

بررسی تنوع ژنتیکی گل محمدی با نشانگرهای RAPD و

مرفولوژیکی

مهناز کیانی^۱، ذبیح‌اله زمانی^۲، احمد خلیقی^۳، محمدرضا فتاحی مقدم^۴

۱- دانشجوی سابق دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، استادیار فعلی گروه

گیاهان زینتی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد

۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشیار، استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی، پردیس

کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mhkiani@ferdowsi.um.ac.ir

(تاریخ دریافت: - تاریخ پذیرش:)

چکیده

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی،
Rosa damascena
RAPD
مرفولوژی

گل محمدی یکی از گونه‌های مهم رز در ایران، از گذشته‌های دور به منظور تهیه گلاب و روغن‌های معطر مورد توجه بوده است. با وجود سابقه دیرین کشت گل محمدی در ایران، اصلاح ژنتیکی آن به دلیل اطلاعات اندک در زمینه ذخایر توارثی این گیاه محدود بوده است. به این منظور تحقیقی در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران جهت بررسی تنوع ژنتیکی گل محمدی انجام شد. تنوع ژنتیکی تعداد ۴۱ ژنوتیپ گل محمدی از نواحی مختلف ایران (استان‌های فارس، کرمان، اصفهان، آذربایجان شرقی و خراسان رضوی) و یک ژنوتیپ از بلغارستان، با استفاده از ۳۱ آغازگر RAPD و ۱۰ نشانگر مرفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر دو نشانگر ملکولی و مرفولوژیکی درجه بالایی از چندشکلی را در میان ژنوتیپ‌های گل محمدی در ایران نشان دادند. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس نتایج RAPD به ۱۰ گروه در مقایسه با سه گروه بر اساس صفات مرفولوژیکی تقسیم‌بندی شدند. مقایسه گروه‌بندی حاصل از دو روش نشان‌دهنده کارایی کمتر نشانگرهای مرفولوژیکی در تفکیک ژنوتیپ‌ها در مقایسه با نشانگرهای ملکولی بود. بر اساس نتایج این مطالعه، ذخیره توارثی گل محمدی مورد بررسی از تنوع ژنتیکی قابل توجهی برخوردار بوده و می‌تواند منبع ارزشمندی برای پژوهش‌های به‌نژادی این گونه در آینده باشد.

مقدمه

رژها با توجه به کاربردهای متنوعی که دارند در سطح وسیعی از جهان مورد کشت و کار قرار می‌گیرند. گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) در صنعت عطرسازی مهمترین گونه‌ای است که مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷) و از دیرباز به عنوان یک گیاه ارزشمند در زمینه کاربردهای دارویی، غذایی، تولید عطر و همچنین زینت بخش باغچه‌ها و فضای سبز مورد توجه ایرانیان بوده است. طبق اسناد قدیمی یکی از مالیات‌های مهم حاکمان نواحی جنوب غربی ایران مقادیر زیاد گلاب بود که در دوره خلفای بنی‌عباس تحویل حکومت مرکزی می‌گردید. شاهد بر این امر، اختصاص یافتن خراجی سالیانه معادل ۳۰ هزار بطری گلاب از استان فارس به خلیفه بغداد در فاصله سال‌های ۸۱۰ تا ۸۱۷ میلادی می‌باشد. در این زمان استان فارس مرکز جهانی تولید گلاب و صادر کننده این محصول به چین و کشورهای اسلامی بود (۷، ۱۰ و ۱۷). در زمینه منشاء این گونه اتفاق نظر وجود ندارد اما این فرضیه مطرح شده است که گل محمدی در نتیجه اثرات متقابل ناشی از انتخاب آگاهانه، جابجائی و نوترکیبی بین گونه‌های رز در مناطق شرقی مدیترانه ایجاد شده است (۱۷). در طی سه دهه گذشته راهبردهای کلاسیک برای ارزیابی تنوع ژنتیکی مانند مقایسه‌های آناتومی، مرفولوژی و فیزیولوژی به طور روزافزونی با روش‌های ملکولی تکمیل شده‌اند (۱۵) و نشانگرهای ملکولی برای ارزیابی تنوع زیستی گونه‌های مختلف رز در مناطق مختلف بکار برده شده‌اند. در بررسی‌های انجام شده در زمینه تنوع ژنتیکی گل محمدی با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR در بلغارستان (۲ و ۱۲) و AFLP در ترکیه (۴) تنوعی در بین ژنوتیپ‌های گل محمدی مورد کشت برای تولید روغن رز در این دو منطقه یافت نشد. در حالیکه در گزارش‌های قبلی در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی در ایران با استفاده از نشانگرهای AFLP (۱۱) و SSR (۳) تنوع زیادی گزارش شده است. در رابطه با ارزیابی صفات مرفولوژیکی در بین ژنوتیپ‌های گونه *R. damascena* در ایران نیز گزارش‌های محدودی ارائه شده است. دوازده امامی (۱) در شناسایی ژنوتیپ‌های گل محمدی در منطقه کاشان با مقایسه خصوصیات مرفولوژیکی گزارش کرد که

