ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های ایرانی و ژنوتیپهای خارجی گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD

محمود قربانزاده نقاب* و رحیم افضل

مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، مجتمع آموزش عالی شیروان

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۴

چکیده

ایران به عنوان یکی از مراکز اولیه پیدایش گلرنگ شناخته شده است. بنابر این تشخیص تنوع ژنوتیپهای گلرنگ برای نگهداری منابع ژنتیکی و کاربرد علمی و عملی این مواد در برنامه‌های به‌نژادی برای اصلاحگران می‌تواند مفید باشد. این تحقیق به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۲۴ ژنوتیپ گلرنگ از ژرم پلاسم بین المللی، توده های بومی ایران و گلرنگ وحشی با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD انجام شد. نتایج نشان داد که تنوع بالایی برای صفات مورفولوژیک در ژنوتیپهای گلرنگ مورد بررسی وجود دارد که می‌توان از این تنوع برای برنامه‌های اصلاحی گلرنگ جهت افزایش عملکرد دانه به نحو شایسته استفاده کرد. در بررسی توسط ۱۱ نشانگر مولکولی RAPD از میان ۱۴۲ باند تکثیر یافته، تعداد ۸۴ باند، چندشکلی نشان دادند (۵۷/۷درصد). نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشانگر مولکولی نشان داد که این نشانگر قادر به تشخیص ژنوتیپها از یکدیگر است. توده‌های ایرانی در اکثر گروهها حضور داشتند که این امر دلیل بر تنوع بالا در توده‌های بومی ایران و همچنین کاندید بودن این منطقه به عنوان یکی از خاستگاههای اصلی برای ژرم‌پلاسم گلرنگ است. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده توأم از نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی جهت برنامه‌های اصلاحی گلرنگ به خصوص انتخاب والدین جهت تلاقی مفید می‌باشد و نشانگر مولکولی RAPD کارآیی لازم را برای مطالعه تنوع ژنتیکی و مدیریت ژرم‌پلاسم گلرنگ دارد. همچنین توصیه می‌شود از توده‌های بومی گلرنگ زراعی و وحشی ایران به عنوان یک منبع غنی ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی گلرنگ استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: گلرنگ،صفات مورفولوژیکی،تنوع ژنتیکی و RAPD

* نویسنده مسئول، تلفن ۰۵۸۳۶۳۵۳۶۶۰ ، پست الکترونیکی: ghorbanzadeh@um.ac.ir

مقدمه

گلرنگ با نام علمی (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از گیاهان دانه روغنی است که دارای 2n=۲۴ کروموزوم می باشد (۴۵). این گیاه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان شناخته شده نزد انسان است و سالیان درازی است که به طور گسترده در خاور میانه مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. ایران به عنوان یکی از مراکز اولیه پیدایش گلرنگ شناخته شده است، بنابر این به نظر می‌رسد که در کشور ایران ذخیره ژرم پلاسم قوی و غنی، از این گیاه وجود داشته باشد(۱۸). تنوع ژنتیکی پایه و اساس گزینش فنوتیپی، ژنوتیپی و اصلاح کمی وکیفی گونه‌های گیاهی است (۲۰). بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های زراعی و وحشی از جمله کارهایی است که برای شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی، توسط متخصصین اصلاح نباتات انجام می‌گیرد(۲۷). آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی ضمن حفاظت ذخایر ژنتیکی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه اصلاحی ممکن می‌سازد(۱۳و۲۷). از بین رفتن توده‌های بومی و تولید ارقام یکنواخت، باعث کاهش تنوع ژنتیکی و

افزایش فرسایش ژنتیکی می‌شود. بنابر این ارزیابی تنوع گونه‌های گیاهی برای نگهداری منابع ژنتیکی و کاربرد علمی و عملی این مواد در برنامه‌های به‌نژادی برای اصلاحگران امری حیاتی است. تخمین تنوع ژنتیکی لاینهای مناطق مختلف جغرافیایی اطلاعات با ارزشی را درباره نگهداری و استفاده از ژرم پلاسم دست نخورده موجود در هر منطقه در اختیار اصلاحگران قرار می‌دهد تا از این تنوع جهت افزایش کارآیی صفات کیفی و کمی و افزایش عملکرد استفاده کنند(۲۴و۴۰).

عمده‌ترین هدف تحقیق در گلرنگ، اصلاح برای عملکرد دانه و پایداری آن در مناطق زیر کشت آن است(۴۳). اولین گام در اصلاح گلرنگ داشتن جمعیتی با تنوع بالا است، تا بتوان از داخل آن انتخاب مناسبی انجام داد. انتخاب ارقام مطلوب و تعیین روابط مابین صفات و میزان وراثت‌پذیری صفات از جمله مواردی هستند که به اصلاحگر این توانایی را می‌دهد که مناسب‌ترین و منطقی‌ترین نسبت بین اجزاء را که منتهی به عملکرد بیشتر می‌گردد، انتخاب نماید. اصلاحگران معمولاً از صفات مورفولوژیکی به عنوان معیارهای گزینش جهت بهبود عملکرد استفاده می نمایند(۱۸و۴۵).

سعیدی و همکاران(۶) گزارش نمودند که صفات عملکرد دانه، تعداد دانه در طبق دارای بیشترین تنوع و صفات تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی و تعداد روز تا رسیدگی دارای کمترین تنوع هستند. خان و همکاران (۲۳) تنوع ژنتیکی گسترده‌ای برای صفات مختلف از جمله عملکرد دانه ، ارتفاع بوته، تعداد روز تا رسیدگی و همچنین سایر اجزای عملکرد مشاهده کردند. جارادات و شهیدی (۲۱) میزان تنوع ژنتیکی هفت صفت مورفولوژیکی را در ارقام گلرنگ را بین ۵۰-۱۴ درصد گزارش نمودند. الفدل و همکاران (۱۹) در بررسی ۲۰۰ ژنوتیپ گلرنگ نشان دادند که ضریب تنوع برای ۱۲ صفت فنوتیپی اندازه‌گیری شده بین ۹/۲ تا ۹۱ درصد بود. قابلیت توارث صفات بین ۱۰ درصد و ۸۶ درصد اندازه‌گیری شد. پژوهشهای دیگر(۲، ۳۱، ۳۲ و ۳۹) نیز مشخص نمود که توده‌های مختلف گلرنگ از لحاظ اجزای عملکرد دانه دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند.

