (شکل ۵: شکل ۶).



شکل ۵- نمایش دو بعدی پراکندگی جمعیت‌های زنیان بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با توجه به ضریب تشابه نی و لی و نشانگر RAPD



شکل ۶- نمایش سه‌بعدی پراکندگی جمعیت‌های زینبان بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با توجه به ضریب تشابه نی و لی و نشانگر RAPD

با mungbean در ارزیابی (Saini et al., ۲۰۱۰) استفاده از RAPD شاخص مارکری (MI) را از ۰/۲۸ تا ۷/۲۵ و شاخص چندشکلی (DI) را ۰/۰۹ تا ۰/۴۳۷ گزارش دادند. گاوتم مورتی و همکاران (Gautam Murty et al., ۲۰۱۳) جهت ارزیابی *Jartopha Curcas L.* با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد ال را از ۷ تا ۱۷ با میانگین ۱۲/۰۹، درصد چندشکلی از ۷۲/۷۲ درصد تا ۱۰۰ درصد، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) از ۰/۷۵۵ تا ۰/۹۲ با میانگین ۰/۸۶ و میانگین شاخص مارکری را ۱۹/۰۷ به دست آوردند.

بحث

چندشکلی و شاخص‌های کمی

در گزارشی ویوودیک و همکاران (Vivodik et al., ۲۰۱۵) جهت ارزیابی برنج با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد ال را از ۳ تا ۱۳ با میانگین ۷/۸۵، شاخص چندشکلی (DI) را از ۰/۵۷ تا ۰/۹ با میانگین ۰/۷۷ و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) را از ۰/۴۹ تا ۰/۸۹ با میانگین ۰/۷۶۴ به دست آوردند. ساینی و همکاران

ضریب تشابه

بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ارتباط مؤثری در رابطه با موقعیت جغرافیایی در بین جمعیت‌ها مشاهده نشد. ضمناً نتایج مبنی بر عدم تطبیق منشأ جغرافیایی با تنوع ژنتیکی در پژوهش بهاری و همکاران (Bahari et al., ۲۰۱۵)، در ارزیابی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر RPAD، سورش و همکاران (Suresh et al., ۲۰۱۱)، در ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر RAPD، سلوکی و همکاران (Solouki et al., ۲۰۱۲)، در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر AFLP مشاهده شده که با تحقیق حاضر مشابهت داشتند.

چندین عامل اکولوژیکی سبب انباشته شدن تفاوت ژنتیکی بین دو جمعیت می‌شود. مکان‌های جغرافیایی مختلف از نظر برخی ویژگی‌های اکولوژیکی از جمله عرض و طول جغرافیایی، دما و رطوبت متفاوت‌اند. این عوامل فاکتورهای اکو جغرافیایی خوانده می‌شوند و سبب گوناگونی ژنتیک در بین دو جمعیت می‌شوند. با توجه به نتایج، استفاده از جمعیت‌های مناطق جغرافیایی بیشتر برای تأیید الگوی موجود لازم است. در گونه‌های دگرگشن به علت ایجاد ترکیبات ژنی جدید، جریان ژنی بالا و فشار شرایط محیطی حاکم بر منطقه، منجر به تثبیت یک سری ژن‌های خاص شده لذا فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها پراکنده بوده و در عوض تنوع بین جمعیت نسبتاً کم است (Hamrick and Godt, ۱۹۹۶; Rauf et al., ۲۰۱۰). گونه‌های خودگشن به دلیل وجود الل‌های متفاوت درون هر جمعیت، تغییرات بیشتری درون جمعیت‌ها وجود دارد (Rao and Hodgkin, ۲۰۰۲) و در کل هم در گیاهان خودگشن و هم دگرگشن در اکثر حالات تنوع درون جمعیت بیشتر از تنوع بین جمعیت بوده ولی این میزان تنوع در گیاهان خودگشن بیشتر از دگرگشن است.

در تحقیق حاضر نتایج تجزیه واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ۸۵ و بیشتر از تنوع بین

پتروویکووا و همکاران (Petrovicova et al., ۲۰۱۴) جهت ارزیابی چاودار با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد الل را از ۷ تا ۱۲ با میانگین ۸/۶، شاخص چندشکلی (DI) از ۰/۸۴۲ تا ۰/۹۰۷ با میانگین ۰/۸۶۷ و محتوای چندشکلی (PIC) از ۰/۸۳۸ تا ۰/۹۰۵ با میانگین ۰/۸۶۳ به دست آوردند.