انواع گل محمدی مورد کشت انبوه در آن ناحیه دارای خصوصیات مرفولوژیکی یکسان هستند. اما طبائی عقدایی و همکاران^۱ (۱۳) با مقایسه ژنوتیپ‌های گل محمدی در سطحی وسیع‌تر از کشور با استفاده از پنج صفت مرفولوژیکی (وزن گل، قطرگل، طول دمگل، تعداد گلبرگ و پرچم) تفاوت معنی‌دار صفات مورد بررسی را گزارش کردند. با توجه به اینکه شناسایی و معرفی ژنوتیپ‌های برتر و نیز بررسی میزان قرابت ژنوتیپ‌های گل محمدی می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های آینده جهت اصلاح عملکرد و کیفیت محصول کمک قابل توجهی نماید. لذا ارزیابی دقیق‌تر ژنوتیپ‌های جمع آوری شده از ۵ استان کشور با استفاده از نشانگر RAPD و صفات مرفولوژیکی به عنوان هدف این پژوهش انتخاب شد.

مواد و روش‌ها

۴۱ ژنوتیپ گل محمدی جمع آوری شده از استان‌های فارس، اصفهان، آذربایجان شرقی، کرمان و خراسان رضوی و رقم خزانلیک^۲ از بلغارستان (با همکاری شرکت گلاب زهرا، لاله‌زار کرمان)، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱). جمع‌آوری نمونه‌ها در اواخر زمستان ۱۳۸۳ انجام شد، برای نمونه‌گیری از گیاهان مادری از پاجوش که متداولترین و آسانترین روش ازدیاد این گیاه می‌باشد، استفاده و نمونه‌ها در زمین اصلی واقع در مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی در موقعیت عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۱۰ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا کشت شدند. آزمایش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید

استخراج DNA از نمونه‌های برگ با استفاده از روش ورابی و همکاران^۳ (۱۴) انجام شد. ۱۳۰ آغازگر RAPD (سری TIBMOBOL و OPERON-آلمان) ۱۰ نوکلئوتیدی (یک آغازگر ۹ تائی) با استفاده از نمونه‌های DNA چهار ژنوتیپ متمایز از نظر صفات مرفولوژیکی غربال شدند. این آزمون دو تا سه بار تکرار و تنها نشانگرهایی که الگوهای بانندی تکرارپذیری

1 Tabaei-Aghdaei et al.

2 Khazanlik

3 Vroh Bi et al.

نشان دادند، برای ارزیابی تمام ژنوتیپ‌ها بکار برده شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز^۴ درحجم ۲۵µl شامل بافر واکنش PCR یک برابر، ۱/۷۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی مولار dNTPs، ۰/۴ میکرو مولار آغازگر، ۱ واحد آنزیم Taq پلی‌مراز و ۵ نانوگرم DNA انجام گردید. شرایط دمائی PCR، یک چرخه در $94^{\circ}C$ به مدت ۴ دقیقه، ۳۵ چرخه در $92^{\circ}C$ (۱ دقیقه)، $37^{\circ}C$ (۱ دقیقه)، $72^{\circ}C$ (۲ دقیقه) و در نهایت یک چرخه در $72^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه بود. الکتروفورز محصولات تکثیری بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد انجام گرفت. باندهای حاصل که از وضوح و شدت مناسب برخوردار بودند به صورت حضور (یک) و عدم حضور (صفر) امتیازدهی شدند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه جاکارد

