ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۶
صفحه ۲۹۲ - ۲۸۵

بررسی ساختار و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT

The structure and genetic diversity of Iranian cumin populations (*Cuminum cyminum* L.) using SCoT molecular markers

مهسا ابراهیمیان[۱]، محسن ابراهیمی[۱]، سید محمدمهدی مرتضویان*[۱]، حسین رامشینی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیاران، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

Ebrahimiyan M[1], Ebrahimi M[1], Mortazavian SMM[*1], Ramshini H[1]

1- MSc Student, Associate Professors, Department of Agronomy Sciences and Plant Breeding, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mortazavian@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۷)

چکیده

زیره سبز گیاهی علفی، یک‌ساله، از خانواده چتریان و مهم‌ترین گیاه داوریی صادراتی مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران است. بذور زیره سبز دارای مواد متعددی است که حاوی آنتی‌اکسیدان و خواص ضد نفخی هستند. تاکنون هیچ رقم اصلاح شده‌ای از زیره سبز در کشور معرفی نشده‌است. به‌منظور اجرای برنامه اصلاحی آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی ضروری است. در این مطالعه، ۱۰ آغازگر SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی ٤٩ اکوتیپ جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران شامل نه استان مورد استفاده قرار گرفت. در مجموع، از ٤٨ باند تکثیر شده ٤١ باند چندشکل بوده و ٦٢/٠٣ درصد چندشکلی نشان دادند. یک آغازگر (SCoT26) فاقد باندهای چندشکل بود. میانگین باندهای چندشکل به ازای هر آغازگر ٥/١ برآورد شد. اندازه باندها بین ۲۵۰ تا ۳۰۰۰ جفت‌باز بدست آمد. جهت تجزیه خوشه‌ای از روش Centriod Linkage استفاده شد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، اکوتیپ‌های مختلف را در پنج گروه عمده قرار داد. هر گروه به زیرگروهایی قابل تقسیم بود. بیش‌ترین فاصله، بین اکوتیپ‌های اصفهان-فریدون و خراسان شمالی- شیروان، و کم‌ترین فاصله بین اکوتیپ‌های خراسان شمالی-اسفراین و خراسان شمالی-مانه مشاهده شد. مقادیر شاخص شانون و ضریب فاصله ژنتیکی نی نشان داد که بیش‌ترین تنوع درون جمعیتی در اکوتیپ‌های کرمان و کم‌ترین تنوع درون جمعیتی در اکوتیپ‌های سمنان وجود دارد. مقادیر شاخص‌های F_{ST} و Nm، بیانگر بالابودن تبادل ژنی بین نه جمعیت زیره سبز در ایران می‌باشد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) درون و بین جمعیت‌ها انجام گرفت. با توجه به مقادیر هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها، بین جمعیت‌ها و تنوع ژنتیکی کل، تنوع بین جمعیت‌ها بیشتر از تنوع درون جمعیت‌ها می‌باشد. این پژوهش نشان داد که تنوع قابل توجهی بین اکوتیپ‌های مختلف مورد بررسی جهت اصلاح جمعیت مانند گزینش توده‌ای ژنوتیپی و تولید ارقام مصنوعی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه واریانس مولکولی
زیره سبز
شاخص‌های تنوع
نشانگر SCoT

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

مقدمه

زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، گیاهی یک‌ساله، دیپلوئید (۲n=۱٤)، از خانواده چتریان و بومی مناطق مدیترانه است. زیره-سبز گیاه دارویی بسیار با ارزشی است که از زمان باستان در هند و مصر استفاده می‌شود (Rostami-Ahmadvandi, Cheghamirza et al. 2013; Mulpuri, Muddanuru et al. 2013). امروزه این گیاه در کشورهای مختلف از جمله چین، پاکستان، ایران، عراق، ترکیه، سوریه و مراکش کشت می‌شود (Rostami-Ahmadvandi, Cheghamirza et al. 2013). تولید جهانی زیره در حدود ۳۰۰۰۰۰ تن می‌باشد و طبق آمار، هند بزرگ‌ترین تولیدکننده (۷۰ درصد تولید جهان)، صادرکننده و مصرف‌کننده دانه زیره در جهان می‌باشد. کشورهای تولیدکننده اصلی دیگر سوریه (۷ درصد)، ترکیه (٦ درصد) و ایران (٦ درصد) هستند؛ سهم کشورهای دیگر باهم ۱۰ درصد است (agricommodityprices.com). بذور زیره سبز حاوی مواد شیمیایی متعددی است که ازجمله آن‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد نفخ است. زیره سبز تحرک دستگاه گوارش معده و روده را افزایش داده و هم‌چنین قدرت هضم را با افزایش ترشحات آنزیمی معده و روده افزایش می‌دهد. این ادویه منبع مهمی از مواد معدنی مانند آهن، مس، کلسیم، پتاسیم، منگنز، سلنیوم، روی و منیزیم است. این گیاه همچنین حاوی مقدار مناسبی از ویتامین‌های B مثل تیامین، ویتامین B-6 ، نیاسین، ریبوفلاوین، و دیگر ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی مثل ویتامین E، ویتامین A و ویتامین C است. بذور، غنی از بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های فنلی مانند کاروتن، زئانتین، و لوتئین است (Parashar and Malik 2014). برای حصول موفقیت در برنامه‌های به‌زراعی، نیاز به سیستمی برای حفاظت از منابع ژنتیکی است. برآورد یک تخمین واقعی از سطح پراکنش تنوع ژنتیکی در گونه‌های مهم یکی از اهداف اصلی حفاظت ژنتیکی است. ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی روشی مطمئن می‌باشد که اطلاعات پایه‌ای مفیدی راجع به گیاهان فراهم می‌کند (Bhattacharyya, Kumaria et al. 2013). اطلاعات ناقص درباره تنوع ژنتیکی یک عامل محدودکننده برای تولید انبوه و ایجاد بهترین واریته‌ها محسوب می‌شود. برای برآورد تنوع ژنتیکی نیاز به داده‌های مولکولی است. (Parashar and Malik 2014).

نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA برای استفاده در جهت اهداف مختلف، از جمله بررسی تنوع ژنتیکی، انگشت نگاری ارقام، تهیه نقشه ساختار ژنتیکی، و انتخاب به کمک نشانگر ایجاد شده‌اند (Huang, Zhang et al. 2014). اخیراً، یک روش جدید نشانگری DNA به نام چندشکلی هدفمند کدون آغازی (SCoT) طراحی شده‌است (Collars and Mackill 2009). سیستم نشانگری SCoT روشی مبتنی بر محل شروع ترجمه (ITS[1]) می‌باشد که اولین بار روی گونه‌های مدل برنج (*Oryza sativa*) بررسی شده‌است (Collard and Mackill 2009). از آنجایی‌که سیستم نشانگری SCoT غالب است، فرض شده‌است که هر باند نماینده‌ای از مکان‌های ژنی مستقل دواللی می‌باشد. سیستم نشانگری SCoT شبیه ISSR وRAPD می‌باشد زیرا آغازگر واحدی به‌عنوان آغازگر رو به جلو و معکوس استفاده می‌شود (Gao Zhu et al. 2014). باوجود اینکه سیستم نشانگری SCoT تعداد زیادی باند به ازای هر آغازگر ایجاد کرده و بسیار چندشکل است، اما با توجه به تکثیر تصادفی از ژنوم فاقد اطلاعات مرتبط با صفات بیولوژیکی گونه‌ها از جمله رنگ گل‌ها می‌باشد (Gao Zhu et al. 2014). سیستم نشانگری SCoT دارای ترکیبی از مزایای RAPD و ISSR می‌باشد، ساده، مقرون به صرفه و روشی مؤثر با تکرارپذیری بالا می‌باشد (Bhattacharyya Kumaria et al. 2013). این روش می‌تواند در بررسی تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه ژنتیکی مکان صفات کمی (QTL[2]) و تجزیه تفکیک توده‌ای[3] مورد استفاده قرار گیرد (Collard and Mackill 2009). گزارش-های بسیار کمی درخصوص تجزیه SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی گروه‌های مهم باغی، زراعی و دارویی وجود دارد. تجزیه سیستم نشانگری SCoT در مطالعات تنوع ژنتیکی و روابط درون جمعیتی واریته‌های برنج، ژنوتیپ‌های بادام زمینی تجاری (*Arachis hypogaea* L.)، (Xiong et al. 2011)، ارقام انبه (Luo et al. 2010, 2011) به‌خوبی مورد استفاده قرار گرفته‌است (Gao Zhu et al. 2014). علت ضرورت استفاده از این نشانگر بررسی ارتباط درون جمعیت گونه‌های مختلف و تشخیص

[1] Initiation Translate Site
[2] Quantitative Trait loci
[3] Bulk segregation Analysis

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

نشانگر مولکولی مناسب و مرتبط با صفات زراعی مهم می‌باشد (Gao Zhu et al. 2014).