در تحقیق حاضر نیز تعداد الل از ۳ تا ۱۱ با میانگین ۵/۷۳، میانگین درصد چندشکلی ۷۹/۱۲، شاخص چندشکلی از ۰/۱ تا ۰/۵ با میانگین ۰/۳۱، شاخص مارکری از ۰/۷۴ تا ۵/۴۹ با میانگین ۱/۸۶ مشاهده شد که با نتایج ارائه همخوانی داشت.

در کل نتایج مختلفی در مورد چندشکلی و شاخص چندشکلی گزارش شده است مثلاً پژمان مهر و همکاران (Pejmanmehr et al., ۲۰۰۹)، میانگین ۱۳/۶۶ الل در زیره سیاه، ضابطی و همکاران (Zabeti et al., ۲۰۱۳)، میانگین ۱۰/۱۱ الل در آویشن، دهقان کوهستانی و همکاران (Dehghan-kohestani et al., ۲۰۰۸) از ۱۷ تا ۳۳ در زیره، بهرامی-نژاد و همکاران (Bahraminejad et al., ۲۰۱۲)، شاخص چندشکلی را در زیره سبز از ۰/۰۷۵ تا ۰/۳۷، بریان و همکاران (Bryan et al., ۱۹۹۷)، میانگین ۰/۵۱، ماکافری و همکاران (Maccaferri et al., ۲۰۰۳) از ۰/۰۷ تا ۰/۸ و با میانگین ۰/۵۶، پراساد و همکاران (Prasad et al., ۲۰۰۰) فقط برای موتیف‌های دی نوکلئوتیدی و فیزو و همکاران (FeiZho et al., ۲۰۰۳) از ۰/۴ تا ۱ و با میانگین ۰/۸۳۳ گزارش داده‌اند. بر اساس آنچه که ارائه شد شاخص چندشکلی نمی‌تواند عدد ثابتی داشته باشد و بستگی به عواملی مثل تعداد الل تولیدی توسط هر جایگاه و تعداد ژنوتیپ دارد (Prasad et al., ۲۰۰۰; Fazeli-nasab and naghavi, ۲۰۱۱). به طوری که رودر و همکاران (Roder et al., ۱۹۹۵) میانگین محتوای چندشکلی را در تحقیقی با ۱۸ ژنوتیپ و ۱۵ آغازگر در گندم را ۰/۶۳ و همین میزان را زمانی که تعداد ژنوتیپ‌ها ۶ عدد بود ۰/۵۴ به دست آوردند (Prasad et al., ۲۰۰۰).

مادری و یا دهنده ژن انتخاب و پایه دیگر را از جمعیت‌های مناطق بروجرد، قم و بشرویه انتخاب کرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه ایران یکی از خاستگاه‌ها و مناطق رشد و رویش زنیان است (Fazeli-Nasab and Fooladvand, ۲۰۱۶) در نتیجه انتظار می‌رود در این کشور تنوع بین و درون جمعیت‌های مختلف زنیان زیاد باشد که نتایج این تحقیق نیز همین اطلاعات را نشان داد. با توجه به اینکه در هر دو روش جاگرد و نی و لی جمعیت‌های زنیان خراسان جنوبی (بشرویه و سربیشه) با هم در یک گروه مجزا قرار گرفتند و همچنین جمعیت‌های استان یزد (صدوق و دو جمعیت شاهده) با هم در یک گروه گرفتند که نشان‌دهنده خصوصیات نزدیک این جمعیت‌ها بوده است؛ و از طرفی بر اساس هر دو روش محاسبه ماتریس تشابه نی و لی (Nei and Li, ۱۹۷۹) و جاگرد (Jaccard, ۱۹۱۲) کمترین میزان تشابه مربوط به ژنوتیپ‌های زنیان اردبیل با زنیان بروجرد، قم و بشرویه بوده در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی زنیان بهتر است جمعیت اردبیل به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب و پایه دیگر را از جمعیت‌های مناطق بروجرد، قم و بشرویه انتخاب شود.

