مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۳۷، شماره ۲، ۱۴۰۳
DOI: 10.22034/CMR.2024.2208 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵

بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف گز استان اردبیل با استفاده از نشانگرهای مولکولی

گیتا وکیلی عباسعلیلو، یونس پوربیرامی‌هیر*، اسماعیل چمنی و اصغر استاجی

ایران، **اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی**، گروه **علوم باغبانی**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱

چکیده

گیاه گز با ۱۳ گونه بومی ایران از تیره *Tamaricaceae* بوده و از گیاهان زینتی برای فضای سبز نیز محسوب می‌شود. گزها به دلیل مقاومت به شرایط سخت آب و هوایی و سازگاری با شوری بالا، مورد توجه قرار گرفته است. مطالعه تنوع ژنتیکی و صفات ژنوتیپ‌های گوناگون در نقاط مختلف جغرافیایی، اطلاعات مفید و ضروری برای به‌گزینی و اصلاح ارقام مورد نظر برای توسعه کشت و کار بهینه فراهم می‌نماید. از این رو، این تحقیق به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گز بومی اردبیل انجام گرفت. در تحقیق حاضر، برگ‌های جوان نه جمعیت از این گونه از نمونه‌های تازه رویشگاه‌های طبیعی اردبیل جمع‌آوری و ساختار ژنتیکی آن‌ها با استفاده از ۱۳ نشانگر ISSR و ۵ نشانگر SCOT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد، کل باندهای ایجاد شده توسط نشانگر ISSR تعداد ۹۶ باند بود که بیش‌ترین آنها توسط آغازگر UBC810، UBC826 و UBC855 تکثیر شد. میانگین اطلاعات چندشکلی ۳۴/۳۰ درصد بود که بیش‌ترین چندشکلی مربوط به UBC814، UBC855 و UBC826 به میزان۱۰۰٪ بود. ژنوتیپ‌ها در دندروگرام به چهار گروه تقسیم‌بندی شد. همچنین با استفاده از SCOT در مجموع ۳۲ باند تکثیر شد. بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد باند به ترتیب از SCoT4 و SCoT1 به‌دست آمد. نتایج این پژوهش نشان داده که نشانگر ISSR در تفکیک ژنوتیپ‌ها از یکدیگر براساس منطقه جغرافیایی موفق بود. همچنین هر دو آغازگر در تعیین میزان تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی نمونه‌های جمعیتی مورد مطالعه گز از کارآیی بالایی برخوردار بودند.

واژه های کلیدی: گز (*Tamarix*)، آنالیز خوشه‌ای، SCoT، ISSR، چندشکلی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: younes_ph62@uma.ac.ir

مقدمه

تیره Tamaricaceae خانواده‌های نسبتاً کوچک از گیاهان درختی و درختچه‌ای می‌باشد با جنس‌های متعددی بوده که یکی از جنس‌های آن *Tamarix* است. گونه‌های مختلف این تیره بیشتر در مناطق معتدل و نیمه‌گرمسیری و نواحی نمکی، خشک و بیابانی دیده می‌شود (۱). گیاه گز دارای ۹۰ گونه در سراسر جهان و ۳۵ گونه در فلات ایران می‌باشد. در ایران حدود ۱۳ گونه گز وجود دارد اغلب آن‌ها مخصوص نواحی استپی و شوره‌زارها می‌باشد و معدودی نیز مخصوص نواحی حاره است (۱۲). گز در مناطق مختلف کشور برای مثال در آذربایجان، کرمان، تهران، لرستان، گرگان، سیستان و بلوچستان، سمنان، اردبیل و اصفهان دیده می‌شود (۷). تولید بذرهای فراوان و همچنین گرده‌افشانی با حشرات یا باد یکی از مزیت‌های پراکنش وسیع این گیاه است. گونه‌های مختلف گز به‌عنوان کنترل‌کننده سیلاب و بادهای شدید مورد استفاده قرار می‌گیرد و توانایی بالا در تحمل تنش‌های محیطی دارد و همچنین به دلیل داشتن ریشه‌های گسترده از نمونه‌های موفق تثبیت خاک در مناطق بیابانی و تپه‌های ماسه‌ای به حساب می‌آید (۱۲).

DOI: 10.22034/CMR.2024.2208 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵

مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی و صفات ژنوتیپ‌های گوناگون در نقاط مختلف جغرافیایی، اطلاعات مفید و ضروری برای به-گزینی و اصلاح ارقام مورد نظر برای توسعه کشت و کار بهینه فراهم می‌نماید. مطالعه تنوع ژنتیکی از طریق روش ریخت‌شناسی، نشانگر مولکولی و بیوشیمیایی امکان‌پذیر است. بررسی تنوع ژنتیکی با روش‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی دارای محدودیت‌هایی می‌باشد و به همین دلیل نشانگرهای مولکولی برای مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی مفیدترند. نشانگر مولکولی ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) به دانش قبلی از ژنوم و روش‌های طراحی آغازگرهای خاص نیاز ندارد. در این نشانگر از یک سری آغازگرهای منفرد جهت ایجاد قطعات استفاده می‌شود. از جمله مزایای آغازگر ISSR، می‌توان به چندشکلی بالا، سریع و قابل استفاده برای تعداد زیادی نمونه و هزینه پایین (۸، ۶) و همچنین مستقل از تغییرات محیطی (۵، ۲۲) اشاره کرد. علاوه بر آن، نشانگر ISSR قابلیت تکرارپذیری بالاتری نسبت به نشانگرهایی مانند RAPD داشته و همچنین استفاده از آن آسان است (۱۹ ، ۲۳). نشانگر SCoT (Potential of Start Codon Targeted)، یا کدون‌های آغاز هدف واقع شده، روشی است که در آن پرایمرها بر اساس توالی‌های آغازگر (ATG) طراحی شده و نواحی بین کدون‌های آغازگر طی واکنش زنجیرهای پلیمراز تکثیر می‌شود و تفاوت‌ها آشکار می‌شود (فرشادفر)، این نشانگر مولکولی مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان است، این نشانگر برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گونه-های زراعی زیادی مانند سیب‌زمینی، خرما، انگور، پرتقال و غیره مورد استفاده قرار گرفته است. همچنین SCoT روشی سریع، با کارایی بالا، قابل اطمینان و با تکرار پذیری است (۱۲). نشانگر SCoT حتی به سطوح پایین تغییرات ژنتیکی نیز حساس است. بنابراین این نشانگر برای آنالیز ژنتیک جمعیت در طیف وسیعی از گیاهان گزینه مناسبی محسوب می‌شود.

تیموری و شیدایی (۱۳۹۳) بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت-های گونه‌های گز و همچنین میزان تنوع ژنتیکی موجود در بین جمعیت‌های یک گونه جهت برنامه‌ریزی تنوع ژنتیکی برای شناسایی، حفظ و نگهداری ذخایر توارثی و همچنین انجام تلاقی‌های انتخابی بسیار ضروری دانستند. لذا نمونه-های گز بومی در شش جمعیت جغرافیایی مختلف واقع در استان سیستان و بلوچستان با توجه به تنوع ژنتیکی و دوری و نزدیکی جمعیت‌ها با استفاده از نشانگرهای ISSR مورد مطالعه قرارگرفت. آنها از نتایج بدست آمده برای بررسی فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف استفاده کردند. با مشخص شدن فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و ارقام یک گونه می‌توان والدینی که فاصله ژنتیکی بیشتری دارند جهت بدست آمدن نتاج برتر انخاب کرد (۱۱). آگاهی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها نه تنها فرآیندهای تکامل و مکانسیم آن را بررسی می‌کند، بلکه اطلاعات مفیدی را در مورد حفاظت بیولوژیکی فراهم می‌نماید، یک رویکرد مهم در اصلاح نباتات افزایش تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپهای والدینی برای تلاقی است (۴). شاغولی و همکاران (۱۳۹۵) تنوع مولکولی شش جمعیت از دو گونه *T. Androsswii* و *T. Szowitsiana* از رویشگاه استان سمنان با استفاده از نشانگرهای ISSR را مورد بررسی قرار دادند. از میان آغازگرهای مورد استفاده سه مورد موفق به ایجاد باندهای واضحی شدند. آنالیز خوشه‌ای UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean) مرز مشخصی بین افراد این دو گونه و جریان ژنی بالا بین آن‌ها را نشان داد. Mayonde و همکاران (۲۰۱۵) با بررسی گونه-های گز بومی جنوب آفریقا و گونه‌های وارد شده به این منطقه با استفاده از صفات ریخت‌شناسی مانند شکل برگ‌ها شکل گلبرگ‌ها، تراکم غدد نمک، نوع دیسک پرچم، و مقایسه داده‌های ریخت شناسی با توالی یابی DNA ژنومی و توالی DNA پلاستیدی حالات بینابینی موجود در صفات ریختی را در حاصل دوگه‌گیری بین گونه بومی *T. UneoidesE.Mey.ex Bgo* و گونه مهاجم *T. Ramosissima* نشان داد.

هدف از پژوهش حاضر این بود که در ابتدا محل های رویش گزهای وحشی در استان اردبیل شناسایی و سپس با استفاده

DOI: 10.22034/CMR.2024.2208 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵

از نشانگرهای مولکولی این ژنوتیپ‌ها دسته‌بندی شوند. همچنین تنوع و فاصله بین ژنوتیپ های مورد نظر نیز بررسی می‌شود که شناسایی رویشگاه‌های وحشی و همچنین فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها مقدمه‌ای برای برنامه های اصلاحی می‌باشد

مواد و روشها

در این مطالعه ژنوتیپ‌های گیاه گز از نواحی مختلف اردبیل (شامل، ۱ و ۲- کورائیم، ۳- مشکین شهر، ۴- محمدتقی کندی، ۵- خروجی‌گرمی، ۶- قاسم کندی، ۷- بیله سوار، ۸ و ۹- پارس‌آباد) جمع‌آوری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در گلخانه دانشگاه محقق اردبیلی نگهداری شد. به‌منظور استخراج DNA از برگ‌های تازه و جوان هر گیاه به‌صورت جداگانه انجام شد (جدول۱).

