ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحه ۳۶۳ - ۳۵۹

«مقاله کوتاه»

بررسی تنوع ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های گلرنگ به‌وسیله نشانگرهای مولکولی

Evaluation of the genetic diversity of some safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars by molecular markers

محمد صالح شاه‌وردی[۱]، محمد محسن‌زاده گلفزانی[۲]، حبیب ا... سمیع‌زاده لاهیجی[*۲]

۱- کارشناس ارشد اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- به‌ترتیب استادیار، استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

Shahvardi MS[1], Mohsenzadeh Golfazani M[2], Samizadeh Lahij H[*2]

1- MSc, Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Assistant Professor, Professor, Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hsamizadeh@guilan.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳)

چکیده

در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ گلرنگ با استفاده از ۷ نشانگر ISSR، ۳ نشانگر رتروترانسپوزون و ۱۲ نشانگر ترکیبی ISSR و رتروترانسپوزون، ارزیابی شد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بررسی مولکولی به روش UPGMA با معیار فاصله ضریب تطابق ساده با استفاده از داده‌های حاصل از آغازگرهای ISSR، رتروترانسپوزون و آغازگرهای ترکیبی ISSR و رتروترانسپوزون ۲۸ ژنوتیپ مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد که گروه‌ها به‌ترتیب شامل ۱۴، ۹ و ۵ ژنوتیپ بودند که در بین این گروه‌ها، گروه اول بزرگ‌ترین گروه می‌باشد، اما در بررسی ژنوتیپ‌ها براساس صفات مورفولوژی به روش UPGMA و معیار فاصله اقلیدسی ۲۸ ژنوتیپ در چهار گروه قرار گرفتند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تجزیه تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر با ۱۰۰ درصد برای مولکولی تأیید شد.

واژه‌های کلیدی

تجزیه به مختصات اصلی
تجزیه خوشه‌ای
رتروترانسپوزون
ISSR

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]

مقدمه

یکی از این گیاهان دانه روغنی و صنعتی با اهمیت که جدیداً با این عنوان پا به عرصه وجود گذاشته گلرنگ است. گلرنگ یکی از قدیمی‌ترین محصولات جهان است (Bowles et al. 2010) و با توجه به ویژگی‌های زراعی می‌توان به‌عنوان یک گیاه امیدوار کننده در مناطق خشک کشت شود (Janmohammadi et al. 2017). درک و آگاهی از تنوع و شباهت ژنتیکی در درون افراد یا جمعیت‌ها، برای استفاده مؤثر از منابع ژنتیکی در یک برنامه اصلاحی مفید هستند (Safavi et al. 2010). درگذشته ژرم‌پلاسم گلرنگ به‌طور کامل بر اساس صفات مورفولوژیکی، تنش‌های غیر زیستی و یا خصوصیات بیوشیمیایی که لزوماً منعکس کننده تنوع ژنتیکی نبود مشخص می‌شد. جهت بررسی تنوع ژنتیکی روش‌های مختلفی وجود دارد که استفاده از صفات مورفولوژیکی، آیزوزایمی، سیتولوژیکی و نشانگرهای مولکولی 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 (Mohammadi and Prasanna 2003). صفوی و همکاران (Safavi et al. 2010) در ۲۰ نمونه گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) با استفاده از نشانگر RAPD و نشانگر ISSR به ارزیابی ژنتیکی پرداختند. ۱۷ نمونه از مناطق مختلف ایران و سه نمونه از فرانسه و هند و پاکستان بود. در این مطالعه، ابتدا مجموعه‌ای از ۳۵ نشانگر RAPD و ISSR استفاده شد که نهایتاً ۲۲ نشانگر، ۱۳ نشانگر RAPD و ۹ نشانگر ISSR، قطعات چند شکل تولید کردند. با توجه به درصد چندشکلی به‌دست آمده از نشانگرهای RAPD و ISSR (به‌ترتیب ۸۱ و ۹۶ درصد) نشانگرهای ISSR سطوح بالاتری از چندشکلی را در مقایسه با نشانگرهای RAPD نشان دادند. گروه‌بندی دو ژنوتیپ هند و پاکستان با چند نمونه از ایران نشان داد که بین آن‌ها شباهت ژنتیکی وجود دارد و همچنین ژنوتیپ فرانسه مجزا از دیگر نمونه‌ها، به تنهایی گروه‌بندی شد. با توجه به اهمیت شناسایی و گروه‌بندی ژرم پلاسم‌ها در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت که هدف از این بررسی گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گلرنگ و بررسی تنوع ژنتیکی گیاه گلرنگ با استفاده از نشانگرهای مولکولی است.