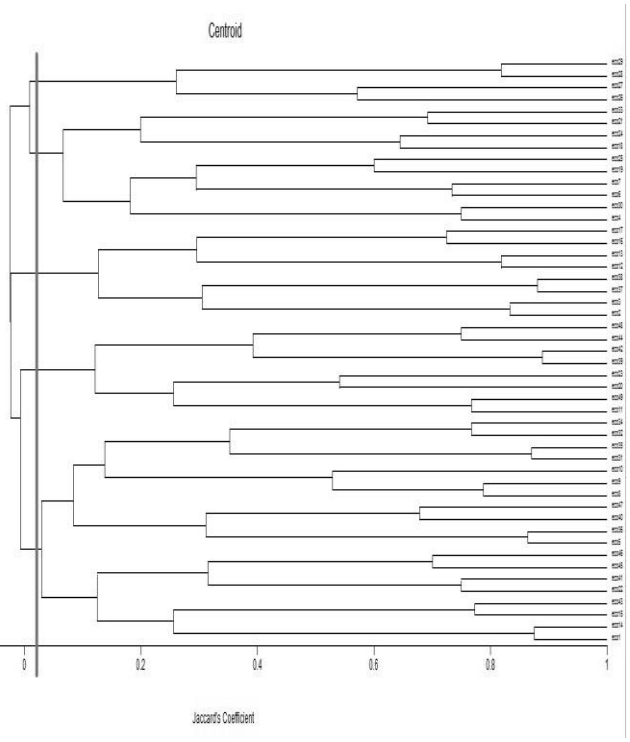
هدف از این پژوهش بررسی میزان تنوع ژنتیکی و پی بردن به ساختار ژنتیکی اکوتیپ‌های زیره سبز ایران توسط نشانگر SCoT به‌منظور بهبود روش‌های حفاظت ژنتیکی و استفاده بهینه از آن و نیز انتخاب صحیح در راستای تولید رقم اصلاح شده زیره سبز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

٤٩ اکوتیپ زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) با منشا متفاوت از بانک ژن گیاهان دارویی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران تهیه شد. کد مخصوص مربوط به محل جمع‌آوری هر اکوتیپ در جدول ۱ ذکر شده‌است. DNA از ۱/۵ گرم بافت تازه ده بوته از هر اکوتیپ به روش استخراج DNA گیاهان دارویی و آروماتیکی (Pirttilä Hirsikorpi et al. 2001) جداسازی شد. کیفیت DNA استخراجی توسط اسپکتوفتومتری و ژل آگارز یک درصد بررسی شد.

۱۰ آغازگر از بین توالی‌های حفظ شده اطراف کدون آغازین که توسط Joshi et al. (1997) و Sawant et al. (1997) معرفی شده بود انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت (Collard and Mackill 2009). این آغازگرهای ۱۸ بازی بر اساس توالی‌های کدون آغازی ATG در موقعیت‌های ۱+ ، ۲+، ۳+ و "G"، "A"، "C"، "C" به‌ترتیب در موقعیت‌های ٤+ ، ۷+ ، ۸+ هستند (Collard and Mackill 2009). تکثیر PCR به‌طور تجربی با آزمون غلظت‌های مختلف DNA ژنومی، آغازگر و منیزیم کلراید انجام شد. دمای اتصال بهینه بسته به توالی آغازگرها متفاوت بود. تکثیر PCR در حجم واکنش ۲۵ میکرولیتری شامل یک میکرولیتر DNA (باغلظت ۲۵ نانوگرم بر میکرولیتر)، ۱/۲۵ میکرولیتر آغازگر و ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2x با غلظت ۱/۵میلی‌مولار منیزیم کلرید، 0.4 mM dNTPs و 0.2 units/µl Taq DNA polymerase انجام گرفت. تکثیر PCR در ترموسایکلر با دمای دناتوره ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ٤۰ چرخه با دمای ۹٤ سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، دو دقیقه دمای اتصال هر آغازگر و دو دقیقه در دمای ۷۲ سانتی‌گراد به‌عنوان دمای گسترش و درنهایت ۵ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت بسط نهایی انجام شد. محصول PCR در ژل آگارز ۲ درصد با بافر TAE به مدت ۳ ساعت در ولتاژ ۱۰۰ از یکدیگر تفکیک شده و پس از رنگ‌آمیزی در اتیدیوم بروماید مشاهده و امتیازبندی شد.

تعداد قطعات چندشکل و تک شکل برای هر آغازگر امتیازدهی شد و قطعات تک شکل در محاسبات وارد نشدند. برای از بین‌بردن اثر زنجیره‌ای شدن[1] که در آن تفکیک ژنوتیپ‌ها و گروه‌بندی مشکل انجام می‌شود و باعث پیچیدگی تفسیر و ایجاد گروه‌های تک عضوی می‌شود (Farshadfar 2001)، روش‌های مختلفی بررسی و درنهایت روش Centroid Linkage و ضریب تشابه جاکارد انتخاب شد. کلاستربندی توسط نرم‌افزار MPVS 3.2 (شکل ۱) و آزمون مانتل با نرم‌افزار XLSTAT انجام گرفت. شاخص‌های ژنتیکی جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار POPGEN3.2 و ماتریس فاصله بین جمعیت‌ها براساس روش نی محاسبه شد (Nei 1973). دندروگرام بر اساس فواصل ژنی نی و با روش UPGMA ترسیم شد.