در این تحقیق برای استخراج DNA ژنومی از روش Murray و Thompson استفاده شد که مبتنی بر استفاده از CTAB است (Murray & Thompson, 1980). کیفیت DNA ژنومی استخراج شده با استفاده از الکتروفورز نمونه‌های مورد نظر بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و دستگاه نانودراپ سنجش شد. به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از ۱۳ نشانگر مولکولی ISSR استفاده شد (جدول۲). برای انجام واکنش PCR حجم واکنش مورد استفاده برای واکنش PCR شامل ۱/۳ میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۱/۲ میکرولیتر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر آب مقطر و ۵ میکرولیتر Master mix استفاده شد. که در نهایت حجم واکنش به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. بعد از ژل گذاری به حضور و عدم حضور امتیازدهی شد. در تعیین پارامترهای تنوع ژنتیکی، شاخص اطلاعاتی شانون، تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های مؤثر، و شاخص تنوع ژنتیکی نی (Nei's genetic diversity index) با نرم افزار PopGene محاسبه شد (۱۱). محاسبه دندروگرام برای گروه‌بندی افراد جمعیت‌ها با نرم افزار DARwin و تعیین ساختار جمعیت از طریق STRUCTURE مشخص شد (۲۰).

جدول۱- مناطق جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گز مورد مطالعه

محل جمع آوری	ارتفاع (m)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
اردبیل- کورائیم	۱۳۷۸	۴۸° ۲۰′	۳۸° ۰۸′
اردبیل- کورائیم	۱۴۴۷	۴۸° ۰۲′	۳۸° ۴۴′
خروجی‌تونل پارس‌آباد- مشکین‌شهر	۹۹۱	۴۷° ۴۱′	۳۸°۵۹′
روستای محمدتقی کندی	۷۲۶	۴۷° ۵۰′	۳۹° ۰۳′
خروجی گرمی	۷۰۸	۴۷° ۰۵′	۳۹° ۰۴′
گرمی- سه راه قاسم کندی	۱۰۸۹	۴۷° ۴۱′	۳۸° ۰۵′
بیله سوار	۱۵۴	۴۸° ۰۲′	۳۹° ۰۱′
پارس‌آباد-خروجی اصلاندوز	۲۶۰	۴۷° ۳۱′	۳۹° ۱۵′
پارس‌آباد- خروجی پارس‌آباد	۶۵	۴۷° ۵۴′	۳۹° ۳۶′

نتایج و بحث

با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیز داده‌های مولکولی، در مجموع از ۱۳ نشانگر مورد استفاده، ۹۶ باند تکثیر شد. که بیشترین و کمترین باندهای تکثیر یافته به‌ترتیب مربوط به UBC810، UBC826، UBC855 با ۱۳باند و ISSR2، ISSR6، UBC806 با ۴ باند بود. میانگین میزان چندشکلی PIC (Polymorphism information content) برابر با ۳۴/۳۰ بود. بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب مربوط به نشانگرهای UBC826و UBC855 با ۴۵٪ و ISSR2 و UBC809 با ۲۵٪

DOI: 10.22034/CMR.2024.2208 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵

بود. قوام پور و همکاران (۱۳۹۴) نیز با مطالعه تنوع ژنتیکی هشت جمعیت های گز در استان اصفهان میزان چند شکلی را در حدود ۳۰ درصد بیان کردند. Musarrat و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱ نمونه گز با نشانگر ISSR بیان کردند که در مجموع ۱۳۱ باند تشکیل شد که میانگین میزان چندشکلی حدود ۳۴ درصد بود.

جدول ۲- خصوصیات و نتایج حاصل از تعداد باندهای هریک از آغازگرهای ISSR

آغازگرها	توالی آغازگرها	NSB	NPB	%P	PIC	(I)	(NA)	(Ne)	(H)
ISSR1	BDB(CA)7	۷	۴	۵۷	۳۴	۰/۵۴	۸	۶/۴۸	۰/۴۵
ISSR2	(GA)7VG	۴	۲	۵۰	۲۵	۰/۶۹	۴	۳/۹۴	۰/۴۹
ISSR4	(CA)8AG	۸	۷	۸۷	۴۱	۰/۴۸	۱۴	۱۱/۰۱	۰/۳۲
ISSR6	(AG)8T	۴	۱	۲۵	۱۵	۰/۶۹	۲	۱/۹۹	۰/۴۹
ISSR8	(CT)8RC	۷	۶	۸۵	۳۸	۰/۴۹	۱۰	۷/۹۵	۰/۳۲
ISSR9	(GA)8T	۵	۵	۱۰۰	۲۷	۰/۵۹	۱۰	۹/۰۱	۰/۴۱
ISSR11	(ATG)6	۶	۴	۶۶	۳۶	۰/۶۳	۸	۷/۹۹	۰/۴۴
ISSR12	(CT)8TT	۵	۴	۸۰	۳۸	۰/۶۳	۸	۷/۳۲	۰/۴۴
UBC809	(AG)8G	۴	۲	۵۰	۲۵	۰/۴۱	۴	۲/۶۹	۰/۲۰
UBC810	(GA)8C	۱۳	۱۱	۸۴	۳۶	۰/۴۱	۲۲	۱۵/۳۴	۰/۲۵
UBC814	(CT)8A	۷	۷	۱۰۰	۴۱	۰/۵۱	۱۴	۱۱/۰۲	۰/۳۳
UBC826	(AC)8CC	۱۳	۱۳	۱۰۰	۴۵	۰/۴۸	۲۶	۲۰/۰۸	۰/۳۲
UBC855	(AC)8	۱۳	۱۳	۱۰۰	۴۵	۰/۵۴	۲۶	۱۹/۱۰	۰/۳۶
تعدادکل	-	۹۶	۷۹	–	–	۰/۴۵	۱۱/۳۸	۹/۵۵	۰/۳۷
میانگین	-	۷/۳۴	۶/۰۷	۷۵/۶	۳۴/۳۰	۰/۵۴	۸	۶/۴۸	۰/۴۵