جهت مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام گیاهی روشهای مختلفی وجود دارد که استفاده از صفات مورفولوژیکی، آیزوزایمی، سیتولوژیکی و نشانگرهای مولکولی نظیر RAPD از روشهای متداول می‌باشند. هر یک از این تکنیکها دارای مزایا و معایب خاص خود بوده و برای بررسی تنوع ژنتیکی، می‌توان همزمان از دو یا چند نشانگر استفاده نمود(۲۸و۴۴). در روشهای به نژادی کلاسیک ، گزینش والدین برای تلاقی بر اساس صفات مورفولوژیکی ممکن است از کارآیی زیادی برخوردار نباشد، چنانچه بتوان گزینش ژنوتیپها را از طریق نشانگرهایDNA انجام داد، کارآیی گزینش والدین افزایش قابل ملاحظه‌ای خواهد داشت(۴۳). با وجود گستردگی نشانگرهای مختلف DNA و ابداع روشها و تکنیکهای جدیدتر، نشانگر RAPD به علت مزایایی چون تولید تعداد زیادی باند، چند شکلی زیاد، عدم استفاده از مواد رادیو اکتیو، کم هزینه و پیچیدگی کمتر آن، هنوز در بررسی تنوع ژنتیکی مخازن ژنی، نسبت به سایر نشانگرها بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد(۱۰و۱۲). تنوع ژنتیکی در گلرنگ با استفاده از صفات مورفولوژیک توسط اشری و همکاران(۱۶)، خان و همکاران(۲۳)، سنگام و همکاران(۴۰) ، سعیدی و همکاران(۶)،صفوی و همکاران(۳۷) و سگال و همکاران(۴۲) مورد بررسی قرار گرفته است.

استفاده توأم از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD در بررسی تنوع ژنتیکی برخی از گیاهان ازجمله زیتون (۱)، گیلاس(۴)، گندم(۵)، جو(۲۲)، نخود(۸) و ژرم‌پلاسم گلرنگ (۷، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۲۳ و ۳۷) مورد استفاده قرار گرفته است. معالی امیری و همکاران(۱۱)در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گلرنگ توسط صفات مورفولوژیک و

نشانگر RAPD گزارش نمودند که تنوع ژنتیکی بالایی برای هر دو نشانگر وجود دارد و بین تنوع ژنتیکی با مناطق جغرافیایی تطابقی وجود ندارد. امینی و همکاران (۱۴) تنوع ژنتیکی ژنوتیپهای گلرنگ را با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک وRAPD مورد ارزیابی قرار دادند و میـــزان پلـــی‌مورفیسم بالایی را برای هر دو نشانگر به دست آوردند. همان طور که ذکر شد ایران از لحاظ ذخایر ژنتیکی گلرنگ یکی از غنی‌ترین مناطق جهان به شمار می رود(۱۶و۲۴) بنابر این شناخت ویژگی ژنوتیپهای گلرنگ بومی ایران و مقایسه آنها با ارقام خارجی، امکان بهره‌گیری بهتر و بیشتر از این منابع متنوع ژنی در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به تحقیقات اندک در خصوص لاینهای موجود در ژرم‌پلاسم گلرنگ، در این مطالعه از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی RAPD برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۴ ژنوتیپ گلرنگ از ژرم پلاسم بین المللی، توده‌های بومی ایران و گلرنگ وحشی جهت استفاده در برنامه های آتی به‌نژادی گلرنگ استفاده شد.

مواد و روشها

در این مطالعه ۲۴ ژنوتیپ مختلف شامل۷ توده ایرانی، ۱۶ ژنوتیپ خارجی و یک توده وحشی گلرنگ انتخاب شدند(جدول۱). ژنوتیپهای زراعی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه آموزشی ـ پژوهشی دانشکده کشاورزی شیروان کشت شدند. از هر تیمار سه خط به طول ۳/۵ متر کشت گردید. فاصله ردیفها از یکدیگر ۵۰ سانتیمتر و فاصله بین بوته ها ۱۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. صفات مورفولوژیک شامل تعداد روز تا شروع گلدهی، تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز تا اتمام گرده افشانی، ارتفاع گیاه(سانتیمتر)، ارتفاع اولین شاخه فرعی(سانتیمتر)، تعداد شاخه های ثانویه، زاویه شاخه‌های فرعی(درجه)، تعداد طبق در گیاه، تعداد دانه در طبق، وزن صد دانه(گرم)، درصد روغن، درصد پوسته و عملکرد دانه(کیلوگرم در هکتار) اندازه گیری شد. میانگین ۱۰ بوته در هر کرت برای هر صفت اندازه‌گیری و ثبت گردید (بذر کافی برای کاشت و ثبت اطلاعات مورفولوژیکی ژنوتیپ وحشی در دسترس نبود). روغن موجود در نمونه ها به روش سوکسله و با حلال هگزان بر اساس روش AOAC (۱۵) استخراج شد.

استخراج DNA: بذور **۲۴** ژنوتیپ در گلدانهای جداگانه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی کشت شدند و برگهای گیاهچه‌های ۱۰-۸ هفته‌ای برای استخراج DNA, مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج DNA ژنومی ژنوتیپها با استفاده از روش سقایی معروف و همکاران (۳۸) انجام شد. به منظور ایجاد یکنواختی در DNAهای مورد بررسی، غلظت اولیه DNA الگو با استفاده از نانودراپ و الکتروفورز در ژل آگاروز یک درصد، تعیین و بهینه شدند. برای بررسی چند شکلی DNA ژنوتیپهای گلرنگ ۲۷ آغازگر تصادفی ده نوکلوتیدی RAPD استفاده شد. بعد از بررسی باندهای تولید شده، در نهایت ۱۱ آغازگر برای مطالعه همه ژنوتیپها انتخاب شدند. اجزای هر واکنش زنجیره پلیمراز شامل ۲ میکرو لیتر DNA (۳۰ نانو گرم)، ۲/۵ میکرو لیتر از PCR buffer 10X ، ۱/۲۵ میلی مول MgCl2 ، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs ، یک میکرولیتر آغازگر به غلظت ۱۰ پیکومول و یک واحد آنزیم Taq DNA polymerase بود. حجم محلول واکنش جهت انجام PCR با آب مقطر استریل شده به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش PCR در دستگاه ترمال سایکلر (Bio-Rad, USA) تحت برنامه‌ای شامل، یک چرخه چهار دقیقه ای در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد برای واسرشت سازی اولیه و سپس تعداد ۴۰ چرخه شامل واسرشت سازی در دمای ۹۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگر در دمای مناسب (۳۵ درجه سانتی گراد) به مدت یک دقیقه، مرحله گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه و در نهایت یک چرخه۱۰دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای تکمیل گسترش نهایی انجام شد.

محصولات تکثیر شده توسط ژل آگارز ۱/۲ درصد تفکیک و توسط دستگاه ژل داک عکس برداری شد. درصد ضریب تنوع فنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی از روابط ذیل محاسبه شد.

$$PCV = \frac{\sqrt{\sigma_p^2}}{\bar{X}} \times 100$$

$$h^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2/r}$$

h^2 وراثت پذیری عمومی، σ_g^2 واریانس ژنتیکی، σ_e^2 برآوردی از واریانس محیطی و r تعداد تکرار می‌باشد.