به روش UPGMA با استفاده از نرم افزار NTSYS (نسخه ۲.۰۲) انجام گرفت. برای مقایسه ماتریس‌های تشابه حاصل از داده‌های مرفولوژیکی و نشانگرهای RAPD آزمون مانتل^۵ (۸) با استفاده از نرم افزار NTSYS انجام شد.

صفات مرفولوژیکی مورد ارزیابی شامل تعداد گلبرگ و پرچم، شکل انشعاب کاسبرگ، خارهای ریز کاسه‌گل و دمگل، شکل گوشواره، شکل نوک و قاعده برگچه انتهایی، حاشیه برگ و شکل خار بودند. اندازه‌گیری‌های صفات در هر واحد آزمایشی در هر بلوک که شامل سه گیاه بود به صورت مجزا با سه تکرار برای هر صفت در هر گیاه انجام شد. در نهایت میانگین سه واحد آزمایشی (سه بلوک) برای ارزیابی‌های نهایی مورد استفاده قرار گرفت.

4 Polymerase chain reaction (PCR)

5 Mantel

جدول ۱- مشخصات محل جمع‌آوری ۴۲ ژنوتیپ گل محمدی مورد مطالعه

منشاء ژنوتیپ‌ها و محل نمونه برداری			
ژنوتیپ	استان یا کشور مبدا	شهرستان مبدا	محل نمونه برداری
G1	آذربایجان شرقی	تبریز	کلکسیون شرکت تقطیران-کاشان
G2	اصفهان	کاشان- کامو	کلکسیون شرکت تقطیران-کاشان
G3	تهران	تهران- لواسانات	کلکسیون شرکت تقطیران-کاشان
G4	اصفهان	کاشان، مشهد اردها	کلکسیون شرکت تقطیران-کاشان
G5	فارس	میمند	کلکسیون شرکت تقطیران-کاشان
G6	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G7	فارس	داراب	روستای روستاق
G8	فارس	داراب	قلعه بیابان
G9	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G10	فارس	میمند	صحرا سفید
G11	فارس	میمند	کنگ
G12	فارس	میمند	میمند
G13	کرمان	بردسیر	بردسیر
G14	کرمان	بردسیر	بردسیر
G15	کرمان	ماهان	ماهان
G16	آذربایجان شرقی	اسکو	عنصرود
G17	آذربایجان شرقی	تبریز	لیقوان
G18	آذربایجان شرقی	اسکو	کندوان
G19	آذربایجان شرقی	اسکو	عنصرود
G20	آذربایجان شرقی	اهر	اهر

G21	اصفهان	کاشان	قمصر
G22	اصفهان	کاشان	ویداجا
G23	اصفهان	کاشان	نیاسر
G24	خراسان	مشهد	فرخد
G25	خراسان	مشهد	فرخد
G26	آذربایجان شرقی	تبریز	روستای هروی
G27	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G28	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G29	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G30	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G31	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G32	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G33	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G34	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G35	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G36	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G37	فارس	داراب	ارتفاعات لایزنگان
G38	اصفهان	کاشان	دانشکده کشاورزی کرج
G39	کرمان	کاشان	دانشکده کشاورزی کرج
G40	کرمان	کاشان	دانشکده کشاورزی کرج
G41	کرمان	کاشان	دانشکده کشاورزی کرج
G42	بلغارستان	کرمان	بردسیر