شکل۱- خوشه‌بندی ٤۹ اکوتیپ زیره سبز به روش Centroid Linkage با استفاده از نرم‌افزار MPVS 3.2

[1] Chaining effect

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

جدول۱- محل جمع‌آوری ٤٩ اکوتیپ زیره‌سبز جمع‌آوری شده از ۹ استان مختلف ایران

شماره اکوتیپ	جمعیت (استان)	اکوتیپ (شهرستان)	شماره اکوتیپ	جمعیت (استان)	اکوتیپ (شهرستان)
۱	فارس	سروستان	۲٦	خراسان جنوبی	بیرجند
۲	فارس	سپیدان	۲۷	خراسان جنوبی	سرایان
۳	فارس	سیوند	۲۸	خراسان جنوبی	درمیان
٤	فارس	استهبان	۲۹	اصفهان	فریدون
٥	یزد	اردکان	۳۰	اصفهان	سمیرم
٦	یزد	بافق	۳۱	اصفهان	اردستان
۷	یزد	صدوق	۳۲	اصفهان	نائین
۸	یزد	خاتم	۳۳	اصفهان	خوانسار
۹	یزد	سدرویی	۳٤	اصفهان	نطنز
۱۰	گلستان	مراوه-تپه	۳٥	سمنان	شهمیرزاد
۱۱	گلستان	آق‌قلا	۳٦	سمنان	سرخه
۱۲	گلستان	جت	۳۷	سمنان	ایوانکی
۱۳	گلستان	گنبد	۳۸	سمنان	کلاته
۱٤	کرمان	بافت	۳۹	خراسان شمالی	اسفراین
۱٥	کرمان	بردسیر	٤۰	خراسان شمالی	شیروان
۱٦	کرمان	چترود	٤۱	خراسان شمالی	بجنورد
۱۷	کرمان	جوپار	٤۲	خراسان شمالی	مانه
۱۸	کرمان	کوهبنان	٤۳	خراسان رضوی	گنبد
۱۹	کرمان	ماهان	٤٤	خراسان رضوی	فردوس
۲۰	کرمان	راور	٤٥	خراسان رضوی	تربت‌حیدریه
۲۱	کرمان	رفسنجان	٤٦	خراسان رضوی	تربت‌جام
۲۲	کرمان	سیرجان	٤۷	خراسان رضوی	کاشمر
۲۳	کرمان	زرند	٤۸	خراسان رضوی	تایباد
۲٤	خراسان جنوبی	قائن	٤۹	خراسان رضوی	بردسکن
۲٥	خراسان جنوبی	نهبندان			

جدول۲- اسامی آغازگرهای SCoT و تعداد باندها، تعداد باندهای چندشکل و درصد چندشکلی آن‌ها

ردیف	آغازگر	توالی	تعداد باند	تعداد باندهای چندشکل	چندشکلی (٪)
۱	SCoT2	CAA CAA TGG CTA CCA CCC	٦	٦	٪۱۰۰
۲	SCoT14	ACG ACA TGG CGA CCA CGC	۷	٦	٪ ۷٥/٦۲
۳	SCoT17	ACC ATG GCT ACC ACC GAG	۳	۲	٪ ٤۸/٤۲
٤	SCoT24	CAC CAT GGC TAC CAC CAT	۸	۸	٪۱۰۰
٥	SCoT27	ACC ATG GCT ACC ACC GTC	٥	٤	٪ ۳۸/۷٥
٦	SCoT29	CAA TGG CTA CCA CCG GCC	۲	۱	٪۲
۷	SCoT30	CCA TGG CTA CCA CCG GCG	۱۰	۹	٪ ٦۰/۸۰
۸	SCoT31	CCA TGG CTA CCA CCG CCT	٦	٥	٪ ۷۰/٦٥

در این ارزیابی تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های موثر، شاخص تنوع ژنتیکی نی و شاخص شانون برای هریک از جمعیت‌ها محاسبه شد. همچنین هتروزیگوسیتی کل (Ht)، هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها (Hs)، ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst) و شاخص تثبیت[1] (Fst) توسط فرمول Fst=(Ht-Hs)/Ht محاسبه شد (Lynch and Milligan 1994). تجزیه واریانس مولکولی بر اساس داده‌های مولکولی توسط نرم‌افزار GenAlEx 6.501 انجام گرفت.