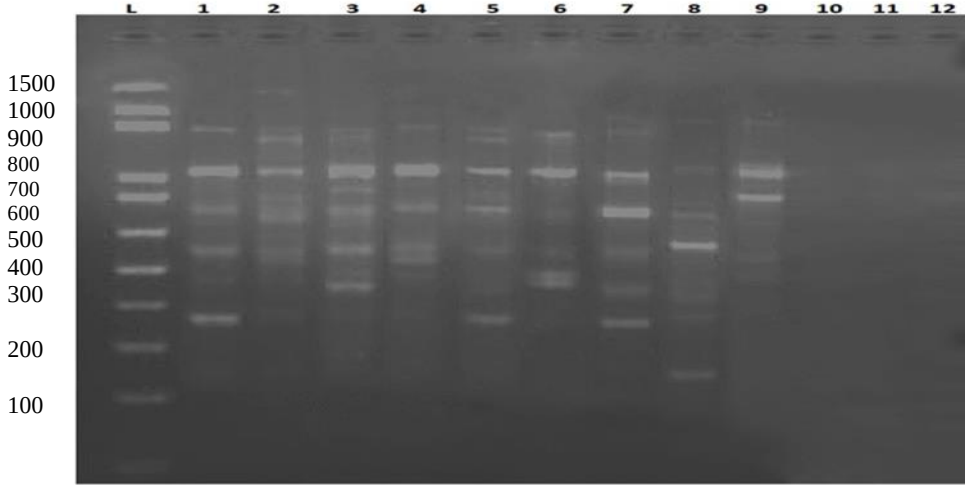
تعداد باندهای تکثیریافته (NSB)، تعداد باندهای چند شکلی (NPB)،درصد چند شکلی (P%)، میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، و شاخص تنوع ژنتیکی نی (H)

فراوانی آلل‌ها و معیارهای مرتبط با نشانگرها ISSR : شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های موثر(Ne)، شاخص تنوع ژنی نی (H) محاسبه گردید که به ترتیب میانگین ۰/۴۵، ۱۱/۳۸، ۹/۵۵، ۰/۳۷ به دست آمد. هر چقدر شاخص شانون (I)، بیشتر باشد میزان تنوع ژنتیکی نیز بیشتر می‌باشد. که در بین این نشانگرها ، نشانگر ISSR2 و ISSR6 با ۰/۶۹ میزان تنوع ژنتیکی بیشتری را دارد (جدول۴، شکل ۱). براساس مطالعه Brotherson و Winkel (۱۹۸۶) گرده افشانی در این گونه توسط باد صورت می گیرد و همچنین طبق مطالعه Stevens و همکاران (۱۹۸۵) حشرات نیز تاثیرگذار هستند که در هر صورت نحوه به دلیل دگرگشنی در این جنس تنوع ژنتیکی بالا می باشد.

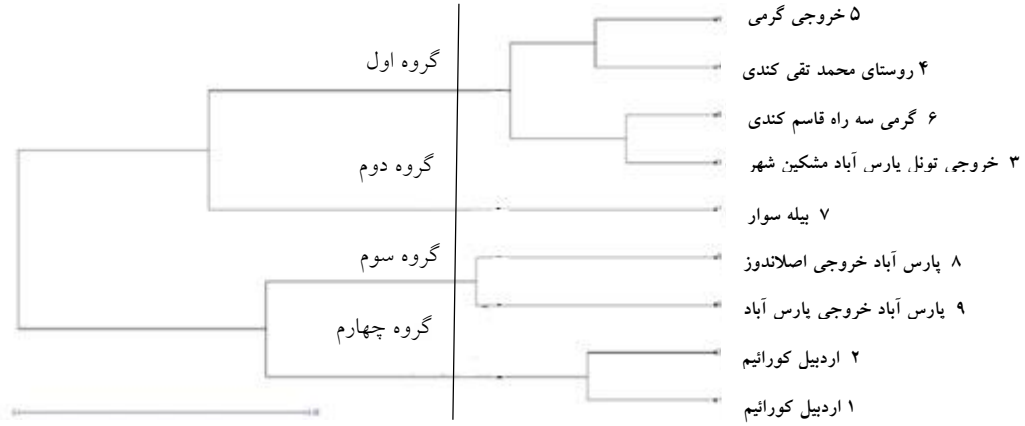
تجزیه‌ی خوشه‌ای داده‌های مولکولی: نقطه برش دندروگرام از طریق آزمون تابع تشخیص به‌دست آمد و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به چهار گروه تقسیم‌بندی شد (نمودار۱). گروه اول ژنوتیپ های گرمی، روستای محمدتقی کندی، سه‌راه قاسم کندی و پارس‌آباد- مشکین‌شهر، گروه دوم ژنوتیپ‌های بیله‌سوار، گروه سوم ژنوتیپ‌های پارس‌آباد و اصلاندوز و گروه چهارم ژنوتیپ-های کورائیم بودند. با توجه به دندروگرام، جمعیت بیله‌سوار به صورت مجزا از دیگر جمعیت‌ها قرار گرفته است که هر چند جمعیت بیله‌سوار از نظر شرایط آب وهوایی اختلاف زیادی با مناطقی مانند پارس آباد و گرمی ندارد ولی از لحاظ فاصله جغرافیایی مجرا از یکدیگر هستند. دور بودن از لحاظ فاصله جغرافیایی سبب سازگاری های آب و هوایی و درنتیجه تغییرات ژنتیکی در گزها شده است و جمعیت‌هایی که از لحاظ فاصله جغرافیایی نزدیک به هم هستند در تجزیه کلاستر هم در یک گروه

