ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های بومی جعفری (Petroselinum crispum Mill) با استفاده از نشانگر مولکولی SRAP

تـاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۲۰
از صفحه ۱ تا صفحه ۱۰

خدیجه نصیری
دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

عبدالعلی شجاعیان
استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
Shojaeiyan@modares.ac.ir

عباس یداللهی
استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

امین میرشکاری
استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

خدیجه قنبری
دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد رشته علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

چکیده

این مطالعه، به منظور بررسی اطلاعات و کارایی نشانگر SRAP برای تخمین تنوع ژنتیک در ۱۵ توده جعفری ایرانی صورت گرفته است. تکثیر مکان‌های ژنی با استفاده از چهار ترکیب آغازگر SRAP انجام شد. بیشترین و کمترین تعداد باندهای چندشکل تشکیل شده به ترتیب ترکیب آغازگر Me2-Em5 و Me4-Em1 بود. میانگین تعداد باندهای چندشکل به ازای هر ترکیب آغازگر ۸,۲۵ بود. تجزیه خوشه‌ای صفات مولکولی بر اساس ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم Neighbor- Joining توده‌های مورد مطالعه را در فاصله ژنتیک ۰,۰۶ به پنج گروه تفکیک کرد. در نهایت نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی زیادی میان توده‌های جمع‌آوری شده از چند منطقه‌ی جغرافیایی ایران وجود دارد و این مطالعه سودمندی نشانگر SRAP را در تعیین تنوع ژنتیکی بین توده‌های جعفری نشان داد.

کلید واژه:
تنوع ژنتیکی، جعفری، نشانگرهای مولکولی، نشانگر SRAP.

مقدمه

جعفری(Petroselinum crispum Mill) یکی از پرمصرف‌ترین سبزی‌های برگی است که در نقاط مختلف ایران کشت می‌شود و با توجه به اهمیت اقتصادی این گیاه، کشت آن در نواحی گوناگون جهان از جمله اروپا، شمال آفریقا، آسیا و ایران رواج دارد (Salehi Surmaghi, 1999). جعفری متعلق به تیره Apiaceae، گیاهی دیپلوئید با پایه کروموزوم n= 12 و دگرگشن است. این گیاه دارای کاربردهای غذایی، بهداشتی و دارویی فراوانی است، به طوری که ریشه و برگ آن از چاشنی‌ها و مواد پرمصرف در صنایع آرایشی جهان است (Daneshvar, 2000). با توجه به این که ایران به دلیل وجود اقلیم‌های متفاوت، یکی از مراکز تنوع ژنتیکی این گیاه شناخته می‌شود، باید با اقدامات مناسب از فرسایش ژنتیکی آن جلوگیری کرد(Sunli Kumar, 1999). برآورد تنوع ژنتیکی از طریق صفات مورفولوژیک، بررسی شجره‌ها و نشانگرهای مولکولی میسر می‌گردد. نشانگرهای مولکولی ابزار مناسبی برای بررسی روابط بین ژنوتیپ در بسیاری از محصولات زراعی هستند و یک ابزار تکمیلی به همراه نشانگرهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک، در بررسی روابط فیلوژنتیک مدنظر هستند. زیرا تحت تأثیر شرایط محیطی نیستند و تعداد آن‌ها بسیار فراوان است، هم‌چنین در هر مرحله از رشد گیاه می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. SRAP[1] یکی از نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است که نواحی چارچوب قرائت باز را تکثیر می‌کند. تکثیر آن مبتنی بر ترکیب آغازگرهایی به طول ۱۷ تا ۱۸ نوکلئوتید است که هسته آن از ۱۳ تا ۱۴ باز تشکیل شده است. از این تعداد، ۱۰ تا ۱۱ باز در انتهای ′۵ آن ساختمان ویژه‌ای نداشته و توالی پرکننده[2] نامیده می‌شود. به دنبال آن‌ها توالی‌های CCGG در آغازگر پیشرو و AATT در آغازگر پسرو قرار گرفته‌اند که با سه نوکلئوتید انتخابی در انتهای ′۳ هر آغازگر، امتداد یافته است. چندشکل مشاهده شده از تنوع در طول اگزون‌ها، اینترون‌ها و پروموتورهای میان افراد و گونه‌ها حاصل می‌گرددLi and) .Quiros, 2011; Zhao et al, 2009)