گروه‌بندی داده‌های مورفولوژیکی بر اساس فاصله اقلیدسی و روش UPGMA با نرم افزار Statistica ver. 5.1 صورت گرفت. امتیازدهی باندها و تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA بر روی تصاویر تهیه شده از ژلهای رنگ آمیزی شده توسط نرم افزار Lab Work و ویرایش دستی انجام شد. وجود باند با (۱) و فقدان آن با (۰) امتیازدهی شد. تجزیه خوشه ای بر اساس ضریب تشابه نی(۲۹) و روش UPGMA توسط نرم افزار NTSYS-pc ver. 2.02 انجام شد(۳۴). تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) با استفاده از نرم افزار GenALEx 6.1 صورت گرفت(۳۳).

جدول ۱- اسامی و منشاء ژنوتیپهای گلرنگ مورد بررسی

شماره	ژنوتیپ	منشاء	شماره	ژنوتیپ	منشاء
۱	Saffire	Canada1	۱۳	Local Isfahan2	Iran4
۲	Lesaf	Canada2	۱۴	Local Marand	Iran5
۳	Noroeste/84/3/CW	Cimmyt1	۱۵	Local Arak	Iran6
۴	CM-106	Cimmyt2	۱۶	IL-111	Iran7
۵	VF-18	Cimmyt3	۱۷	Quiriego-masal-810	Mexic1
۶	5150	Cimmyt4	۱۸	Sahuaripa-88	Mexic2
۷	CW-88	Cimmyt5	۱۹	Bacum92	Mexic3
۸	PI-250536	Eygpt1	۲۰	Syrian	Syrian
۹	PI-250537	Eygpt2	۲۱	Hartman	USA1
۱۰	Local Ghochan1	Iran1	۲۲	Finch	USA2
۱۱	Local Ghochan2	Iran2	۲۳	Dincer	USA3
۱۲	Local Isfahan1	Iran3	۲۴	*C. oxycantha*	Wild (Iran)

نتایج و بحث

تجزیه داده‌های مورفولوژیکی: نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی نشان داد که تنوع بالایی برای صفات مورفولوژیک در ارقام گلرنگ مورد بررسی، به خصوص توده های ایرانی وجود دارد(داده ها آورده نشده‌اند). بر اساس ضرایب تنوع فنوتیپی، صفات تعداد دانه در طبق، عملکرد دانه، تعداد طبق در گیاه، ارتفاع اولین شاخه فرعی، وزن صد دانه و درصد پوسته تنوع بالایی دارند و صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌های فرعی و درصد روغن دارای تنوع متوسطی هستند (جدول۲). وجود دامنه وسیع و همچنین ضرایب تنوع فنوتیپی بالا برای صفات مختلف نشان دهنده تنوع بالا بین ژنوتیپهای مورد مطالعه (به ویژه توده‌های ایرانی) است که می‌تواند کارآیی روشهای اصلاحی را در بهبود این صفات افزایش دهد. وراثت پذیری عمومی بالای صفات وزن صد دانه، تعداد روز از کاشت تا ۵۰ درصد گلدهی، ارتفاع اولین شاخه فرعی، تعداد دانه در طبق، درصد پوسته و درصد روغن بیانگر

این است که تنوع فنوتیپی در این صفات بیشتر تحت کنترل عوامل ژنتیکی است. وجود تنوع ژنتیکی و وراثت پذیری بالا برای صفات سبب افزایش بازده ناشی از گزینش در بهبود این صفات خواهد شد. وراثت پذیری عمومی عملکرد دانه برابر با ۳۷/۸ درصد است. مقدار وراثت‌پذیری نسبتاً پایین عملکرد دانه نسبت به سایر صفات به دلیل ماهیت چند ژنی این صفت، اثرات محیطی و اثرات متقابل ژنوتیپ با محیط بر روی این صفت است. اختلاف در میزان وراثت‌پذیری در منابع و پژوهشهای مختلف مؤید این است که محاسبه وراثت پذیری هر مجموعه از ژنوتیپها باید جداگانه انجام شود.

همبستگی بین صفات مورد بررسی بین۰/۹۹۳ و ۰/۰۱۷ به دست آمد (جدول۳). عملکرد دانه مهم ترین صفت در برنامه‌های اصلاحی بوده و صفاتی که در ارتباط با عملکرد هستند، حائز اهمیت می‌باشند. عملکرد دانه با تعداد طبق در بوته همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد در حالی که همبستگی عملکرد دانه با صفات تعداد روز تا شروع گلدهی،۵۰ درصد گلدهی و رسیدگی منفی بود. لذا با گزینش برای افزایش صفت تعداد طبق در بوته و کاهش تعداد روز تا۵۰ درصد گلدهی و رسیدگی می‌توان عملکرد دانه لاینها را افزایش داد. افزایش تعداد طبق در بوته، تعداد دانه در طبق، وزن صد دانه و تعداد شاخه فرعی در گیاه می‌تواند به عنوان شاخصهای گزینش برای افزایش عملکرد دانه گلرنگ مد نظر قرار گیرد (۹و۱۴). نتایج این بررسی نشان داد که تنوع بالایی برای صفات مورفولوژیک در ژرم پلاسم گلرنگ وجود دارد (جدول۲). وجود تنوع بالا نشان دهنده بستر مناسب برای کارهای اصلاحی است و پیشنهاد می‌شود که جهت افزایش عملکرد دانه و اجزاء عملکرد دانه گلرنگ از این تنوع به نحو شایسته‌ای بهره برداری گردد.

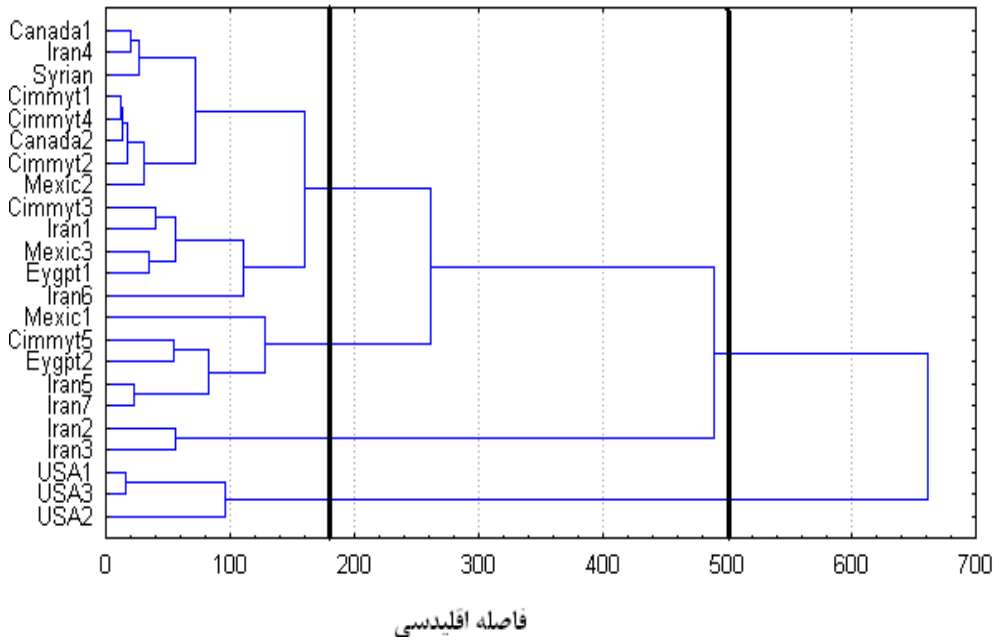
جدول۲- حداقل، حداکثر، میانگین، درصد ضریب تغییرات فنوتیپی، واریانس ژنتیکی و وراثت پذیری عمومی ۱۳ صفت ژنوتیپهای زراعی گلرنگ