[1] Fixation Index

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

نتایج

با وجود اهمیت دارویی و زراعی زیره سبز، اطلاعات کافی راجع به تنوع ژنتیکی این گیاه در دسترس نمی‌باشد (Gao Zhu et al. 2014). لذا، در این مطالعه، ٤٩ ژنوتیپ از *Cuminum cyminum* توسط نشانگر مولکولی SCoT مورد بررسی قرار گرفته است. آغازگرها درمجموع ٤٨ قطعه تکثیر کردند، که ٤١ باند چندشکل به‌دست آمد. فراوانی چندشکلی ٦٢/٠٣ درصد و میانگین ٥/١ باند چندشکل به ازای هر آغازگر ایجاد شد. بیش‌ترین میزان چندشکلی (١٠٠ درصد) در آغازگرهای SCoT2 و SCoT 24 مشاهده شد درحالی‌که کمترین مقدار چندشکلی (دو درصد) مربوط به آغازگر SCoT29 بود. میانگین هریک از شاخص‌های هتروزیگوسیتی کل (Ht)، تنوع درون جمعیت‌ها (Hs) و ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst) به‌ترتیب برابر ٠/٢٢، ٠/١٥ و ٠/٢٩ و بررسی‌های بسیاری کمی درخصوص تجزیه SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی گروه‌های مهم باغی، زراعی و دارویی استفاده شده است. تجزیه سیستم نشانگری SCoT در مطالعات تنوع ژنتیکی و روابط درون جمعیتی واریته‌های برنج، ژنوتیپ‌های بادام زمینی تجاری (*Arachis hypogaea* L.)، (Xiong et al. 2011)، ارقام انبه (Luo et al. 2010, 2011) به خوبی مورد استفاده قرار گرفته‌است (Gao, Zhu et al. 2014). علت ضرورت استفاده از این نشانگر بررسی ارتباط درون جمعیت گونه‌های مختلف و تشخیص نشانگر مولکولی مناسب و مرتبط با صفات زراعی مهم می‌باشد (Gao, Zhu et al. 2014). از ده آغازگر غربال شده در این پژوهش، نه آغازگر دارای محصولات تکثیری بودند. از بین این نه آغازگر، هشت آغازگر دارای باندهای چند شکل بودند درحالی که یکی از آن‌ها چندشکلی از خود نشان نداد. مقادیر ماتریس تشابه بر اساس ضریب جاکارد مبتنی بر نشانگرهای SCoT بین ٠/٣٠ در اکوتیپ‌های ٢٩ (اصفهان – فریدون) و ٤٠ (خراسان شمالی – شیروان)، تا ٠/٨٩ در اکوتیپ‌های ٣٩ (خراسان شمالی – اسفراین) و ٤٢ (خراسان شمالی – مانه) به‌دست آمد. اندازه باندهای تکثیرشده بین ٢٥٠ تا ٣٠٠٠ جفت‌باز بود. دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار MPVS 3.2 ترسیم شد. این دندروگرام دارای پنج خوشه بزرگ بود که این خوشه‌های بزرگ قابل‌تقسیم به زیرخوشه‌های دیگر هستند (شکل ١). با توجه به خوشه‌بندی اکوتیپ‌ها، اکوتیپ‌های خراسان شمالی و خراسان رضوی بایکدیگر در یک گروه قرار گرفتند درحالی‌که عمدتا اکوتیپ‌های جوامع سمنان و اصفهان با یکدیگر در یک گروه قرار گرفتند. آزمون مانتل با نرم‌افزار XLSTAT انجام و r=٠/٩٧ به‌دست آمد که نشان‌دهنده کارایی مطلوب دندروگرام ترسیمی در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت زیره سبز است. در پژوهش حاضر، استفاده از سیستم نشانگری SCoT در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت زیره سبز موفقیت‌آمیز بوده و تنوع بالایی را نشان داد. چندشکلی بالایی که سیستم نشانگری SCoT نشان داده است، اطلاعات مناسبی راجع به تنوع ژنتیکی گیاه دارویی زیره‌سبز فراهم کرد. نتایج مختلفی از تجزیه مولکولی اکوتیپ‌های زیره سبز توسط سایر نشانگرهای مولکولی ازجمله RAPD و ISSR به‌دست آمده است (Mulpuri, Muddanuru et al. 2013). میانگین هریک از عامل‌های هتروزیگوسیتی کل (Ht)، تنوع درون جمعیت‌ها (Hs)، ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst) به‌ترتیب برابر ٠/٢٢، ٠/١٥ و ٠/٢٩ بوده ومقادیر Fst و Nm بین جمعیت‌ها به‌ترتیب برابر ٠/٣٥ و ١/١٨ به‌دست آمد که رابطه عکس با یکدیگر داشته به‌طوری که وقتی Fst در بیش‌ترین مقدار است Nm در کمترین مقدارش است. Fst وNm نشان‌دهنده ساختارجمعیت و دوری و نزدیکی جمعیت‌ها از یکدیگر بوده و Nm نشان‌دهنده مهاجرت ژنی می‌باشد.