بذر ۲۸ رقم گلرنگ از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال کشور تهیه شد که شش گروه متفاوت از لاین‌ها و ارقام گلرنگ را در بر می‌گرفت و شامل پنج رقم برتر (ارقامی که در سال‌ها مختلف از نظر کلیه صفات بهترین وضعیت را در آزمایشات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال داشتند)، دو رقم مکزیکی و سه رقم محلی، دو رقم دیم، سه لاین حاصل از دورگ گیری و ۱۳ لاین حاصل از موتاسیون و پرتوتابی بود (جدول ۱).

جدول ۱- اسامی و منشا ۲۸ رقم گلرنگ مورد مطالعه در این تحقیق

ردیف	نام	منشا	ردیف	نام	منشا
1	گل دشت	برتر	15	K.W.7	دورگ گیری
2	گل سفید	برتر	16	K.M.P.6	موتاسیون
3	گلمهر	برتر	17	K.M.P.69	موتاسیون
4	پدیده	برتر	18	K.M.P.22	موتاسیون
5	صفه	برتر	19	K.M.P.32	موتاسیون
6	Mec 14	مکزیکی	20	K.M.P.9	موتاسیون
7	Mec 284	مکزیکی	21	K.M.P.51	موتاسیون
8	اصفهان	بومی ایران	22	K.M.P.20	موتاسیون
9	زرقان	بومی ایران	23	K.M.P.4	موتاسیون
10	آذربایجان	بومی ایران	24	K.M.S.2	موتاسیون
11	فرامان	دیم	25	K.M.S.36	موتاسیون
12	سینا	دیم	26	K.M.S.37	موتاسیون
13	K.W.5	دورگ گیری	27	K.M.S.13	موتاسیون
14	K.W.6	دورگ گیری	28	K.M.S.81	موتاسیون

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]

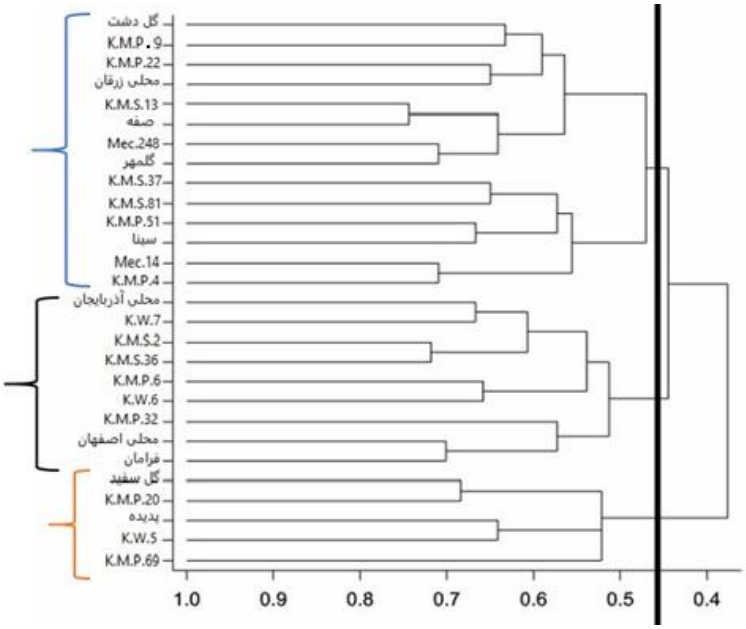
برای ارزیابی مولکولی ارقام مورد مطالعه در گلخانه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان در داخل لیوان‌های کاغذی کشت شد. برای تهیه نمونه‌های برگی و استخراج DNA از گیاهچه‌های جوان که به مرحله سه تا چهار برگی حدود ۳۰-۲۰ روز پس از کاشت رسیده بودند استفاده شد و بعد از خرد شدن با ازت مایع و هاون چینی در تیوپ‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته و در فریزر۸۰- درجه سیلسیوس نگهداری شدند. برای استخراج DNA از نمونه‌های برگی جوان با استفاده از CTAB به روش سقایی معروف و همکاران (Saghai Maroof 1994) انجام شد. در این تحقیق از ۷ آغازگر ISSR و ۳ آغازگر رتروترانسپوزن، همچنین ۱۲ آغازگر ترکیبی استفاده شد (جدول ۲). واکنش PCR در حجم ۱۰ مایکرولیتر شامل ۳۰ تا۴۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۱ میلی‌مول dNTP، ۰/۳ میلی‌مول آغازگر، ۱/۵ میلی‌مول MgCl2، بافر PCR 1X و ۱ واحد آنزیم Taq پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra انجام شد (Mohsenzadeh Golfazani et al. 2012). جهت گروه‌بندی ارقام براساس داده‌های مولکولی ابتدا تفاوت‌ها و مشابهت ارقام براساس روش ضریب تطابق ساده تهیه و گروه‌بندی ارقام با استفاده از روش‌های مختلف دورترین همسایه‌ها، UPGMA، متوسط فاصله بین و درون کلاسترها، مرکزی، میانه‌ای و نزدیک‌ترین همسایه‌ها رسم شد و از بین آن‌ها کلاستری که بیش‌ترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت انتخاب گردید. رسم دندوگرام با استفاده از نرم‌افزار NTSYS، (Rohlf 1998) انجام شد.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای ISSR و رتروترانسپوزن مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ

	ردیف	نام	دمای اتصال	توالی
ISSR	1	UBC 8736	43	$(AC)_8A$
	2	UBC 827	50	$(AC)_8G$
	3	UBC 834	48/5	(A)۸۷۵۸هتنگ
	4	UBC 811	43	$(GA)_8C$
	5	UBC 810	41/5	$(GA)_8T$
	6	UBC822	43	$(TC)_8A$
	7	HB-12	40	$(CAC)_3GC$
رتروترنسپوزن	8	TOS 1	60	TGTTGGGAATAGTCCCACA
	9	TOS 2	45	TGTTGAATAGTTCCACATT
	10	TOS 3	40	TGTTAGAAGTATAATATGT
ترکیبی	11	UBC-8736+ UBC-834	43	$(AC)_8A$+ $(AC)_8C$
	12	UBC-8736+ UBC-808	45	$(AC)_8A$+ $(AG)_8GC$
	13	UBC-8736+ UBC-811	43	$(AC)_8A$+ $(GA)_8C$
	14	UBC-811+ UBC-834	45	$(GA)_8C$+ $(AC)_8C$
	15	UBC-811+ TOS-1	50	$(GA)_8C$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	16	UBC-834+ TOS-1	55	$(AC)_8C$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	17	UBC-810+ TOS-1	50	$(GA)_8T$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	18	UBC-822+ TOS-1	48	$(TC)_8A$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	19	UBC-822+ TOS-3	40	$(TC)_8A$+ TGTTAGAAGTATAATATGT
	20	HB-12+ TOS-1	45	$(CAC)_3GC$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	21	HB-12+ TOS-2	40	$(CAC)_3GC$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA
	22	HB-12+ TOS-3	40	$(CAC)_3GC$+ TGTTGGGAATAGTCCCACA

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس رتبه‌دهی صفر و یک انجام شد. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و اندازه‌گیری سه ضریب تشابه تطابق ساده، جاکارد و دایس، نشان داد که گروه‌بندی بر اساس ضریب تطابق ساده با بهترین روش گروه‌بندی از بین روش‌های مورد بررسی است و میزان تشابه بین ارقام براساس ضریب تطابق ساده بین ۳۷ درصد تا ۷٤ درصد متغیر بود و ضریب کوفنتیک ۸۰ درصد به‌دست آمد که نشان دهنده‌ی کارایی بالای این روش در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها می‌باشد. بیش‌ترین شباهت بین ژنوتیپ‌های K.M.S 13 و صفه (۰/۷٤)، K.M.S 2 و K.M.S 36 (۰/۷۱) بود. و پس از آن‌ها ژنوتیپ‌های MEC 14 و K.M.P 4 (۰/۷)، بیشترین تشابه را داشتند. ژنوتیپ‌های K.W 7 و گل سفید (۰/۳۷)، K.M.S 2 و K.M.P 69 (۰/٤۲)، صفه و K.M.P 69 (۰/٤۳)، K.M.P 20 و K.W 7 (۰/٤۳)، کمترین شباهت را داشتند. با توجه به مقادیر تشابه بین ارقام می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تلاقی بین ارقامی که کمترین تشابه را دارند (بیشترین فاصله)، در صورتی‌که از لحاظ صفات فنوتیپی مورد نظر نیز بیشترین فاصله را از هم داشته باشند بهترین نتیجه را در دست‌یابی به هیبریدها و یا دست‌یابی به حداکثر تفکیک در نسل‌های پس از F1 را خواهد داشت. برش دندروگرام از ناحیه‌ی ضریب تشابه ۰/۷٤، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه ، ۱٤، ۹ و۵ ژنوتیپ تفکیک کرد (شکل ٦). تطابق واضحی بین تنوع ژنتیکی و تنوع جغرافیایی مشاهده نشد که در مطالعات پیشین نیز به آن اشاره شده بود (Amini et al. 2008; Mahasi et al. 2009). این امر ناشی از آن است که جداسازی جغرافیایی تنها عمل به‌وجود آورنده تنوع ژنتیکی نیست. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ۱۰۰ درصد بوده است. تنوع ژنتیکی در میان جوامع گلرنگ وحشی (*Carthamus oxyacanthus*) توسط Sabzalian et al. (2009) براساس نشانگر ISSR مورد مطالعه قرار گرفت. مواد گیاهی این مطالعه شامل ۱۹ نمونه اکسیاکانتوس جمع‌آوری شده از مناطق غربی، مرکزی و جنوبی ایران همراه با ۵ ژنوتیپ زراعی بود. برای بررسی ژنوتیپ‌ها از ۱٦ آغازگر ISSR استفاده شد که ۱۲ تا از آن‌ها چندشکلی بالایی نشان دادند. همان‌طور که انتظار می‌رفت، چندشکلی حاصل از نشانگر ISSR در نمونه‌های وحشی نسبت به ژنوتیپ زراعی بالاتر بود. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که نشانگرهای ISSR می‌تواند یک سیستم نشانگر کارآمد و امیدوار کننده برای تشخیص تنوع ژنتیکی در میان گلرنگ وحشی و زراعی و روشن نمودن روابط ژنتیکی آن‌ها باشد.