جمعیت‌ها ۱۵ درصد بود. وجود تنوع بالا درون جمعیت در گیاهان دیگر با استفاده از نشانگر RAPD (شباهت بیشتر گونه *M. piperita* را با گونه *M. aquatica*) (Momeni et al., ۲۰۰۶) و نشانگر ISSR (Bahari et al., ۲۰۱۵)، لاله واژگون (Momeni et al., ۲۰۱۳)، نعنای (Rodrigues et al., ۲۰۱۳) و مرزه (Kameli et al., ۲۰۱۳) گزارش شده است

از عوامل مؤثر در توجیه تنوع بیشتر درون جمعیت مواردی از جمله خودگشن بودن گیاه، یک‌ساله بودن، ازدیاد با بذر، تعداد مکان‌های اللی موردبررسی، موقعیت اللی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه جمعیت را می‌توان ذکر نمود (Pejmanmehr et al., ۲۰۰۹) بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی، تلاقی خویشاوندی، مهاجرت و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (Mohammadi and Prassana, ۲۰۰۳)

قرار گرفتن نمونه‌های جمع آوری شده از مناطق جغرافیایی مختلف در خوشه‌های یکسان می‌تواند نشانه‌ای از تشابه ژنتیکی و یا تبادل فیزیکی بذر بین مناطق مختلف باشد که تفسیر آن بر اساس تبادلات فیزیکی نسبت به تشابهات ژنتیک توجیه‌پذیری بیشتری دارد (Bahari et al., ۲۰۱۵).

با توجه به اینکه فاصله ژنتیکی بیشتر در هنگام تلاقی جمعیت‌ها یا لاینها، سبب افزایش مکان‌های ژنی هتروزیگوت و بالا بردن احتمال اثر هتروزیس می‌شود (Drinic et al., ۲۰۰۲; Olfati et al., ۲۰۱۲)؛ و از طرفی فاصله ژنتیکی ممکن است با صفات مطلوب مرتبط باشد در نتیجه می‌توان پس از بررسی‌های بیشتر، از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد (Bahari et al., ۲۰۱۵). لذا بر این اساس چون کمترین میزان تشابه مربوط به ژنوتیپ‌های زنیان اردبیل با زنیان بروجرد، قم و بشرویه بوده در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی زنیان بهتر است جمعیت اردبیل به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا

Human Genetics. ۳۲: ۳۱۴-۳۳۱.

Bryan, G.J., Collins, A.J., Stephanson, P., Orry, A., Smith, J., B. and Gale, M.D. (۱۹۹۷). Isolation and characterisation of microsatellite from hexaploid bread wheat. Theoretical and Applied Genetics, ۹۴: ۵۵۷-۵۶۳

Chattopadhtay, D. and sharma, A.K. (۱۹۹۰). Chromosome studies and estimation of nuclear DNA in different varieties of cuminum cyminum and carum copticum. Cytologia, ۵۵(۴): ۶۳۱-۶۳۸.

Dehghan-kohestani, S., Amin-Baghizadeh, A., Ranjbar, G.A., Babaeian-jelodar, N. (۲۰۰۸). Genetic diversity of germplasm cuminum [Bunium persicum (Boiss.) B. Fedtsch.] Kerman province using molecular markers RAPD. Quarterly Scientific-Research Medicinal and Aromatic Plants of Iran, ۲۴ (۴): ۴۲۷-۴۱۴.

Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. (۱۹۹۳). A plant DNA miniprep: version II. Plant Molecular Biology Reporter. ۱: ۱۹-۲۲.

Drinic, M.S., Trifunovic, S., Drinic, G and Konstantinov, K. (۲۰۰۲). Genetic divergence and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR-based markers. Maydica, ۴۷: ۱-۸.

Echeverrigaray, S. and Agostini, G. (۲۰۰۶). Genetic relationship between commercial cultivars and Brazilian accessions of Salvia officinalis based on RAPD markers. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, ۸: ۱۳-۱۷.

Fazeli-nasab, B and Naghavi, M.R. (۲۰۱۱). Identification of Rust resistance among wheat cultivars by using SSRs markers. Journal of Agronomy science ۴(۵): ۸۱-۸۸.