باتوجه به نتایج حاصل از ماتریس فاصله بین جمعیت‌ها مبتنی بر فاصله نی بیش‌ترین فاصله ژنتیکی با مقدار ٠/١٧ بین دو جمعیت یزد و خراسان جنوبی و کمترین فاصله ژنتیکی ٠/٠٤ بین جمعیت‌های فارس و کرمان مشاهده شد (جدول٣). دندروگرام حاصل از نه جمعیت ایرانی زیره سبز نشان داد که جمعیت‌های کرمان و فارس در یک گروه، خراسان رضوی و خراسان شمالی در کنار هم و خراسان جنوبی و سمنان نیز باهم گروه‌بندی شدند درحالی‌که جمعیت یزد در خوشه جداگانه‌ای طبقه‌بندی شد (شکل٣). در جمعیت‌های دگرگشن فاصله ژنتیکی می‌تواند به علت جریان ژنی بالا، کاهش پیدا کرده و تنوع درون جمعیت‌ها بیشتر باشد. با توجه به مقدار بالای Nm وهم‌چنین مقدار کم Fst می‌توان نتیجه گرفت که هتروزیگوسیتی هرجمعیت بالاست و نشان‌دهنده تبادل بالای ژنی بین جمعیت‌ها می‌باشد. با توجه به

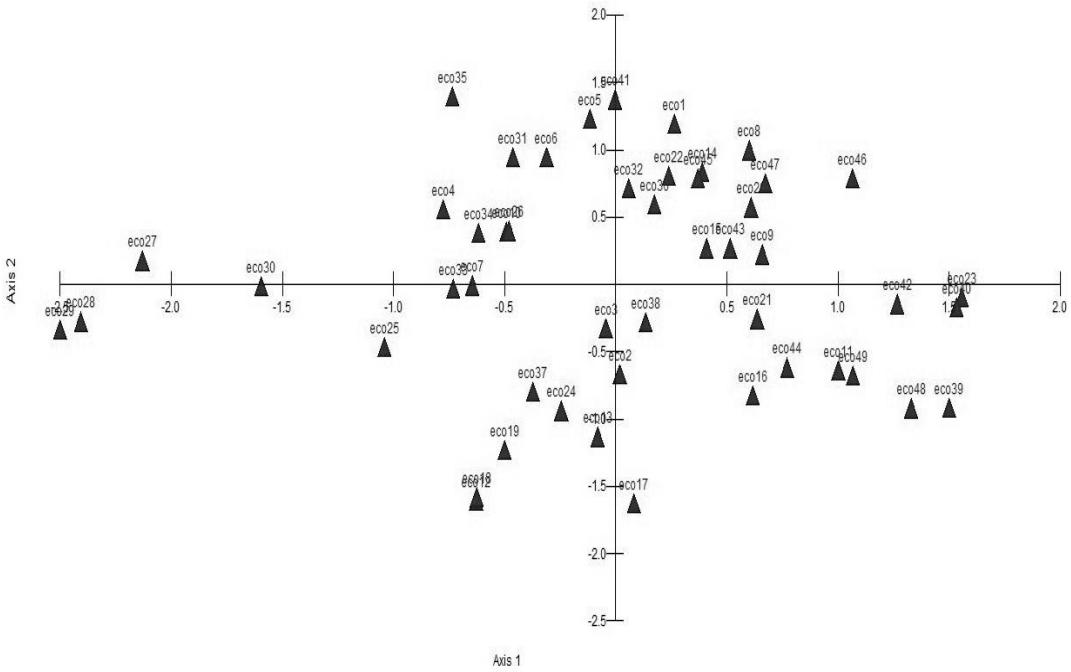
[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

مقادیر هتروزیگوسیتی درون جمعیت، هتروزیگوسیتی بین جمعیت و میزان تنوع ژنتیکی کل می‌توان دریافت که تنوع بین جمعیت‌ها در مقایسه با تنوع درون جمعیت‌ها بیشتر می‌باشد. از لحاظ تعداد آلل‌های موثر، جمعیت‌های کرمان و سمنان به‌ترتیب بیشترین و کمترین تعدادآلل مؤثر را دارند. با توجه به شاخص شانون و ضرایب تنوع نی جمعیت کرمان دارای بیشترین تنوع و جمعیت سمنان دارای کم‌ترین تنوع در بین نه جمعیت ایرانی است. تجزیه تنوع داده‌های مولکولی (AMOVA) بر اساس نشانگر SCoT نشان داد که ۱۳ درصد از تغییرات کل، مربوط به تنوع بین جوامع اکوتیپ‌های زیره سبز است در حالی‌که ۸۷ درصد از تغییرات با تنوع درون جوامع قابل توجیه می‌باشد (جدول ٤).

جدول۳- تنوع ژنتیکی مشاهده شده درون جمعیت‌های زیره سبز ایرانی

جمعیت	اندازه جمعت	na*	ne*	h*	I*	PPB*
فارس	٤	۱/۳۷	۱/۲۷	۰/۱۵	۰/۲۲	۳۷/۵
یزد	۵	۱/٤۰	۱/۲۳	۰/۱۳	۰/۲۰	۳۹/۵
گلستان	٤	۱/٤۸	۱/۳۲	۰/۱۸	۰/۲۷	٤۷/۹۲
کرمان	۱۰	۱/۷۳	۱/۳۷	۰/۲۲	۰/۳٤	۷۲/۹۲
خراسان جنوبی	۵	۱/۵۲	۱/۲۸	۰/۱۷	۰/۲٦	۵۲/۰۸
اصفهان	٦	۱/٤٦	۱/۲۷	۰/۱٦	۰/۲٤	٤۵/۸۳
سمنان	٤	۱/۲۵	۱/۱۷	۰/۰۹	۰/۱٤	۲۵
خراسان شمالی	٤	۱/۳۱	۱/۲۰	۰/۱۱	۰/۱۷	۳۱/۲۵
خراسان رضوی	۷	۱/٤۳	۱/۲۷	۰/۱٦	۰/۲۳	٤۳/۷۵
میانگین	٤۹	۱/۸۵	۱/۳٦	۰/۲۲	۰/۳۵	٤۳/۹۷