صفت	حداقل	حداکثر	میانگین	درصد ضریب تغییرات فنوتیپی	واریانس ژنتیکی σ^2_g	وراثت پذیری عمومی h^2_B(درصد)
تعداد روز تا شروع گلدهی	۸۲/۸	۸۷/۷	۸۵/۷	۱/۵	۰/۹۶	۵۴/۳
تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی	۸۶/۲	۹۱/۷	۸۹/۲	۱/۴	۱/۶۳	۷۶/۲
تعداد روز تا اتمام گرده افشانی	۹۶/۷	۱۰۳/۷	۱۰۱	۱/۶	۱/۵۸	۶۸/۴
ارتفاع گیاه(سانتی متر)	۸۳/۴	۱۰۲/۸	۹۲/۶	۷/۶	۲۶/۵۵	۶۲/۱
ارتفاع اولین شاخه فرعی(سانتی	۴۶/۱	۷۳/۹	۵۷/۹	۱۴/۱	۴۱/۴۷	۷۶/۷
تعداد شاخه های ثانویه	۴/۸	۶/۹	۵/۸	۸/۹	۰/۱۴	۳۶/۵
زاویه شاخه های فرعی(درجه)	۳۴/۸	۴۸/۸	۳۹/۷	۷/۳	۱/۶۹	۲۱
تعداد طبق در گیاه	۷	۱۱/۲	۹/۷	۱۵/۳	۰/۷۵	۴۳/۸
تعداد دانه در طبق	۲۴/۷	۴۲/۹	۳۳	۱۸/۵	۲۰/۱۰	۸۴/۹
وزن صد دانه(گرم)	۳/۵	۵	۴/۳	۱۲/۲	۰/۲۲	۸۷/۲
درصد روغن	۲۳/۵	۳۷/۴	۳۰/۴	۸/۹	۵/۳۳	۷۷/۷
درصد پوسته	۳۱/۳	۵۵	۴۲/۸	۱۲/۶	۲۲/۱۱	۹۱/۵
عملکرد دانه(kg/ha)	۱۴۹۱	۲۶۵۶	۲۰۴۴	۱۴/۲	۱۰۵۹۸	۳۷/۹

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده ۱۳ صفت مورد بررسی ۲۳ ژنوتیپ زراعی گلرنگ

	صفت	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳
۱	تعداد روز تا شروع گلدهی	۱												
۲	تعداد روز تا۵۰٪ گلدهی	۰/۹۹۶**	۱											
۳	تعداد روز تا اتمام گلدهی	۰/۹۹۲**	۰/۹۹۳**	۱										
۴	ارتفاع گیاه(سانتیمتر)	۰/۶۶۳**	+۰/۶۶۷**	۰/۶۶۱**	۱									
۵	ارتفاع اولین شاخه(سانتیمتر)	۰/۷۰۰**	۰/۷۷۶**	۰/۷۶۶**	۰/۸۱۶**	۱								
۶	تعداد شاخه های فرعی	۰/۰۲۱	۰/۰۲۲	۰/۰۲۵	۰/۱۴۹	−۰/۰۶۳	۱							
۷	زاویه شاخه فرعی(درجه)	−۰/۳۰۰*	−۰/۲۹۵*	−۰/۳۰۶*	−۰/۱۵۸	−۰/۱۶۶	−۰/۰۴۷	۱						
۸	تعداد طبق در گیاه	−۰/۱۶۸	−۰/۱۶۷	−۰/۱۳۶	−۰/۰۲۸	−۰/۳۰۴	۰/۳۸۵**	−۰/۲۳۱	۱					
۹	تعداد دانه در طبق	۰/۴۶۹**	۰/۴۷۴**	۰/۴۷۴**	۰/۴۳۵**	−۰/۵۴۳**	۰/۰۳۰	−۰/۱۲۸	۰/۰۶۰	۱				
۱۰	وزن صد دانه(گرم)	−۰/۱۲۳	−۰/۱۳۳	−۰/۱۳۴	−۰/۲۸۹*	−۰/۳۳۲*	۰/۰۱۹	−۰/۰۹۰	۰/۰۲۳	−۰/۴۰۱**	۱			
۱۱	درصد روغن	−۰/۰۷۸	−۰/۰۸۵	−۰/۰۴۱	۰/۰۵۶	−۰/۰۳۲	۰/۲۱۹	−۰/۰۶۵	۰/۱۱۲	۰/۱۳۱	−۰/۰۱۷	۱		
۱۲	درصد پوسته	۰/۳۸۳**	۰/۳۸۶**	۰/۲۵۰	۰/۱۰۷	۰/۲۰۰**	−۰/۱۹۱	−۰/۲۰	−۰/۱۱۹	−۰/۱۳۱	۰/۰۲۹	−۰/۱۹۹	۱	
۱۳	عملکرد دانه (Kg/ha)	−۰/۲۳۹	−۰/۲۴۳	−۰/۲۱۷	−۰/۱۴۰	−۰/۲۱۳	۰/۰۹۵	−۰/۰۲۹	۰/۲۸۶*	−۰/۰۱۷	۰/۰۶۵	−۰/۰۳۱	−۰/۱۸۷	۱