شکل ٦- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گلرنگ با استفاده از UPGMA و ضریب تطابق ساده

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]

در این تحقیق تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ گلرنگ با استفاده از ۷ نشانگر ISSR، ۳ نشانگر رتروترانسپوزون و ۱۲ نشانگر ترکیبی ISSR و رتروترانسپوزون، ارزیابی شد. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بررسی مولکولی به روش UPGMA با معیار فاصله ضریب تطابق ساده با استفاده از داده‌های حاصل از آغازگرهای ISSR، رتروترانسپوزون و آغازگرهای ترکیبی ISSR و رتروترانسپوزون ۲۸ ژنوتیپ مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد که گروه‌ها به‌ترتیب شامل ١٤، ۹ و ۵ ژنوتیپ بودند که در بین این گروه‌ها، گروه اول بزرگ‌ترین گروه می‌باشد، اما در بررسی ژنوتیپ‌ها براساس صفات مورفولوژی به روش UPGMA و معیار فاصله اقلیدسی ۲۸ ژنوتیب در چهار گروه قرار گرفتند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تجزیه تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر با ۱۰۰ درصد برای مولکولی تأیید شد.

منابع

Amini Fatemeh, Ghodratollah Saeidi and Ahmad Arzani (2008) Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. Euphytica 163:21-30.

Bowles, Victoria G, Reinhold Mayerhofer, Corey Davis, Allen G Good and Jocelyn C Hall (2010) A phylogenetic investigation of Carthamus combining sequence and microsatellite data. Plant systematics and evolution 287:85-97.

Janmohammadi, Mohsen, Nasrin Mohamadi, Fariborz SHEKARI, Amin ABBASI and Mohammad Esmailpour (2017) The effects of silicon and titanium on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) growth under moisture deficit condition. Acta Agriculturae Slovenica 109:443-455.

Mahasi, MJ, FN Wachira, RS Pathak and TC Riungu (2009) Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorious* L.) using RAPD markers. Journal of Plant Breeding and Crop Science 1:008-012.

Mohammadi, Seyed Abolghasem and BM Prasanna (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. Crop science 43:1235-1248.

Mohsenzadeh Golfazani, Mohammad, Habibollah Samizade lahiji, Ali Alami, Mardavij shoayi deylami and Soheyla Talesh sasani (2012) Study of Genetic Diversity of Flue-Cured Tobacco) *Nicotiana Tabacum* L.) Genotypes using ISSR and Retrotransposon Markers. Iranian Journal of Field Crop Science 43:371-380.

Rohlf, F James (1998) NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0 user guide.

Sabzalian, Mohammad R, Aghafakhr Mirlohi, Ghodratollah Saeidi and Mohammad T Rabbani (2009) Genetic variation among populations of wild safflower, Carthamus oxyacanthus analyzed by agro-morphological traits and ISSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 56:1057-1064.

Safavi, Seyed Afshin, Seyyed Saeid Pourdad, Mohmmad Taeb and Mahmoud Khosroshahli (2010) Assessment of genetic variation among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) accessions using agro-morphological traits and molecular markers. Journal of Food, Agriculture and Environment 8: 616-625.

Saghai Maroof, MA (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci.(USA) 91: 5466-5470.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-13]