نتایج و بحث

نشانگر RAPD

از بین ۱۳۰ آغازگری که با استفاده از چهار ژنوتیپ به صورت مقدماتی غربال شدند، ۳۱ آغازگر که در بین ژنوتیپ‌ها چندشکل بوده و از نظر حضور و شدت باندها همسان بودند، انتخاب و برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۲ ژنوتیپ گل محمدی بکار برده شدند. آغازگرهای انتخابی منتج به تولید ۳۴۳ باند قابل امتیازدهی شدند که از بین آنها ۱۹۰ باند (۵۵/۴ درصد) چندشکل بودند. تعداد باندهای چندشکل هر آغازگر از ۲ تا ۱۲ متغیر بود و باندها در دامنه اندازه ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز قرار گرفتند (جدول ۲). دندروگرام حاصل از روش UPGMA (شکل ۱) همخوانی بالایی را با ماتریس تشابه نشان داد ($r=0/99$). با در نظر گرفتن ضریب تشابه ۰/۸۵ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به ۱۰ گروه تقسیم شدند.

۲۷ ژنوتیپ از مناطق مختلف جغرافیایی در گروه اول قرار گرفتند که شامل تمامی ژنوتیپ‌های کرمان، بیشتر نمونه‌های اصفهان و شیراز به استثنای G2 از اصفهان و G5، G9، G30 و G33 از فارس بودند. ژنوتیپ G31 با گل‌های منفرد (۵ گلبرگی) که به عنوان اجداد اولیه گل محمدی معرفی شده‌اند (۷) نیز در این گروه قرار گرفت. سه زیر گروه در گروه اول شکل گرفت که نشان دهنده مقادیر پائین تنوع در بین ژنوتیپ‌های این گروه بود. ژنوتیپ بلغاری نیز به همراه تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های بومی در این گروه قرار گرفت و ۱۹ ژنوتیپ از ۲۰ ژنوتیپ زیرگروه اول نیمرخ باندی مشابهی با ژنوتیپ بلغاری نشان دادند. پنج ژنوتیپ از فارس در دومین زیر گروه و دو ژنوتیپ از فارس و یک ژنوتیپ از اصفهان در سومین زیر گروه قرار گرفتند. مقادیر

شباهت در بین ژنوتیپ‌های این دو زیر گروه نیز بالا (۹۷ تا ۱۰۰ درصد) بود. شش ژنوتیپ بعدی در گروه‌های مجزا قرار گرفتند که به ترتیب ژنوتیپ‌های G33 از فارس، G24 از خراسان، G3 از تهران، G1 از آذربایجان شرقی، G26 از آذربایجان شرقی و G2 از اصفهان بودند. دو گروه بعدی که بیشتر شامل ژنوتیپ‌های آذربایجان شرقی بودند، تنوع ژنتیکی بیشتری نشان دادند و میزان

تشابه آنها با گروه اصلی ۲۷٪ بود. آخرین گروه نیز شامل ژنوتیپ‌های G5، G9 و G30 بودند. این سه ژنوتیپ، متمایزترین ژنوتیپ‌ها بوده و در ضریب تشابه ۱۶ درصد با سایر گروه‌ها، خوشه‌بندی شدند.

جدول ۲- نتایج حاصل از آغازگرهای RAPD چند شکل بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