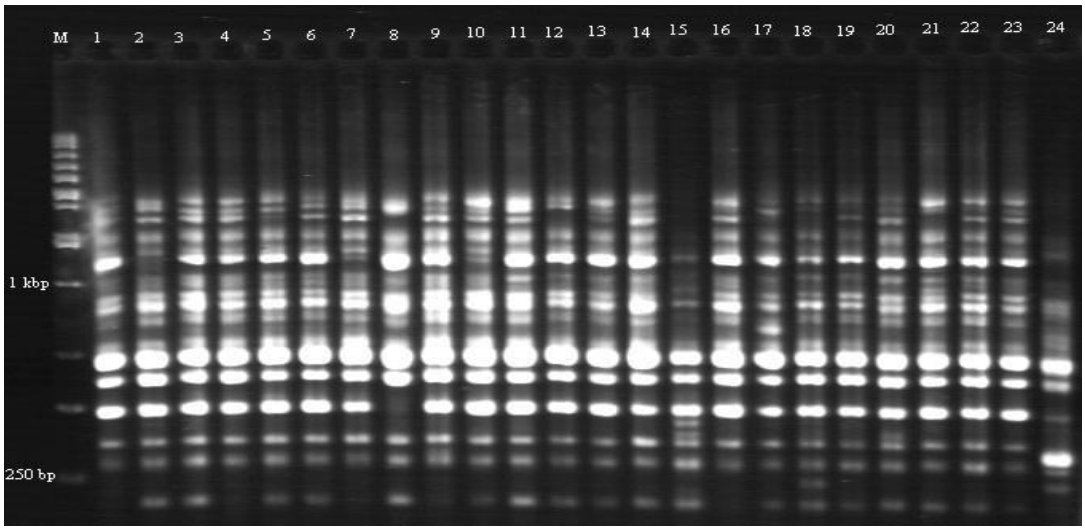
** و* بترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



شکل۱- دندوگرام حاصل از ۱۳ صفت مورفولوژیک ۲۳ ژنوتیپ زراعی گلرنگ بر مبنای فاصله اقلیدسی به روش UPGMA

تجزیه خوشه‌ای براساس صفات مورفولوژیکی در فاصله اقلیدسی۵۰۰ ، ژنوتیپها را به دو گروه کلی تقسیم‌بندی نمود (شکل ۲). سه ژنوتیپ با منشاء امریکا در یک گروه قرار گرفتند و گروه دوم شامل ۲۰ ژنوتیپ از مناطق مختلف بود. با کاهش فاصله اقلیدسی از ۵۰۰ به ۱۸۰، ژنوتیپها به چهار گروه اصلی تقسیم بندی شدند. سه ژنوتیپ از امریکا گروه اول را تشکیل دادند. دو توده محلی از ایران (توده محلی قوچان۱ و اصفهان۲) در گروه دوم حضور داشتند. گروه سوم شامل ژنوتیپهایی از ایران، مصر، سیمیت و ژنوتیپ Quiriego-masal از مکزیک بود. در گروه

چهارم سیزده ژنوتیپ مختلف از شش منطقه جغرافیایی متفاوت شامل مناطق کانادا، سیمیت، مصر، مکزیک، سوریه و ایران بودند. ژنوتیپهای ایرانی در داخل اکثر گروهها حضور داشتند. لذا توصیه می‌شود ضمن استفاده از ژنوتیپهای موجود در ژرم‌پلاسم گلرنگ، استفاده از توده های بومی کشور نیز در برنامه‌های به‌نژادی مد نظر قرار گیرد. گروه‌بندی ژنوتیپها براساس صفات مورفولوژیک نشان داد که صفات مورفولوژیک قادر به تفکیک ژنوتیپهای زراعی مورد مطالعه از یکدیگر نیستند. ابدالی و همکارن(۱) نیز گزارش کردند که شناسایی ارقام توسط صفات مورفولوژیک امکان پذیر نیست. این نتایج با گزارشات سایر محققان(۵،۶،۱۴و۲۵) مطابقت دارد.



شکل ۲- ژل آغازگر UB79، M = سایز مارکر، ۲۳-۱ گلرنگهای زراعی و ۲۴ گلرنگ وحشی(*C. oxycantha*)

گروه‌بندی ژنوتیپهای مناطق مختلف در خوشه‌های متفاوت نشان داد که بین تنوع ژنتیکی و تنوع جغرافیای تطابق خوبی وجود ندارد علت آن را می‌توان به یکسان بودن منشاء آنها و انتقال بذور گلرنگ به مناطق جغرافیایی مختلف نسبت داد. سایر محققان نیز گزارش نمودند که توزیع ژنوتیپها در داخل دسته‌ها با الگوی جغرافیایی مطابقت ندارد (۱۴و۲۵).

تجزیه مولکولی: جهت بررسی چند شکلی مولکولی ۲۴ ژنوتیپ گلرنگ از ۱۱ آغازگر تصادفی ده نوکلئوتیدی دارای چند شکلی بالا استفاده شد. تعداد قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها بین ۸ تا ۱۸ عدد متغیر بود. اندازه قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها در محدوده ۳۵۰۰-۲۵۰ جفت باز بود. ۱۱ آغازگر مذکور مجموعا ۱۴۲ باند تولید کردند که در این بین تعداد ۸۲ جایگاه(۵۷/۷ درصد) چند شکلی نشان دادند. توانایی آغازگرهای مختلف در آشکارسازی چندشکلی در بین ژنوتیپها متغیر بود. در بین آغازگرها، آغازگر UB12 بیشترین چندشکلی(۹۱/۶ درصد) و آغازگر UB25و F189 کمترین چندشکلی(۳۳/۳ درصد) را نشان دادند (جدول۴). نمونه‌ای از باندهای تکثیر یافته با استفاده از آغازگرUB67 در شکل۲ نشان داده شده است.

برای محاسبه میزان تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپها از تشابه ژنتیکی بر مبنای ضریب نی(۳۰) استفاده شد. دو ژنوتیپ محلی قوچان(Iran1 و Iran2) بیشترین شباهت (۸۸ درصد) را داشتند که این می‌تواند نشان از ایزولاین بودن این دو ژنوتیپ باشد. کمترین شباهت(۵۱ درصد) بین ژنوتیپ-VF

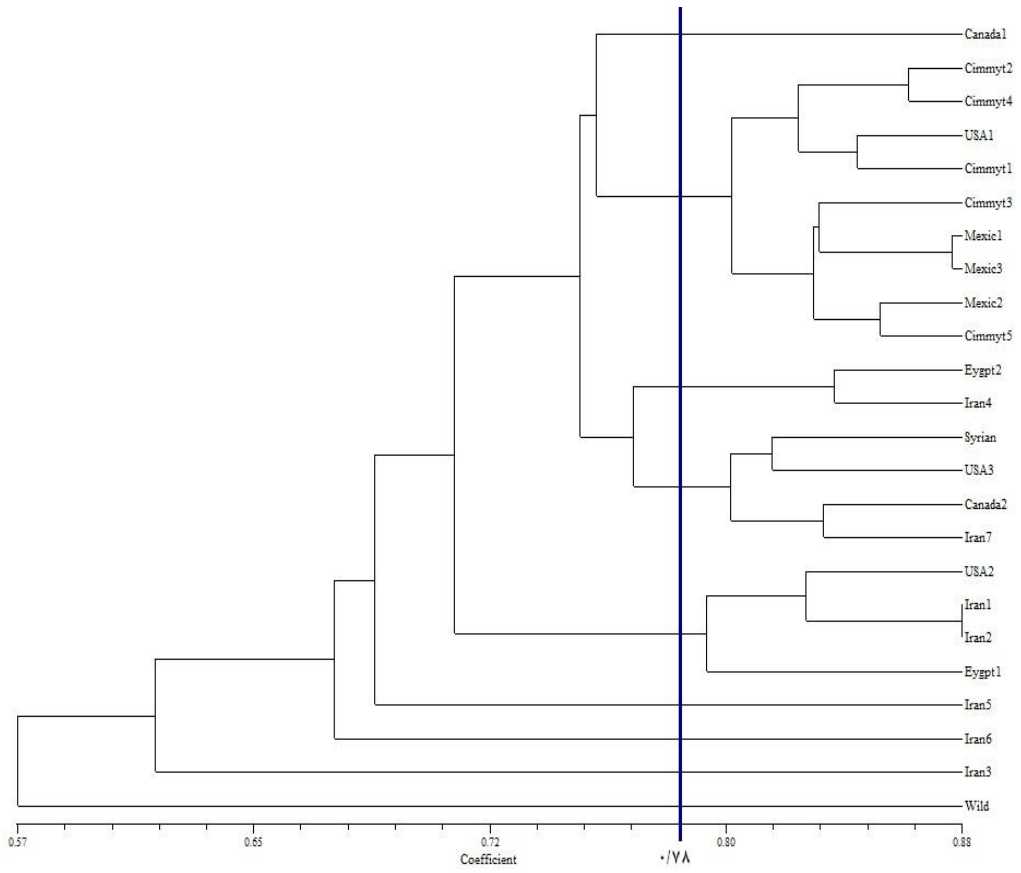
18 (Cimmyt3) با گلرنگ وحشی(*C. oxycantha*) به دست آمد.