Fazeli-nasab, B. Fooladvand, Z. (۲۰۱۶). A Review on Iranian Carum copticum (L.): Composition and Biological Activities. European journal of medicinal plants ۱۲(۱): ۱-۸

Fazeli-Nasab, B., Mehrabi, A.A., Izadi-Darbandi, A. (۲۰۱۰). Genetic diversity of some wheat cultivars using SSRs and storage Proteins. Journal of Modern Genetic ۵(۲): ۸۱-۹۳.

FeiZho, H., Zhong-Wen, X. Song, G. (۲۰۰۳). Microsatellite analysis of genetic diversity and

منابع

Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. (۲۰۰۸). Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant cell reports, ۲۷(۴): ۶۱۷-۶۳۱.

Agrama, H.A. and Tuinstra, M.R. (۲۰۰۳). Phylogenetic diversity and relationship among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. African journal Biotechnology. ۲(۱۰): ۳۳۴-۳۴۰.

Alamdary, S.B.L., Safarnejad, A. and Nematzadeh, G.A. (۲۰۱۲). Using RAPD marker for genetic diversity assessment of several Thymus Species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, ۲۰ (۲): ۲۰۱-۱۹۲.

Alikhani, L., Rahmani, M.S., Shabanian, N. and Badakhshan, H. (۲۰۱۴). Genetic diversity assessment of Quercus infectoria and Q. libani populations in North-Zagros forests based on ISSR and IRAP markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research ۲۲(۱): ۷۹-۹۰.

Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D. and Sorrells, M.E. (۱۹۹۳). Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome, ۳۶: ۱۸۱-۱۸۶.

Bahari, Z., Shojaeiyan, A., Rashidi Monfared, S., Mirshekari, A., Nasiri, K. and Amiriyani, M. (۲۰۱۵). Investigation of Genetic Diversity among Some Iranian Dill (Anethum graveolens L.) Landraces, Using ISSR Markers. Journal of Plant Genetic Research ۲(۱): ۱۱-۲۲

Bahraminejad, A., Mohammadi-Nejad, G., Kadir, M.A. and Yusop, M.R.B. (۲۰۱۲). Molecular diversity of Cumin (Cuminum cyminum L.) using RAPD markers. Australian journal of crop science. ۶(۲): ۱۹۴-۱۹۹

Bharmauria, V., Narang, N, Verma, V. and Sharma, S. (۲۰۰۹). Genetic variation and polymorphism in the Himalayan nettle plant urtica dioica based on RAPD marker. Journal of Medicinal Plants Research. ۳. ۱۶۶-۱۷۰.

Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (۱۹۸۰). Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. American Journal of