ردیف	نام آغازگر	توالی (5'-3')	مجموع باندها (a)	باندهای چندشکل (b)	درصد چندشکلی (b/a × 100)
۱	TIBMBE-05	GGA ACG CTA C	۱۱	۸	۷۲/۷۲
۲	TIBMBA-06	GGA CGA CCG T	۱۴	۱۰	۷۴/۱۴
۳	TIBMBE-20	CAA AGG CGT G	۱۵	۱۲	۸۰
۴	TIBMBB-18	CAA CCG GTC T	۱۱	۹	۸۱/۸۱
۵	TIBMBE-03	TGG ACT CGG T	۹	۷	۷۷/۷۷
۶	TIBMBE-19	AGG CCA ACA G	۱۰	۷	۷۰
۷	OPAE-10	CTG AAG CGC A	۱۵	۱۰	۶۶/۶۶
۸	TIBMBB-08	TCG TCG AAG G	۱۳	۶	۴۶/۱۵
۹	TIBMBE-18	CCA AGC CGT C	۱۴	۷	۵۰
۱۰	TIBMBD-18	ACG CAC ACT C	۱۰	۵	۵۰
۱۱	TIBMBB-16	TCG GCA CCG T	۱۱	۴	۳۶/۳۶
۱۲	TIBMBB-15	AAG TGC CCT G	۹	۵	۵۵/۵۵
۱۳	TIBMBD-07	GAG CTG GTC C	۱۰	۵	۵۰
۱۴	TIBMBD-12	GGG AAC CGT C	۱۰	۵	۵۰
۱۵	TIBMBE-06	CAG CGG GTC A	۱۱	۹	۸۱/۸۱
۱۶	TIBMBC-02	ACA GTA GCG G	۱۰	۶	۶۰
۱۷	TIBMBE-07	CCG TCC TAT G	۱۰	۷	۷۰
۱۸	TIBMBE-02	ACG CCT GTA G	۸	۳	۳۷/۵
۱۹	TIBMBA-13	AGG GCG AAT G	۱۴	۸	۵۷/۱۴
۲۰	TIBMBB-04	ACC AGG TCA C	۱۵	۹	۶۰
۲۱	TIBMBB-05	GGG CCG AAC A	۱۰	۵	۵۰
۲۲	OPAD-16	AAC GGG CGT	۱۱	۷	۶۳/۶۳
۲۳	TIBMBB-20	CCA GGT GTA G	۱۴	۸	۵۷/۱۴
۲۴	TIBMBE-04	CCC AAG CGA A	۱۰	۵	۵۰
۲۵	TIBMBE-10	AAG CGG CCC T	۱۰	۴	۴۰
۲۶	TIBMBE-15	TTC GGC GAT G	۸	۴	۵۰
۲۷	TIBMBD-19	GGT TCC TCT C	۱۰	۵	۵۰
۲۸	TIBMBB-19	TTG CGG ACA G	۱۴	۳	۲۱/۴۲
۲۹	TIBMBA-02	TGC TCG GCT C	۱۰	۲	۲۰
۳۰	TIBMBA-19	CCA TCC GTT G	۷	۳	۴۲/۸۵
۳۱	TIBMBE-11	GTC CTG CTG T	۹	۲	۲۲/۲۲
مجموع			۳۴۳	۱۹۰	
میانگین			۱۱/۰۶	۶/۱	۵۴/۶۷

صفات مرفولوژیکی

تجزیه خوشه‌ای داده‌های مرفولوژیکی بر اساس مربع فاصله اقلیدسی، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه منتسب کرد (شکل ۲). ۲۷ ژنوتیپ در گروه اول قرار گرفتند که شامل شش ژنوتیپ از مجموع هشت ژنوتیپ استان فارس، هفت ژنوتیپ از استان‌های اصفهان و کرمان و یک ژنوتیپ از خراسان رضوی بودند. ژنوتیپ بلغاری نیز با بیشتر ژنوتیپ‌های ایرانی در گروه اول قرار گرفت. شش ژنوتیپ از آذربایجان شرقی با توجه به صفات متمایزی مانند تراکم بیشتر خارهای ریز دمگل، شکل متفاوت گوشواره و قاعده برگچه گرد همراه سه ژنوتیپ G3 از تهران، G38 از اصفهان و G41 ناشناخته، دومین گروه را تشکیل دادند. چهار ژنوتیپ G5، G9، G28 و G30 از فارس، دو ژنوتیپ از آذربایجان شرقی (G1 و G26) به همراه G2 از اصفهان نیز با توجه به انشعابات کاسبرگی متفاوت، تراکم کمتر خارهای ریز کاسه‌گل و دمگل و تعداد بیشتر گلبرگ به از سایر ژنوتیپ‌ها جدا و در گروه سه قرار گرفتند.