تجزیه خوشه‌ای بر اساس شباهت ژنتیکی نشان داد که در ضریب تشابه ۰/۶۱ گونه‌وحشی گلرنگ از ژنوتیپهای زراعی قابل تفکیک است. همان طور که انتظار می‌رفت ژنوتیپ گونه وحشی اختلاف زیادی با ژنوتیپهای زراعی داشت که این امر نشان دهنده کارآبودن نشانگر مولکولی RAPD در مطالعات تکاملی و همچنین برطرف نمودن مشکلات احتمالی مربوط به طبقه‌بندی گونه‌های جنس کارتاموس است(۱۴و۳۶). دندوگرام حاصله در حد تشابه ۰/۷۸، ژنوتیپها را در ۹ گروه قرار داد، به طوری که پنج گروه تنها دارای یک ژنوتیپ و بقیه گروهها دارای چندین ژنوتیپ بودند (شکل ۳). ژنوتیپهای ایرانی در اکثر گروهها مشاهده شدند که این امر دلیلی بر تنوع زیاد در بین ژنوتیپهای گلرنگ ایرانی می‌باشد. وجود این تنوع زیاد این موضوع را که ایران یکی از مراکز تنوع گلرنگ است را تأیید می‌کند (۱۷و۲۴).

جدول۴- تعداد کل باندها، باندهای چندشکل و درصد چند شکلی ۱۱ آغازگر RAPD برای ۲۴ ژنوتیپ گلرنگ

پرایمر	توالی	کل باندها(a)	باندهای چند شکل (b)	درصد چند شکلی (b/a×100)
UB30	CCGGCCTTAG	۱۴	۱۱	۷۸/۵
UB12	CCTGGGTCCA	۱۲	۱۱	۹۱/۶
UB89	GGGGGCTTGG	۱۰	۴	۴۰
UB79	GAGCTCGTGT	۱۷	۸	۴۷
UB96	GGCGGCATGG	۱۸	۱۱	۶۱/۱
UB25	ACAGGGCTCA	۹	۳	۳۳/۳
UB91	GGGTGGTTGC	۸	۷	۸۷/۵
UB18	GGGCCGTTTA	۱۲	۹	۷۵
UB95	TGCGCCCTTG	۱۴	۵	۳۵/۷
UB67	GAGCACCAGT	۱۶	۹	۵۶/۲
F189	GTTTCGCTCC	۱۲	۴	۳۳/۳
کل	-	۱۴۲	۸۲	-
م	-	۱۲/۹	۷/۵	۵۷/۷

گروه‌بندی داده‌های مورفولوژیکی با داده‌های مولکولی همخوانی زیادی نشان نداد، همبستگی بین دو گروه بندی براساس آزمون مانتل (۲۶) برابر با r =۰/۰۵ برآورد شد. این موضوع بیانگر این واقعیت است که نشانگر های RAPD مورد استفاده، ارتباط ژنتیکی و پیوستگی مناسب با مکانهای کنترل کننده صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه را ندارند، البته از آنجایی که نشانگرهای RAPD عمدتاً در نواحی غیر کد کننده ژنوم قرار دارند، عدم ارتباط بین گروه‌بندی داده‌های مولکولی با داده های مورفولوژیکی دوراز انتظار نیست. حاجی کرم و همکاران(۳) نیز گزارش نمودند که نشانگر مولکولی مورد استفاده قادر به تفکیک نمونه‌های *Aegilops tauchii* از یکدیگر بر اساس مبداء جغرافیایی نیست. سایر محققان (۱۴، ۲۱، ۲۵، ۲۸، ۳۵ و ۴۱) نیز گزارش نمودند که توزیع ژنوتیپها در داخل دسته‌ها با الگوی جغرافیایی مطابقت ندارد. این نتایج نشان داد که از آغازگرهای این پروژه نمی‌توان برای تفکیک و طبقه‌بندی ارقام گلرنگ براساس مبداء جغرافیایی استفاده کرد.



شکل ۳- دندروگرام حاصل از داده های نشانگرهای RAPD مربوط به ۲۴ ژنوتیپ گلرنگ به روش UPGMA

دندروگرام حاصله (شکل۳) نشان داد که نشانگر RAPD قادر به تشخیص ژنوتیپها از یکدیگر است که این امر نشان دهنده کارآیی این نشانگر برای مطالعات تنوع ژنتیکی، تنوع درون گونه‌ای و تعیین فاصله بین ژنوتیپها است. در برنامه های اصلاحی ، باتوجه به گروه بندی انجام شده و برآورد میانگین صفات برای ارقام هر کلاستر و درصد انحراف میانگین هر کلاستر از میانگین کل می‌توان والدین مناسب را برای ایجاد تنوع انتخاب نمود. ازآنجایی که ژنوتیپهای موجود در هر یک از کلاسترها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپهای موجود در کلاسترهای دیگر هستند ، بنابراین می‌توان برای ایجاد تنوع هر چه بیشتر و انجام تلاقیهای هدفمند از گروه‌بندی بر اساس داده‌های مولکولی استفاده نمود، چون در این گروه‌بندی اثر محیط حذف گردیده و می توان دسته‌بندی دقیق‌تری از ژنوتیپها به دست آورد.