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵
DOI: 10.22034/CMR.2024.2208

قرار می‌گیرند (۱۸) با مطالعه جمعیت‌های زیر مشخص می‌شود که بیشتر جمعیت‌هایی که مسافت جغرافیایی نزدیکی باهم دارند، در یک گروه هستند. برای مثال جمعیت‌های ۱- اردبیل- کورائیم و ۲- اردبیل- کورائیم و یا ۸- پارس آباد خروجی اصلاندوز و ۹- پارس آباد خروجی پارس آباد که مسافت جغرافیایی کمی با هم دارند، در یک گروه هستند (شکل ۲). این نتایج با نتایج Javaid و همکاران (۲۰۰۴) و Musarrat و همکاران (۲۰۲۰) در مورد ۲۱ ژنوتیپ‌های گز مناطقی از پاکستان مطابقت داشت که در آنها نیز گروه بندی براساس موقعیت جغرافیایی جمع آوری نمونه‌ها بود، بطوری که جمعیت گزهای کالورکوت و باهاکار که مناطق جغرافیایی مخنلفی بودند در دسته‌های جداگانه قرار گرفتند.



شکل ۱- الگوی نواری ISSR حاصل از تکثیر آغازگر UBC 826 (L: Ladder)



شکل ۲- تجزیه خوشه ای ژنوتیپ های گز با ضریب تشابه Dice

فاصله ژنتیکی: فاصله ژنتیکی بر اساس ضریب Dice بین صفر تا یک مشخص شد. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گز از ۰/۲۵ تا ۰/۶۴ متغیر بود. همچنین میانگین فاصله ژنتیکی ۰/۴۵ بود. کمترین فاصله ژنتیکی نیز بین ژنوتیپ‌های ۳ و ۶ (۰/۲۵) و ۴ و ۵ (۰/۲۹) و بیشترین فاصله ژنتیکی نیز بین ژنوتیپ‌های ۳ و ۷ (۰/۶۴) و ۷ و ۸ (۰/۶۳) بودند. این فاصله ژنتیکی نشان دهنده تنوع ژنتیکی مناسب در سطح مولکولی در ژنوتیپ-های مورد نظر بود. وجود فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها را به عنوان منبعی برای انتخاب والدین جهت کارهای اصلاحی

DOI: 10.22034/CMR.2024.2208 مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵

متمایز می‌کند. شناسایی تلاقی‌های حاوی هتروزیگوتیت بالا مهم‌ترین قدم در تهیه محصولات هیبرید است. معمولاً والدین با قدرت ترکیب‌پذیری بالاتر و فاصله ژنتیکی بیشتر می‌توانند هیبریدهایی باعملکرد بالاتر تولید کنند (۷). شباهت و فاصله ژنتیکی کم بین ژنوتیپ‌های گز را نتیجه دروگه گیری و منشاء پراکنش آنها بیان کردند. Ijbari و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند که درجه بالای جریان ژنی بین درختان کنار هم از تفاوت های ژنتیکی گونه‌های گز جلوگیری می‌کند که با نتایج ما نیز مطابقت داشت و درختان نزدیک به هم از لحاظ فاصله جغرافیایی، فاصله ژنتیکی کمتری نیز داشتند.

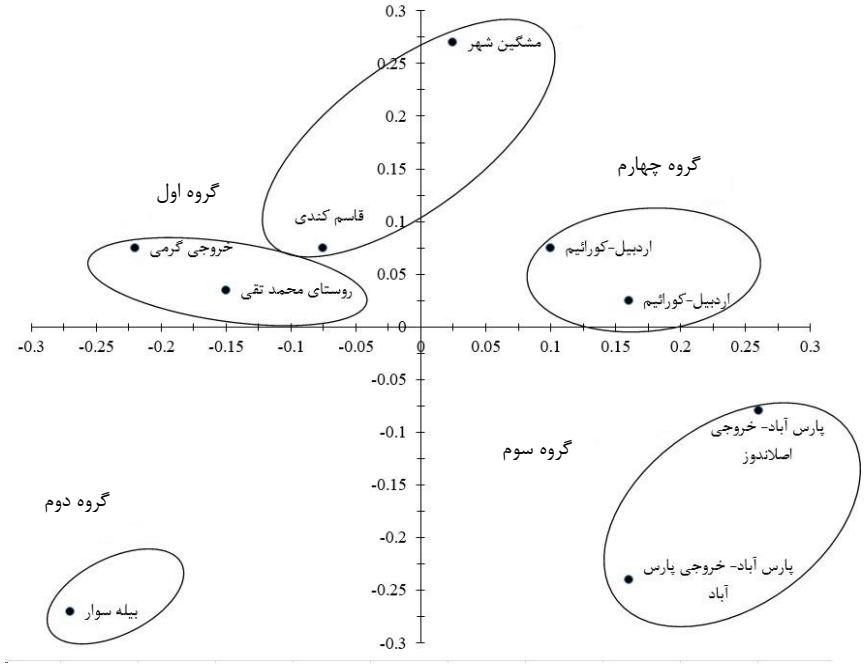
جدول ۳- ماتریس فاصله ژنتیکی بر اساس ضریب تشابه Dice