مقایسه نتایج حاصل از نشانگرهای RAPD و صفات مرفولوژیکی

هر دو نشانگر RAPD و مرفولوژیکی درجه بالایی از چندشکلی را در میان ژنوتیپ‌های گل محمدی در ایران نشان دادند که مغایر با فقدان تنوع گزارش شده در مطالعات انجام شده در بلغارستان (۲ و ۱۲) و ترکیه (۴) بود. ژنوتیپ بلغاری با اغلب ژنوتیپ‌ها در زیرگروه اصلی طبقه‌بندی شد که مطابق با گزارش‌های قبلی با استفاده از نشانگر SSR (۳) می‌باشد. بنابراین می‌توان این‌گونه فرض کرد که ژنوتیپ‌های گل محمدی بلغارستان از ایران به آن منطقه انتقال یافته باشند (۵ و ۶). در مقایسه نتایج حاصل از نشانگر RAPD و نشانگرهای مرفولوژیکی، همبستگی نسبتاً خوبی بین ماتریس‌های تشابه ($r = 0.74$) بدست آمد. در مجموع نشانگر ملکولی RAPD تنوع ژنتیکی بالاتری را در مقایسه با نشانگرهای مرفولوژیکی نشان داد و ژنوتیپ‌ها را به ۱۰ گروه مجزا در مقایسه با سه گروه حاصل از نتایج داده‌های مرفولوژیکی، تقسیم بندی کرد. نشانگر RAPD دو ژنوتیپ G24 از خراسان و G۳۳ از فارس را در گروه‌های مستقل قرار داد در صورتیکه با استفاده از

نشانگرهای مرفولوژیکی، این دو ژنوتیپ در گروه اصلی قرار گرفتند. همچنین نشانگرهای مرفولوژیکی ژنوتیپ‌های آذربایجان شرقی را در یک گروه قرار دادند در صورتی که با استفاده از نشانگر RAPD برخی از آنها از هم جدا شدند. ژنوتیپ‌های G28 (فارس) و G2 (آذربایجان) بر اساس داده‌های مرفولوژیکی تشابه نشان دادند ولی بر اساس داده‌های ملکولی از هم متفاوت بودند. از ویژگی‌های مشابه و متفاوت این دو ژنوتیپ می‌توان به ترتیب به تعداد بیشتر گلبرگ در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها و گسترش کاسبرگی و شکل برگ متفاوت اشاره کرد. در مجموع درجه تفکیک‌پذیری ژنوتیپ‌ها برای داده‌های مرفولوژیکی کمتر بود و نشانگرهای ملکولی از دقت و قدرت بیشتری در مقایسه با نشانگرهای مرفولوژیکی مورد استفاده در این مطالعه برخوردار بودند. تفکیک‌پذیری محدود ژنوتیپ‌ها با استفاده از داده‌های مرفولوژیکی را می‌توان به کارایی کمتر نشانگرهای مرفولوژیکی در تفکیک نمونه‌ها با درجه خویشاوندی بالا در مقابل کارایی بالای انگشت نگاری‌های DNA دانست (۹). همچنین تعداد کم نشانگرهای مرفولوژیکی مورد استفاده در این آزمایش می‌تواند از دیگر دلایل تفکیک‌پذیری کمتر آنها باشد. ون و همکاران^۶ (۱۶) نیز در بررسی روابط ژنتیکی *R. roxburghii* و خویشاوندان وحشی آنها از نشانگرهای مرفولوژیکی، RAPD و AFLP استفاده کردند. این محققین همبستگی معنی‌داری بین سه نشانگر گزارش کردند که در بین آنها ماتریس‌های دو نشانگر ملکولی همبستگی بالاتری ($r = 0.71$) را نشان دادند.