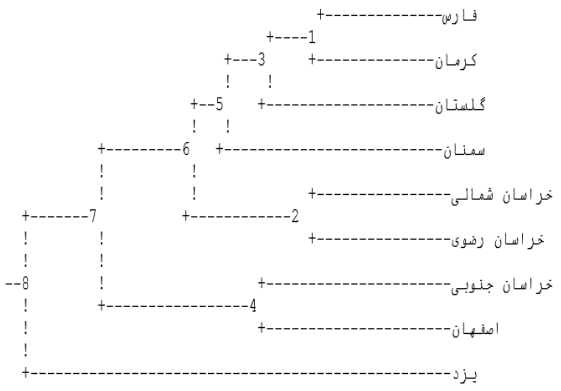
*na = Observed number of allel
h = Nei's gene diversity
* ne = Effective number of alleles
*I = Shannon's Information index
*PPB = Polymorphic Percentage Band



شکل۲- پلات دوبعدی حاصل از تجزیه PCo برای ٤۹ اکوتیپ زیره‌سبز توسط تجزیه PCo بر اساس گروه‌بندی چندشکلی SCoT

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]



شکل۳- خوشه‌بندی نه جمعیت ایرانی زیره سبز به روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار POPGEN 3.2

جدول ٤- تجزیه واریانس ٤٩ اکوتیپ زیره سبز توسط نشانگر SCoT

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی(Df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	درصد تغییرات	درصد احتمال
بین جمعیت	٨	٧٩/٦٧٨	٩/٩٦٠	٪١٣	≤٠١/٠
درون جمعیت	٤٠	٢٢٠/٤٨٦	٥/٥١٢	٪٨٧	≤٠١/٠
کل	٤٨	٣٠٠/١٦٣	٠/٨٣	٪١٠٠	-

بحث

به‌علت آب و هوای متنوع و تمدن قدیمی، ایران یکی از مراکز مهم تنوع ژنتیکی بوده و استان کرمان با تنوع زیستی زیره سبز دارای پتانسیل نامشخصی است که باید به اندازه کافی در نظر گرفته شود (Mulpuri, Muddanuru et al. 2013). ایجاد ارقام اصلاح شده، تولید و باروری بذرهای ادویه‌ای را تا حدی افزایش داده است. میزان تنوع ژنتیکی در ارقام سنتی این گونه‌های زراعی را به خطر انداخته است. بنابراین، حفاظت از ژرم پلاسم این ادویه بذری دارای اهمیت زیادی است. اگر این منابع ژنتیکی باارزش جمع‌آوری و نگهداری نشوند، ممکن است برای همیشه از بین بروند، از این رو جمع‌آوری و نگهداری تنوع زیستی ادویه‌های بذری در سرتاسر کشور و خارج از کشور مورد نیاز است (Mulpuri, Muddanuru et al. 2013). این پژوهش نشان‌دهنده تنوع بالای ژنتیکی زیره سبز (*Cuminum cyminum*) می‌باشد که بنا به نوع گرده‌افشانی این گیاه قابل توجیه است. همچنین این پژوهش نشان داد که ژرم پلاسم *Cuminum cyminum* دارای بنیه ژنتیکی عظیمی در ایران است. تجزیه نشانگرهای مولکولی SCoT دارای توانایی بررسی تنوع ژنتیکی درون اکوتیپ‌های زیره سبز است. با توجه به نتایج حاصل از نشانگر SCoT، احتمال وجود اجداد مشترک بین اکوتیپ‌های استان خراسان به‌خصوص خراسان شمالی و خراسان رضوی و همچنین بین اکوتیپ‌های سمنان و اصفهان و نیز بین جمعیت‌های کرمان و خراسان جنوبی وجود دارد. از این پژوهش می‌توان به این نتیجه رسید که نشانگر مولکولی SCoT دارای توانایی در بررسی تنوع ژنتیکی زیره سبز می‌باشد. در یک پژوهش توسط نشانگر مولکولی SSR، به بررسی تنوع مولکولی ٤٩ اکوتیپ زیره سبز پرداخته و احتمال وجود اجداد مشترک بین اکوتیپ‌های سمنان و اصفهان گزارش شده‌است (Bahraminejad and Mohammadinejad 2013). این محققین برای توجیه بهتر روابط ژنتیکی از روش Centroid Linkage برای طبقه‌بندی افراد استفاده نموده و احتمال وجود اجداد مشترک بین اکوتیپ‌های خراسان شمالی و خراسان رضوی بیان شده‌است. (2013) Baghizadeh et al. با استفاده از نشانگر RAPD، ٤٩ اکوتیپ ایرانی زیره سبز را مورد بررسی قرار داده و با استفاده از روش UPGMA دندوگرام زنجیره‌ای ارائه کردند (Baghizadeh, Karimi et al. 2013). با این حال، نشانگرهای مولکولی بیش‌تری باید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی زیره استفاده و به روابط دقیق ژنتیکی در اکوتیپ‌های زیره سبز پی برد.