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
۲	۰/۳۰	۱							
۳	۰/۴۰	۰/۳۸	۱						
۴	۰/۵۰	۰/۴۹	۰/۳۷	۱					
۵	۰/۴۶	۰/۴۸	۰/۳۶	۰/۲۹	۱				
۶	۰/۴۰	۰/۳۸	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۳۰	۱			
۷	۰/۵۶	۰/۵۴	**۰/۶۴**	۰/۴۸	۰/۴۳	۰/۴۶	۱		
۸	۰/۵۰	۰/۴۲	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۵۶	۰/۴۷	**۰/۶۳**	۱	
۹	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۵۶	۰/۴۹	۰/۵۴	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۴۱	۱

تحلیل مؤلفه‌های اصلی: تحلیل مؤلفه اصلی در کنار تجزیه خوشه‌ای، یکی از متداول‌ترین روش‌های آماری چند متغیره در مطالعات روابط ژنتیکی اکوتیپ‌ها می‌باشد که برای نشان دادن آرایش تجمعی اکوتیپ‌های مورد مطالعه به کار می‌رود (شکل ۳). Messmer و همکاران (۱۹۹۲) بیان داشتند که این روش مکمل با تجزیه خوشه‌ای منجر به استفاده بهینه از داده‌های مولکولی می‌شود. نتایج حاصل از تحلیل مؤلفه‌های اصلی داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌های گز را به چهارعامل اصلی تقسیم کرد. گروه اول ژنوتیپ‌های گرمی، روستای محمدتقی کندی، سه راه قاسم کندی و پارس آباد- مشکین شهر، گروه دوم ژنوتیپ‌های بیله سوار، گروه سوم ژنوتیپ های پارس آباد و اصلاندوز و گروه چهارم ژنوتیپ‌های کورائیم بودند. نتایج این تحلیل نیز همانند نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را براساس منطقه جغرافیایی از همدیگر تفکیک کرد. جدایی منشاء جغرافیایی ژنوتیپ‌ها سبب تجمع جهش‌های ژنتیکی مجزا می‌شود که باعث ایجاد تنوع در آنها نسبت به یکدیگر شده است (۴). نتایج فوق نشان می‌دهد منشأ جغرافیایی و ژنتیکی این ژنوتیپ‌ها در دسته-بندی آن‌ها نقش مهمی داشته است.

تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گز با استفاده از نشانگر SCoT : علاوه بر استفاده از نشانگر ISSR از پنج نشانگر SCoT نیز برای بررسی تنوع‌ژنتیکی ژنوتیپ‌های گز، استفاده شد. در این تحقیق بیشترین و کمترین باندهای تکثیریافته به ترتیب به نشانگرSCoT4 به تعداد ۸ باند و نشانگرSCoT1 با مقدار ۵ باند به‌دست آمد.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵
DOI: 10.22034/CMR.2024.2208



شکل ۳- پراکنش ژنوتیپ‌های گز برا اساس تحلیل مؤلفه‌های اصلی

بیشترین میزان درصد چندشکلی مربوط به نشانگرSCoT1 و SCoT2 با میزان ۱۰۰٪ و کمترین آن به نشانگر SCoT3 به مقدار ۳۳٪ محاسبه شد. میانگین میزان اطلاعات پلی-مورفیک(PIC) به میزان ۳۶٪ به‌دست آمد که بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب به نشانگرهای SCoT4 به مقدار ۴۴٪ و کمترین آن به SCoT3 به مقدار ۲۲٪ محاسبه گردید (جدول۴-۴). شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، و شاخص تنوع ژنتیکی نی (H) محاسبه گردید. هر چقدر شاخص شانون بیشتر باشد میزان تنوع نیز بیشتر می‌باشد که در بین این نشانگرها SCoT1 و SCoT4 با مقدار ۰/۵۷ میزان تنوع بیشتری را دارد (جدول۷) فرشادفر و همکاران (۱۳۹۶) ۱۷ ژنوتیپ مریم نخودی را با ۱۵ آغازگرهای SCoT مورد بررسی قرار دادند که در مجموع توانستند ۴۸ باند چند شکل تولید کنند. میانگین تعداد باند تولید شده توسط هر آغازگر برای ۱۷ ژنوتیپ برابر ۲/۸۲ بود. میانگین درصد چند شکلی (PPB٪) و محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) در بین آغازگرهای مورد بررسی به ترتیب برابر ۴۸۵/ ۹۸ و ۰/۳۶۱ بود. شاخص PIC از صفر تا نیم در نشانگرهای غالب متغیر است و هرچه این عدد بزرگتر باشد بیانگر بالا بودن قابلیت پرایمر یا مارکر مورد استفاده در غربال نمودن ژنوتیپ‌هاست (۴) که در این پژوهش این شاخص در حد مطلوبی بود، از آنجا که نشانگر SCoT حتی به سطوح پایین تغییرات ژنتیکی نیز حساس است تنوع ژنتیکی مطلوبی را در این پژوهش بین ژنوتیپ‌های گز نشان داد، که این حاکی از آن است که آل‌های خاص‌تری را بین ژنوتیپ‌ها تکثیر کرده است.