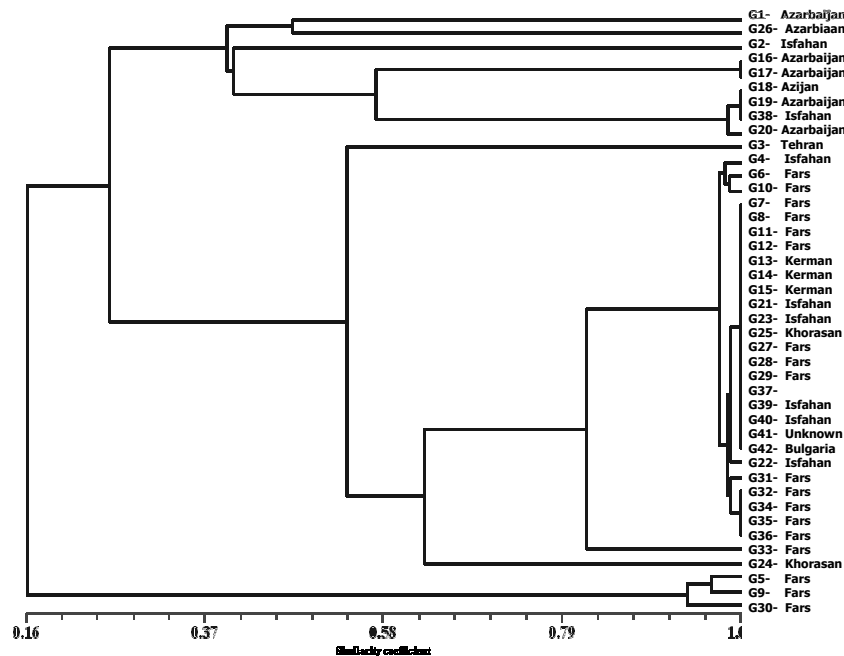
نتایج این مطالعه اطلاعات ارزشمند و گسترده‌ای در رابطه با ژنوتیپ‌های گل محمدی ایران فراهم نمود. مقادیر بالای چندشکلی مشخص شده در ژنوتیپ‌های گل محمدی، بیانگر پایه ژنتیکی وسیع‌تر این گونه در ایران است که می‌تواند در نتیجه حضور گونه‌های مختلف جنس رز در این سرزمین، تنوع جغرافیایی، انتخاب و کشت و کار در طی قرن‌ها برای صفات تجاری و سازگاری بهتر با شرایط آب و هوایی مختلف باشد. با توجه به این که کشور ما یکی از مراکز تنوع این گونه می‌باشد و تنوع ژنتیکی سایر کشورهای تولید کننده این محصول محدود

⁶ Wenetal.

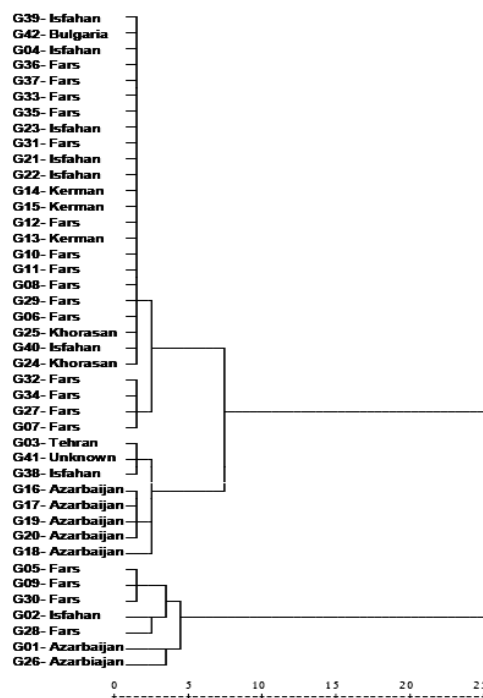
ویژه در زمینه تولید عطر فراهم کرد. به دلیل اینکه ایران با دارا بودن شرایط اقلیمی و آب و هوایی مناسب و به خصوص ارتفاع زیاد از سطح دریا قادر به تولید عطر با کیفیت بسیار بالایی می‌باشد.