بررسی پلی‌موفیسم ژنتیکی با استفاده از تجهیزات بیوتکنولوژی مدرن مثل نشانگرهای مولکولی بخش مهمی از به‌نژادی گیاهی محسوب می‌شود زیرا استفاده از آن به اصلاح‌گر گیاهی کمک می‌کند تا واریته‌های جدید ایجاد کند. تنوع ژنتیکی بالا بین جوامع ایرانی زیره سبز می‌تواند منجر به تولید جوامع با عملکرد بالای زیره سبز می‌شود (Mulpuri, Muddanuru et al. 2013). تنوع مولکولی بین ٤٩ اکوتیپ، به‌عنوان زیرجوامعی از نه جمعیت مشتق شده از مناطق مختلف ایران، پنج دسته را نشان داد. بر اساس این داده‌ها استنباط شد که پتانسیل بالایی از تنوع در جوامع زیره سبز ایرانی که منبع مهمی برای اهداف اصلاحی زیره سبز هستند وجود دارد. به‌طور خلاصه استفاده از سیستم نشانگری SCoT در ارزیابی روابط ژنتیکی اکوتیپ‌های زیره سبز موفقیت

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]

آمیز بوده و چندشکلی حاصل از این سیستم نشانگری در مدیریت ژرم‌پلاسمی، بهبود استراتژی‌های اصلاحی، و حفاظت از منابع ژنتیکی جمعیت‌های زیره سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد.

منابع

Baghizadeh A, MS Karimi and S Pourseyedi (2013). "Genetic diversity assessment of Iranian green cumin genotypes by RAPD molecular markers."International Journal of Agronomy and Plant Production 4: 472-479.

Bahraminejad A and G Mohammadinejad (2013). "Use of microsatellite markers for molecular characterization of cumin (Cuminum cyminum L.) ecotypes".

Bhattacharyya P, S Kumaria, S Kumar and P Tandon (2013). "Start Codon Targeted (SCoT) marker reveals genetic diversity of Dendrobium nobile Lindl., an endangered medicinal orchid species." Gene 529: 21-26.

Collard BC and DJ Mackill (2009). "Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants." Plant molecular biology reporter 27: 86-93.

Gao Y-h, Y-Q Zhu ,Z-k Tong, Z-y Xu, X-f Jiang and C-h Huang (2014). "Analysis of genetic diversity and relationships among genus Lycoris based on start codon targeted (SCoT) marker." Biochemical Systematics and Ecology 57: 221-226.

Huang X, X Zhang, L Huang ,Y Ma, G Yin, S Lee, J Zeng and H Liu (2014). "Genetic diversity of Hemarthria altissima and its related species by EST-SSR and SCoT markers."Biochemical Systematics and Ecology 57: 338-344.

Joshi C, H Zhou, X Huang, VL Chiang (1997). "Context sequences of translation initiation codon in plants"Plant Molecular Biology 35:993-1001.

Lynch M and BG Milligan (1994). "Analysis of population genetic structure with RAPD markers." Molecular ecology 3: 91-99.

Mulpuri S, T Muddanuru and G Francis (2013). "Start codon targeted (SCoT) polymorphism in toxic and non-toxic accessions of Jatropha curcas L. and development of a codominant SCAR marker."Plant science 207: 117-127.

Nei M (1973). "Analysis of gene diversity in subdivided populations." Proceedings of the National Academy of Sciences 70: 3321-3323.

Parashar M and C Malik (2014). "Appraisal of Genetic Diversity in Cuminum cyminum L. using Molecular Markers."LS: International Journal of Life Sciences 3: 143-156.

Pirttilä A M, M Hirsikorpi, T Kämäräinen, L Jaakola and A Hohtola (2001). "DNA isolation methods for medicinal and aromatic plants."Plant Molecular Biology Reporter 19: 273-273.

Rostami-Ahmadvandi H, K Cheghamirza, D Kahrizi and S Bahraminejad (2013). "Comparison of morpho-agronomic traits versus RAPD and ISSR markers in order to evaluate genetic diversity among Cuminum cyminum L. accessions".

Sawant SV, PK Singh, SK Gupta, R Madnala, R Tuli (1997). "Conserved nucleotide sequences in highly expressed genes in plants"Journal of Genetics 78:123-31.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2022-01-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.2.13.5]