جمع‌بندی کلی نتایج

نشانگرهای مولکولی، ابزاری مفید برای استفاده در راستای بررسی تنوع و تغییرات ژنتیکی بین افراد و جمعیت‌ها هستند. در این تحقیق از نشانگر ISSR و SCoT که نوعی نشانگر غالب هستند، برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت-های گز شهرستان اردبیل استفاده شد. هر دو نشانگر تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ های گز را به خوبی نشان دادند و از لحاظ پارامترهای ژنتیکی تا حدودی مشابه به یکدیگر بودند پس می توان هر دو نشانگر را کارآمد بیان کرد. با مقایسه

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵ DOI: 10.22034/CMR.2024.2208

بین نشانگر SCoT و ISSR مشخص شد که در سه شاخص مهم تعداد باندهای چندشکل، میزان اطلاعات چند شکلی و درصد چندشکلی هر دو نشانگر تقریبا مشابه یکدیگر بودند و همچنین نشانگر ISSR به خوبی ژنوتیپ ها را گروه بندی نمود و این نشانگر ISSR توانست ژنوتیپ‌ها را براساس منطقه جغرافیایی آنها گروه بندی کند. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای مولکولی ابزار مفیدی برای سنجش خصوصیات موفولوژیکی و ژنتیکی و شناسایی دقیق‌تر جمعیت‌ها می‌باشد.

تقدیر و تشکر

برخود لازم می‌دانم از زحمات سایر اعضای گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی که ما را در انجام این پایان نامه کمک نمودند کمال تشکر را داشته باشم.

جدول ۴- خصوصیات و نتایج حاصل از تعداد باندهای هریک از آغازگرهای **SCOT**

نام آغازگرها	توالی آغازگرها	NSB	NPB	%P	PIC	(I)	(NA)	(Ne)	(H)
SCOT1	5'-CAACAATGGCTACCAGCA-3'	۵	۵	۱۰۰	۳۷	۰/۵۷	۱۰	۸/۷	۰/۳۹
SCOT2	5'-CATGGCTACCACCGCCC-3'	۶	۶	۱۰۰	۳۹	۰/۴۷	۱۲	۸/۹	۰/۳۰
SCOT3	5'-ACAATGGCTACCACCACA-3'	۶	۲	۳۳	۲۲	۰/۲۹	۴	۲/۷	۰/۱۵
SCOT4	5'-ACAATGGCTACCACTGAC-3'	۸	۶	۷۵	۴۴	۰/۵۷	۱۲	۱۰/۲	۰/۳۹
SCOT5	5'-CCATGGCTACCACCGCAG-3'	۷	۵	۷۱	۳۸	۰/۵۱	۱۰	۸/۰	۰/۳۴
تعدادکل	–	۳۲	۲۴	–	–	۰/۵۷	۱۰	۷/۷	۰/۳۱
میانگین	–	۶/۴	۴/۸	۷۵/۸	۳۶	۰/۴۷	۱۲	۸/۷	۰/۳۹

تعداد باندهای تکثیریافته (NSB)، تعداد باندهای چند شکلی (NPB)،درصد چند شکلی (%P)، میزان اطلاعات چندشکلی (PIC)، شاخص اطلاعاتی شانون (I)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، و شاخص تنوع ژنتیکی نی (H)

منابع

۱. اسدی م. ۱۳۸۱ . فلوررنگی ایران. *انتشارات تهران*. ۳۶۷ص.

۲. تیموری ه.، م. شیدایی. ۱۳۹۳. بررسی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی گونه های گز وحشی در استان سیستان و بلوچستان. اولین کنگره بین المللی و سیزدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، انجمن ژنتیک ایران.

۳. شاغولی ت.، ایجباری ح.، کشاورزی م.، شیدایی م. ۱۳۹۵. بررسی بیوسیستماتیکی گونه‌های *Tamarix* L در استان سمنان، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه الزهرا، تهران.

۴. فرشادفر م.، شیروانی ه.، امجدیان م. قلی پور م. ۱۳۹۶. مطالعه تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های رازیانه با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR. پژوهش های سلولی مولکولی (زیست شناسی ایران)، ۳۳-(۲)

5. Abolghasemi, S., Naderi, R. Fattahi Moghadam, MR. 2020. Evaluation of Genetic Diversity in Iranian Violet (*Viola spp*) Populations Using Morphological and RAPD Molecular Markers. J Genet Resour, 6(2): 157-171

6. Ahmadikhah, A. 2008. Advanced Genetics. Publication of GorganUniversity of Agricultural Science and Natural Resources. Gorgan. 348p.

7. Akhani, H., 2006. Biodiversity of Halophytic and Sabkha Ecosystems in Iran *Sabkha Ecosystems*. West and Central Asia: Springer. 2. 71-88.

8. Atapour, Y., Ghanbari, A., Estaji, A., Haghjooyan, R. 2022. Evaluation of genetic diversity of twenty-eight sweet cherry genotypes by morphological traits and SCoT markers in the northwest of Iran. J Genet Resour, 8(2): 138-146.

9. Brotherson, JD. Winkel, V. 1986: Habitat relationships of salt cedar (*Tamarix ramosissima*) in central Utah. Great Basin nat, 535-541.