می‌توان با ادامه تحقیقات روی این گونه و اجرای طرحهای مختلف به زراعی و به‌نژادی به خصوص با انجام دورگ‌گیری‌های هدفمند، دگرگونی‌های قابل توجهی در اصلاح این گونه ایجادکرد و جایگاه مناسب‌تری را در بازارهای جهانی به

شکل ۱- دندوگرام ۴۲ ژنوتیپ گل محمدی با استفاده از نشانگر RAPD براساس ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA



شکل ۲- دندروگرام ژنوتیپ های گل محمدی با استفاده از ۱۰ صفت مرفولوژیکی به روش وارد



منابع

recalcitrant plant DNA by use of activated charcoal during DNA extraction. Plant Breeding 115: 205–206

15- Weising K, Nybon H, Wolff K, Gunter K (2005) DNA Fingerprinting in Plants, Principle Methods and Applications, 2nd ed, CRC Press Boca Raton FL USA. 472 pp

16- Wen XP, Pang XM, Deng XX (2004) Characterization of genetic relationships of *Rosa roxburghii* Tratt and its relatives using morphological traits RAPD and AFLP markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 79: 189–196
Widrechner MP (1981) History and utilization of *Rosa damascena*. Economic Botany 35: 42–58

۱- دوازده امامی س (۱۳۸۱) شناسایی واریته ها و

کولتیوارهای گل محمدی کاشان. گزارش نهایی طرح. مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان

2- Agaoglu Y, Ergul A, Baydar N (2000) Molecular analyses of genetic diversity of oil rose (*Rosa damascena* Mill) grown in Isparta (Turkey) region. Biotechnology & Biotechnological Equipment 14: 16–18

3- Babaei A, Tabaei-Aghdaei SR, Khosh-Khui M, Omidbaigi R, Naghavi MR, Esselink GD, Smulders MJM (2007) Microsatellite analysis of Damask rose (*Rosa damascena* Mill) accessions from various regions in Iran reveals multiple genotypes. BMC Plant Biology < www.biomedcentral.com/1471-2229/7/12>

4- Baydar NG, Baydar H, Debener T (2004) Analysis of genetic relationships among *Rosa damascena* plants grown in Turkey by using AFLP and microsatellite markers. Journal of Biotechnology 3: 263–267

5- Bayrak A, Akgul A (1994) Volatile oil composition of Turkish rose (*Rosa damascene*. Journal of the Science of Food and Agriculture 64: 441–448

6- Chevallier A (1996) The Encyclopedia of Medicinal Plants. Dorling Kinderesly London. 336 pp.

7- Dickerson BC (1999) The Old Rose Adventure Timber Press. 628 pp

8- Mantel N A (1967) The detection of disease clustering gene and a generalized regression approach. Cancer Research 27: 209–220.

9- Nybom H, Esselink GD, Werlemark G, Leus L, Vosman B (2006) Unique genomic configuration revealed by microsatellite DNA in polyploid dogroses *Rosa* sect Caninae. Journal of Evolutionary Biology 19: 635–648

10- Perry EJ (1925) Perry's Cyclopedia of Perfumery. J and A Churchill London Vol 2. 234 p

11- Pirseyedi M, Mardi M, Davazdahemami S, Kermani M, Mohamadi A (2005) Analysis of the genetic diversity of 12 Iranian Damask rose (*Rosa damascene* Mill) genotypes using amplified fragment length polymorphism markers. Iranian Journal of Biotechnology 3: 225–230

12- Rusanov K, Kovacheva N, Vosman B, Zhang L, Rajapakse S, Atanassov A, Atanassov I (2005a) Microsatellite analysis of *Rosa damascena* Mill accessions reveals genetic similarity between genotypes used for rose oil production and old Damask rose varieties. Theoretical and Applied Genetics 111: 804 – 809

13- Tabaei-Aghdaei SR, Babaei R, Khosh-Khui M, Jaimand M, Rezaee K, Assareh M, Naghavi M (2007) Morphological and oil content variations amongst Damask rose (*Rosa damascena* Mill) landraces from different regions of Iran. Scientia Horticulturae 113: 44–48

14- Vroh Bi I, Hraventg L, Chandelier A, Mergeai G, Du Jardin P (1996) Improved RAPD amplification of