تجزیه آنالیز واریانس مولکولی ۲۲ ژنوتیپ گلرنگ نشان داد که سهم تنوع داخل جمعیتها خیلی بیشتر از تنوع بین جمعیتهاست (جدول۵). این نتیجه، نتایج حاصل از گروه بندی ژنوتیپها (شکل۱ و شکل۳) و شباهت ژنتیکی بین جمعیتها را تأیید می‌کند. پایین بودن واریانس بین جمعیتها نشان دهنده این است که افراد جمعیتهای مختلف از لحاظ ژنتیکی به هم نزدیک می‌باشند، به عبارت دیگر بین جمعیتها چندان تفاوتی از نظر تنوع وجود ندارد. نتایج این تجزیه نشان داد که عمده تنوع موجود در بین ژنوتیپهای مورد مطالعه در داخل خود جمعیتها است (جدول ۵). بنابراین با انتخاب تعداد نمونه کافی از داخل یک جمعیت

می‌توان از تنوع موجود برای کارهای اصلاحی استفاده نمود. در چنین جمعیتی احتمال یافتن ژنوتیپهای خوب و مناسب از نظر مقاومت به بیماریها ، آفات و عوامل نامساعد محیطی (شوری و سرما و خشکی) وجود دارد.

جدول ۵- جدول آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)

منابع تغییر	df	SS	MS	Est.Var †	Var%††
بین جمعیت ها	۵	۵۴/۴۵	۱۰/۸۹	۰/۸۹	۶
داخل جمعیت ها	۱۶	۲۲۸/۳۲	۱۴/۲۷	۱۳/۹۳	۹۴
کل	۲۱	۲۸۲/۷۷	۲۵/۱۶	۱۴/۸۲	۱۰۰

† Est. Var : واریانس محاسبه شده برای داخل و بین جمعیت ها

†† % var : درصد واریانس هر منبع تغییر به واریانس کل

نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپهای گلرنگ مورد بررسی (به خصوص توده‌های ایرانی) دارای تنوع بالایی در صفات مورفولوژیک بودند که می‌توان از این پتانسیل برای اصلاح عملکرد دانه و اجزاء عملکرد دانه گلرنگ استفاده نمود. همچنین این مطالعه نشان داد که نشانگر مولکولی RAPD ابزاری مناسب برای تشخیص تنوع بین گونه‌ای، درون گونه-ای و تعیین فاصله بین ژنوتیپهای گلرنگ است و می‌توان از آن در مدیریت ژرم پلاسم و برنامه‌های اصلاحی گلرنگ به خصوص انتخاب والدین جهت تلاقی، استفاده نمود. گونه وحشی بیشترین فاصله را از گلرنگهای زراعی دارد. این گونه دارای بیشترین پراکنش، سازگاری و تنوع در ایران است بنابر این می‌توان از آن به عنوان یک منبع ژنی برای انتقال خصوصیات مطلوب در برنامه‌های به نژادی گلرنگ به خصوص انتخاب والدین جهت تلاقی، بهبود صفات کمی و کیفی و مقاومت به تنشها استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطرتأمین هزینه‌های این طرح (طرح پژوهشی ۱۶۸۰۸) صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- ابدالی، ن.، حسینی مزینانی، م.، عطایی، س.، حسینی، س.ع و نقوی، م.ر. ۱۳۹۰. بررسی میزان تنوع در چهار رقم زیتون ایرانی با مطالعه صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی RAPD . مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره ۶، صفحه ۸۶۸-۸۷۹.

۲- باقری، ا.، یزدی صمدی، ب.، تائب، م.، و احمدی، م.ر. ۱۳۸۰. بررسی همبستگی و روابط بین عملکرد وسایر صفات کمی و کیفی گلرنگ. مجله علوم کشاورزی. جلد ۳۲، شماره ۲،۳۰۷-۲۹۵.

۳- حاجی کرم، م.، نقوی، م.ر.، طالعی، ع.ر و آقایی،م.ج. ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های *Aegilops taushii* نواحی شمالی ایران با استفاده از نشانگر SSR. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴، شماره۳، ۳۹۹-۳۹۰.

۴- خدیوی، ع.، زمانی، ذ.، بوذری، ن.، فتاحی مقدم، م.ر. ۱۳۸۸. ارزیابی گوناگونی ژنتیکی برخی از ارقام گیلاس ایرانی با استفاده از ویژگیهای مورفولوژیکی و نشانگر RAPD . مجله به نژادی نهال و بذر. جلد۲۵ ، شماره۱، ۲۰۹-۱۹۵ .

۵- دریکوند، ر.، سلاحورزی، ا.، حسین پور، ط. و اسماعیلی، ا.۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپهای گندم دیم با استفاده ازنشانگر های RAPD و صفات مورفولوژیکی. فصلنامه دانش نوین کشاورزی پایدار.جلد۷،شماره۳، ۱۷-۹.

۶- سعیدی، ق.، طوفی، ح و میرلوحی، آ . ۱۳۸۳. تنوع ژنتیکی و روابط بین صفات در تعدادی از توده‌های بومی گلرنگ ایران. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد۲۲، شماره ۱۱، ۱۱۶-۱۰۷.

۷- شهبازی دورباش، ص.، علیزاده دیزج، خ.، صادق زاده، ب.، و فتحی رضایی،و. ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی لاینهای گلرنگ از طریق صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی RAPD . مجله علوم گیاهان زراعی ایران.جلد۴۲، شماره۲، ۲۳۱-۲۲۱.

۸- فاضلی، ف و چقامیرزا، ک.۱۳۹۰. تنوع ژنتیکی نخود زراعی تیپ کابلی (*Cicer arietinum* L.) ایران بر اساس صفات زراعی و نشانگر RAPD. مجله به نژادی نهال و بذر. جلد۲۷ ، شماره۴ .۵۵۵-۵۷۹.

۹- قدرتی غ.ر. ۱۳۷۶. بررسی تنوع ژنتیکی و سیتوژنتیکی توده‌های بهاره بومی گلرنگ ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تربیت مدرس.

۱۰- محمدی، س .ا .۱۳۸۵ .تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی از دیدگاه بررسی تنوع ژنتیکی . مجموعه مقالات کلیدی نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات .دانشگاه تهران.۱۱۷-۹۶.

۱۱- معالی امیری، ر. م.، یزدی صمدی، ب.، قنادها، م. و عبدمیشانی، س. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف گلرنگ با استفاده از روش RAPD-PCR. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد۲ شماره۴ ، ۷۴۵-۷۳۷.

۱۲- نقوی م.ر.، قره یاضی، ب. و حسینی سالکده، ق.۱۳۸۶ .نشانگر های مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران.

13- Ahmadzadeh, A. R. 2007. Analysis of genetic diversity in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars using morphological characters and RAPD markers. Ph. D. thesis, Tehran Azad Islamic University.

14- Amini, F., Saeidi, G. and Arzani, A. 2008. Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. Euphytica. 163:21–30.

15- AOCS. 1993. Official methods and recommended practices.The American Oil Chemists Society Champaign.