10. Collard, BC., D.J. Mackill. 2009. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: a Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-targeted Markers in Plants. Plant Mol. Biol. Rep, 27(1): 86.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵
DOI: 10.22034/CMR.2024.2208

11. Francis, EH., Yang, C., Boyle, RC., Timothy, BJ., YE, Z-H., MAO, J. 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

12. Gaskin, JF., Ghahremani-nejad, D. Zhang, J.P. Londo. 2004. A Systematic Overview of *Frankeniaceae* and *Tamaricaceae* from Nuclear rDNA and Plastid Sequence Data. Ann. Missouri Bot. Gard, 401-409..

13. Ghanbari Al, Estaji A. 2018. ISSR analysis for determination of genetic diversity in 29 olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Iran. j. genet. plant breed,7(1): 32-41

14. Halveson, WL., Guertin, P. 2003. USGS Weeds in West project status of Introduced Plants in Southern Arizona Park, Factsheet for: *Tamarix* L. SPP.S125 Biological Sciences East, Arizona, 1-47.

15. Ijbari, H., Sheidai, M., Mehrabian, AR., Noormohammadi, Z. Ghasemzadeh-Baraki, S. 2014: K-means clustering and structure analyses of genetic diversity in Tamarix sp, accessions. Turk J Botany, 38 (6): 1080-1094.

16. Mayonde, S., Cron, G., Gaskin, J., Byrne, M. 2015. Evidence of Tamarix Hybrids in South Africa, as Inferred by Nuclear ITS and Plastid TrnS–trnG DNA Sequences. S. Afr. J. Bot, 96: 122-131.

17. Messmer, M., Melchinger, M., Boppenmaier, AE., J., Herrmann, R.G., Brunklaus-Jung, E. 1992. RFLP analyses of early-maturing European maize germ plasm. Theor. Appl. Genet, 83(8), 1003-1012.

18. Murray, M., Thompson, W.F. 1980. Rapid Isolation of High Molecular Weight Plant DNANucleic Acids Res, 8(19): 4321-4326.

19. Musarrat, R., Sadia, S., Naheed Kauser, Rabia Saba, Iqtidar Hussain, Anis Ali Shah, Muhammad Naveed Aslam, Jawaher Alkahtani, Mona S. Alwahib. 2020. Assessment of Inter simple sequence repeat (ISSR) and simple sequence repeat (SSR) markers to reveal genetic diversity among Tamarix ecotypes J. King Saud Univ. Sci, 32 (8): 3437-3446.

20. Pritchard, JK., Matthew, S., Peter, D.2000. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data Department of Statistics, University of Oxford, Oxford OX1 3TG, United Kingdom. Genetics Society of America

21. Reddy, M., P. Sarla, N. Siddiq, 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica, 128, 9-17.

22. Shirmohammadli, S., Sabouri, H., Ahangar, L. Ebadi, AA. 2018. Genetic Diversity and Association Analysis of Rice Genotypes for Grain Physical Quality Using iPBS, IRAP, and ISSR Markers. J Genet Resour, 4(2): 122-129.

23. Stevens, LE. 1985. Invertebrate herbivore community dynamics on Tamarix chinensis Loueiro and Salix exigua Nuttall in the Grand Canyon Arizona Northern Arizona University.

24. Zietkiewicz, E. Rafalski, A. Labuda, 1994. Genome fingerprinting by simplesequencerepeat(SSR)-anchored polymerase chainreactionamplification. Genomics, 20, 176-183.

مقاله پژوهشی، صفحات ۱۳۷-۱۲۵ DOI: 10.22034/CMR.2024.2208

Investigation on the Genetic Diversity in Different Salt cedar genotypes of Ardabil Province by Molecular Markers

Vakili Abbasalilo G., Pourbeyrami Y., Chamani E. and Estaji A.

Dept. of Horticultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. of Iran

Abstract

Tamarix is belonging to the *Tamaricaceae* family with 13 indigenous species of Iran and is one of the important ornamental plants in the landscape. This plant has been considered due to its resistance to the different weather and compatibility with salinity condition. In this study was conducted to investigate genetic diversity of different *tamarix* genotype endemic in the Ardebil province. The young leaves of 9 *tamarix* population were collected from natural habitats of this plant in Ardebil province to evaluate the genetic diversity. The leaves DNA were extracted using CTAB method. In this investigation 13 ISSR and 5 SCOT primers were used. A total number of 96 bands were produce by ISSR primers and the highest numbers of bands were amplified by UBC810- UBC826- UBC855. The average percentage polymorphism loci (PPL) was 6.75%, the highest polymorphism with the amount of 100% was in UBC814- UBC826 and UBC855 primers. The dendrogram was drowned based on WARD technique and genotypes classified into four main clusters. Also, a total of 32 band amplified by SCoT primer. The highest and lowest number of bands was obtained from SCoT4 and SCoT1, respectively. The average polymorphism percentage was 75.8%. In general, the results obtained from this study indicate that ISSR and SCoT primers were useful to separate the geographical region of genotypes. These primers also were highly efficient to determine the genetic diversity and relationship of studied *tamarix* populations. Hence, the use of these primers in other genetic studies like QTL and association mapping are recommended.

Keywords: Cluster Analysis, SCoT, ISSR, *Tamarix*, Polymorphism