- and Cheghamirzaei, K. (۲۰۱۳). Studying of genetic diversity in some population of *Fritillaria imperialis* L. in Iranian Zagros region using ISSR marker and morphological traits. Iranian journal of horticulture ۴۴(۱): ۶۱-۷۲.
- Momeni, S., Shiran, B. and Razmjoo, K. (۲۰۰۶). Genetic variation in Iranian Mints on the bases of RAPD data. Acta Biologica Szegediensis, ۵۵: ۲۲۷- ۲۳۰.
- Nei, N. and Li, W. (۱۹۷۹). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. Proceedings of the National Academy of Sciences, ۷۶:۵۲۶۹-۵۲۷۳.
- Nie, M. (۱۹۷۳). Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the national academy of sciences of USA, ۷۰(۱۲): ۳۳۲۱-۳۳۲۳.
- Olfati, J.A., Samizade, H., Peyvast, G.A., Rabiei, B. and Khodaparast, S.A. (۲۰۱۲). Relationship between genetic distance and heterosis in cucumber. International Journal of plant breeding, ۶: ۲۱-۲۶.
- Pasqualone A., Lotti C. and Blanco A. (۱۹۹۹). Identification of durum wheat cultivars and monovarietal semolinas by analysis of DNA microsatellites. Eur Food Res Technol ۲۱۰:۱۴۴-۱۴۷.
- Pejmanmehr, M., Hasani, M.A., Fakhr-Tabatabai, S.M., Hadian, J. (۲۰۰۹). Genetic diversity and segregating of populations Zyrh English (*Bunium persicum* (Boiss) using molecular markers RAPD. Journal of Environmental Sciences, ۷ (۲): ۷۶-۶۳.
- Petrovicova, L., Balazova, Z., Galova, Z., Wojcik-Jagla, M., Rapacz, M. (۲۰۱۴). RAPD Analysis of the Genetic Polymorphism in the Collection of Rye Cultivars. International Journal of Biological, Bio molecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering ۸(۷): ۶۶۴-۶۶۸.
- Prasad, M., Varsheny, R. K., Roy, J.K., Balyan, H.S. and Gupta, P.K. (۲۰۰۰). The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. Theoretical Applied Genetic. ۱۰۰: ۵۸۴-۵۹۲.
- Rao, R.V. and Hodgkin, T. (۲۰۰۲). Genetic population genetic structure of wild rice (*oryza rufipogon griff*) in china. Theoretical and Applied Genetics, ۱۰۷: ۳۳۲ - ۳۳۹.
- Gautam Murty, S., F. Patel, B. S. Punwar, M. Patel, A. S. Singh, and R. S. Fougat. (۲۰۱۲). Comparison of RAPD, ISSR, and DAMD Markers for Genetic Diversity Assessment between Accessions of *Jatropha curcas* L. and Its Related Species. Journal of Agricultural Science and Technology. ۱۵: ۱۰۰۷-۱۰۲۲.
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W. (۱۹۹۶). Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. Philosophical Transaction of the Royal Society of London B Series: Biological Science ۳۵۱: ۱۲۹۲-۱۲۹۸.
- Hashemi, H., Safarnejad A. and Bagheri, A. (۲۰۱۰). The use of RAPD marker assessing the genetic diversity of *Bunium persicum* B. Fedtsch populations. International Journal of Science and Nature. ۱: ۲۰۲-۲۰۸.
- Jaccard, P. (۱۹۱۲). The distribution of flora in the alpine zone. The New Phytologist, ۱۱(۲): ۳۷-۵۰.
- Kameli, M., Hesamzadeh, H.S.M. and Ebadi. M. (۲۰۱۳). Assessment of genetic diversity on populations of three satureja species in Iran using PCR markers. Annals of Biological Research, ۴: ۶۴-۷۲.
- Khaled, A.G.A., Motawea, M.H., Said, A.A. (۲۰۱۵). Identification of ISSR and RAPD markers linked to yield traits in bread wheat under normal and drought conditions. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology ۱۳: ۲۴۳-۲۵۲.
- Lewontin, R.C. (۱۹۷۲). The apportionment of human diversity. Evolutionary Biology Journal, ۶(۳۸): ۳۸۱-۳۹۸.
- Maccaferri, M.M.C., Sanguineti, P.D. and Tuberosa, R. (۲۰۰۳). Microsatellite analysis reveals a progressive widening of the genetic basis in the elite durum wheat germplasm. Theoretical Applied Genetic. ۱۰۷: ۷۸۳-۷۹۷.
- Mohammadi, S.A. and Prassana, B.M. (۲۰۰۳). Analysis of genetic diversity in crop plants-Salient statistical tools and considerations. Crop Science, ۴۳: ۱۲۳۵-۱۲۴۸.
- Momeni, H., Shiran, B., Khodambashi, M.

botany, ۴۷(۴): ۱۳۴۱-۱۳۴۵, ۲۰۱۵.

Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (۱۹۹۰). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, ۱۸(۲۲): ۶۵۳۱-۶۵۳۵.

Zabeti, S.M., Ismaeili, A., Madah-arefi, H., Nazaryan-firouzabadi, F., Rezaeinezhad, A., Mojori, F. (۲۰۱۳). Genetic diversity thyme, *Thymus Pubescens* based on indicator species RAPD. *New Journal of Cellular and Molecular Biology Biotechnology*, ۴ (۱۳): ۳۱-۳۵

Zoghalmi, N., Chrita, I., Bouamama, B., Gargouri, M., Zemni, H., Ghorbel, A. and Mliki, A. (۲۰۰۷). Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (*Opuntia ficus indica* (L.) Mill) in Tunisia. *Scientia Horticulturae*. ۱۱۳: ۱۳۴-۱۴۱.

total genetic variation existed between and within growing regions, respectively. Cluster analysis based on Nei and Li and Jaccard similarity matrix and UPGMA method showed an average relationship between genetic distance and the geographical grouping of Ajowan.

diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. ۶۸: ۱-۱۹.