16- Ashri, A., Zimmer D.E., Urie A.L., and Marani A. 1974. Evaluation of the world Collection of safflower. IV. Yield and yield components and their relationships. Crop Science. 14:799-800.

17- Chapman, M.A., Hvala, J., Strever, J., and Burke, J.M. 2010. Population genetic analysis of safflower (*Carthamus tinctorius*; Asteraceae) reveals a Near Eastern origin and five centers of diversity. American Journal of Botany. 97: 831-840 .

18- Daju, L., and Mundel, H.H. 1996. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). International Plant Genetic Resources Institute.

19- Elfadl, E., Reinbrecht, C., and Claupein, W. 2009. Evalution of phnotype varation in a world germplasm collection of safflower(*Carthamus tinctorius* L.) grown under organic farming conditions in Germany. Genetic Resources and Crop Evoulation. 57(2): 155-170.

20- Falconer, D., and Mackay, F.C. 1996. Intoduction to quantitative genetics. Longman Group Ltd,

21- Jaradat, A.A. and Shaid, M. 2006. Pattern of phenotypic varation in a germplasm collection of *Carthamus tinctorius* L. Form the Middle East. Euphytica. 53: 225-244.

22- Karim, K., A. Rawda, C. M. Hatem, B. N. Mbarek and T. Mokhtar. 2010. Analysis of genetic diversity and relationships in local Tunesian barley by RAPD and SSR analysis. Afr. J. Biotechnol. 9(44): 7429-7436.

23- Khan, M. A., Von Witzke-Ehbrecht, S., Maass, B. L. and Becker, H. C. 2009. Relationships among different geographical groups, agro-morphology, fatty acid composition and RAPD marker diversity in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.).Genet Resource Crop Evol. 56: 19-30.

24- Knowles, P.1989. Centers of plant diversity and conservation of crop germplasm: safflower. Economic Botany. 23:324–329.

25- Mahasi, M. J. L., Wachira, F. N.., Pathak, R. S.. and Riungu, T. C. 2009. Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using RAPD markers. Journal of Plant Breeding and Crop Science. 1(1): 008-012.

26- Mantel, N. A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach Cancer Research. 27:209-220.

27- McPherson, M.A., Good, A.G., Topinka, A.K.C., Hall, L.M. 2004. Theoretical hybridization potential of transgenic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) weedy relatives in the New World. Canadian Journal of Plant Science. 84: 923-934.

28- Mohammadi, S. A. and Prasanna, B. M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. Crop Science. 43: 1235–1248.

29- Nei, M. 1972. Genetic distance between population. Nature. 106: 283-292.

30- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 89: 583-590.

31- Pahlavani, M.H. 2005. Some technological and morphologycal characteristics of safflower (*Carthamu inctorius* L.) from Iran. Asian Journal of Plant Sciences. 4(3): 234-237.

32- Pascual-Villalobos, M.J., and Alburquerque, N. 1996. Genetic varicition of safflower germplasm collection grown as a winter crop in southern Spain. Euphytica.92: 327-332.

33- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2001. GenALEX Ver.5. Genetic Analysis in Excell. Population genetic software for teaching and research. Canberra. Australin National University.

34- Rohlf, F.J. 2000. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. version 2.1. Exeter Software, New york.

35- Rolda´n-Ruiz, I., Van Eeuwijk, F. A., Gilliland, T. J., Dubreuil, P., Dillmann, C., Lallemand, J., De Loose, M. and Baril, C. P. 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theoretical and Applied Genetics. 103: 1138–1150.

36- Sabzalian, M.R., Saeidi, G. and Mirlohi, A. 2008. Oil content and fatty acid composition in seeds of three safflower species. Euphytica. 85: 717-721.

37- Safavi, S. A., Pourdad, S. S., Taeb, M. and Khosroshahli, M.2010. Assessment of genetic variation among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) accessions using agro-morphological traits and molecular markers. Food Agriculture and Environment. 8(3- 4). 616-625.

38- Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. & Allard, R. W. 1994. Extra ordinarily polymorphic micro satellite DNA in barley: species diversity, chromosomal Locations, and population dynamics. Proc Natl Acad Science USA, 7: 5466-5470.

39- Salamati, M., Zeinali, H. and Yousefi, E. 2011. Investigation of Genetic Variation in *Carthamus tinctorius* L. Genotypes Using Agro-Morphological Traits. Journal of Research in Agricultural Science. 7(2): 101- 108.

40- Sangam, L.D., Upadhyaya, H.D., and Hegde, D.M. 2005. Development of core collection using geographic information and morphological descriptors in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm. Genetic Resources and Crop Evolution. 52: 821-830.

41- Sehgal, D. and Raina, S.N. 2005. Genotyping safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars by DNA fingerprints. Euphytica. 146:67–76.

42- Sehgal, D., Rajpal, V.R., Raina, S.N., Sasanuma, T. and Sasakuma, T. 2009. Assaying polymorphism at DNA level for genetic diversity diagnostics of the safflower (*Carthamus tinctorius* L.) world germplasm resources. Genetica. 135(3):457-70.

43- Smith, J.S.C. and Smith, O.S. 1992. Fingerprinting crop varieties. Adv. Agron. 47: 85-89.

44- Staub, J. E., Serquen, F. C. and Gupta, P. K. 1996. Genetic marker, map construction and their application in plant breeding. Hort. Sci. 31: 729-740.

45- Weiss, E.A. 2000. Oil seed crops. 2nd ed. Black Well Scince Oxford.

Evaluation of genetic diversity of Iranian populations and foreign cultivars of safflower (*Carthamus tinctorios* L.) using morphological traits and RAPD molecular markers

Ghorbanzadeh Neghab M. and Afzal R.

Shirvan Higher Education Complex, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

Iran is known as one of the early centers of Safflower. Therefore, the diagnosis diversity safflower genotypes for maintain genetic resources and scientific and practical applications of these materials may be useful in breeding programs for breeders. This study investigated the genetic diversity of 24 genotypes germplasm international, Iranian landraces and wild safflower using morphological traits and RAPD markers was conducted. The results showed that a high diversity of morphological traits in safflower genotypes, this diversity for safflower breeding programs that can appropriate manner be used to increase the yield. The study of molecular markers by 11, multiply in the 142 bands, 84 bands were polymorphic (57.7%). The results of cluster analysis showed that molecular markers are unable to detect the genotypes from one another. Iranian accessions were present in most of the groups that the reason for the high diversity within the population of Iran and Iran candidates one of the main origins and very likely is for safflower germplasm. The results of this study showed that the combined use of morphological and molecular markers for safflower breeding program is especially helpful for selecting parents for the hybridization and the performance RAPD molecular markers is to study genetic diversity and germplasm management safflower. Furthermore the Iranain local populations of safflower and wild safflower are a rich source of genetic for use in breeding programs safflower.

Key words: Genetic diversity - Morphological traits - RAPD markers - Safflower