Rauf, R., Dasilva J.A.T., Khan A.A. and Naveed A. (۲۰۱۰). Consequence of plant breeding on genetic diversity. *International Journal of Plant Breeding*, ۴: ۱-۲۱.

Roder, M.S., Plaschke, J., König, S.U., Börner, A. and Sorrells, M.E. (۱۹۹۵). Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*. ۲۴۶:۳۲۷-۳۳۳.

Rodrigues, L., Póvoa, O., Den, C., Ana, B., Figueiredo, C., Moldão, M. and Monteiro, A. (۲۰۱۳). Genetic diversity in *Mentha cervina* based on morphological traits, essential oils profile and ISSRs markers. *Biochemical Systematic and Ecology*, ۵۰-۵۹.

Rohlf, F. J. (۲۰۰۲). Introduction to the exploration of multivariate biological data. *Quarterly Review of Biology*, ۷۷:۵۰-۵۱.

Saini, M., Singh, S., Hussain, Z., Sikka, V.K. (۲۰۱۰). RAPD analysis in mungbean [*Vigna radiata* L.] Wilczek.] II: A comparison of efficiency parameters of RAPD primers. *Indian journal of biotechnology* ۹: ۲۷۶-۲۸۲.

Senior, M.L., Mutphy, J.P., Goodman, M.M. and Stuber, C.W. ۱۹۹۸. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci* ۳۸:۱۰۸۸-۱۰۹۸.

Solouki, M., Hoseini, S.B., Siahshar, B.A. and Tavassoli, A. (۲۰۱۲). Genetic diversity in dill (*Anethum graveolens* L.) populations on the basis of morphological traits and molecular markers. *African Journal of Biotechnology*, ۱۱: ۳۶۴۹-۳۶۵۵.

Suresh, S., Chung, J.W., Sung, J. S., Cho, G.T., Park, J.H., Yoon, M.S., Kim, C.K. and Baek, H.J. (۲۰۱۲). Analysis of genetic diversity and population structure of ۱۳۵ dill (*Anethum graveolens* L.) accessions using RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, ۶۰: ۸۹۳-۹۰۳.

Vivodik, M., Balazova, Z., Galova, Z., Hložakova, T. (۲۰۱۵). Differentiation of rice using RAPD markers. *Pakistan journal of*

Genetic diversity of som population of medicinal Ajowan (*Carum copticum*) using RAPD marker

Ali Sargazi¹. Baratali Fakheri². Mahmoud Soloki³. Bahman Fazeli-Nasab^{4*}

¹ - Ph.D Student of Plant Breeding, university of Zabol

² - Professor, Dep. Of breeding and Biotechnology, univeisity of Zabol, Zabol, Iran

³ - Assosicat prodessor, Dep. Of breeding and Biotechnology, univeisity of Zabol, Zabol, Iran

⁴ - Faculty Scientific member, Center of Agricultural Research, University of Zabol, Zabol, Iran

*Corresponding Authir: Bfazeli@uoz.ac.ir

Abstract

To evaluate the genetic diversity of fifteen ajowan population, 10 RAPD primer(s) were used. Minimum allele (4) were dectected in TIBMBC02, TIBMBA06 and TIBMBC06 primers and maximum (11) in TIBMBC09 primer. The highest diversity index (0.9) was belong to TIBMBC09 primer and the lowest (0.4) blong to TIBMBC12 Primer, The highest Marker Index (9.07) was belong to TIBMBA09 and the lowest (1.63) belong to TIBMBA06, the most Ne allele, Shanon diversity and Nei diversity (1.9, 0.673 and 0.48 respectively) was belone to TIBMBA12 primer and the lowest Ne allele, Shanon diversity and Nei diversity (1.10, 0.208 and 0.134 respectively) was belone to TIBMBA09 primer. On the basis of the Nei and Li and Jaccard similarity, The lowest similarity was belong to *C. copticum* of Ardabil with Boroujerd, Qom and Boshrooyeha. Partitioning variations within and between populations, using an analysis of molecular variance (AMOVA), showed that 10% and 80% of the total genetic variation existed between and within growing regions, respectively. Cluster analysis based on Nei and Li and Jaccard similarity matrix and UPGMA method showed an avegrage relationship between genetic distance and the geographical grouping of Ajowan.

Key words: genetic diversity, Genetic similarity, RAPD, PCR, Ajowan