Li and Quiros (2001) با استفاده از نشانگر مولکولیSRAP، مجموعه‌ای از گیاهان اینبرد نوترکیب و لاین‌های هاپلوئید مضاعف از Brassica oleraceae را به منظور نقشه‌یابی و نشان‌مند کردن ژن، ارزیابی کردند. Quiros (2011) و Wang et al به ارزیابی تنوع ژنتیکی ۶۸ نمونه کرفس و گونه‌های وابسته به آن با استفاده از نشانگرهای SSR و SRAP پرداختند که بر اساس نتایج به دست آمده درصد چندشکل به دست آمده از بین گونه‌های کرفس بیشتر از درون گونه‌های آن بود . (Kumar, 1999) Ghanbari (2011)نشانگر مولکولی SRAP را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در یک مجموعه از ۱۰ توده‌ی گشنیز از ایران به کار برد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی زیادی میان توده‌های جمع‌آوری شده از چند منطقه ایران وجود دارد و این مطالعه، سودمندی نشانگر SRAP را در تعیین تنوع ژنتیک بین توده‌های گشنیز نشان داد.

اخیرا این نشانگر برای تعیین ارتباط ژنتیک گیاهان گوناگون از قبیل مرغ Cynodon radiatus (Huang et al, 2012)، خربزه(Yildiz et al, 2009) ، ارکیدهCucumis melo (Cai et D. loddigesii al, 2011) و جنس Citrus و بسیاری از محصولات دیگر به‌کار رفته است.

هدف از اجرای این طرح بررسی ارتباط ژنتیکی بین و درون توده‌های جعفری و دسته‌بندی آن‌ها و تشکیل یک درخت‌واره بر اساس نشانگرهای مولکولی و بررسی اهمیت نشانگرهای مولکولی در مشخص نمودن تنوع ژنتیکی بین توده‌های خویشاوند و ژنوتیپ‌های نزدیک جعفری است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بذر ۱۵ توده بومی جعفری از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری گردید (جدول ۱). پس

1 . Sequence- Related Amplified Polymorphism

2 . Filler Sequence

از کاشت آن‌ها در محیط گل‌خانه و رسیدن به مرحله دو برگ حقیقی، برگ‌های تازه از ۱۲ فرد متعلق به هر توده به صورت جداگانه برداشت و در پاکت‌های پلاستیک حاوی مقداری سیلیکاژل جهت خشک کردن برگ‌ها قرار داده شد. سپس مقدار ۱۰ میلی‌گرم از برگ هر نمونه در داخل میکروتیوپ‌های ۱,۵ میلی‌لیتری حاوی تعدادی دانه‌های شیشه‌ای قرار داده و به وسیله‌ی دستگاه Mix Miller پودر شدند. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB تغییر یافته انجام گرفت. نمونه‌های DNA استخراج شده جهت ارزیابی‌های دقیق کمی و کیفی با نانودراپ در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر سنجش شدند.

هریک از نمونه‌های DNA تا غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند و سپس در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[1] استفاده شدند. اجزای واکنش PCR برای حجم ۱۰ میکرولیتر شامل يك برابر بافر PCR، ۰,۲ میلی‌مولار دزوکسی نوکلئوتیدها، ۲,۲۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰,۳۳ پیکومول آغازگرها، ۱ واحد آنزیمDNA پلیمراز و ۷۵ نانوگرم DNA ژنومی بود. تکثیر در دستگاه ترموسایکلر (Bio RAD, C Thermal™ Cycler ۱۰۰۰) با چرخه‌های PCR شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، پنج چرخه شامل مرحله واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگر در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله گسترش به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه شامل مرحله واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگر در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و مرحله گسترش به مدت یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک چرخه گسترش نهایی به مدت سه دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت.

به منظور آشکارسازی چندشکل بین نمونه‌ها از دستگاه الکتروفورز عمودی و ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰

شماره توده	محل جمع‌آوری	استان محل‌جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	اردبیل	اردبیل	۴۸,۱۷	۳۸,۱۵
۲	اهواز	خوزستان	۴۸,۴۹	۳۱,۲۴
۳	ارومیه	آذربایجان غربی	۴۴,۵۸	۳۷,۳۴
۴	اصفهان	اصفهان	۵۱,۳۵	۳۲,۴
۵	بوشهر	بوشهر	۵۰,۵۱	۲۸,۵۹
۶	تکاب ارومیه	آذربایجان غربی	۴۷,۶	۳۶,۲۴
۷	جیرفت	کرمان	۵۷,۴۴	۲۸,۴۰
۸	زنجان	زنجان	۴۸,۳۱	۳۶,۴
۹	شیراز	فارس	۵۲,۳۵	۲۹,۳۹
۱۰	شاهرود	سمنان	۵۴,۵۷	۳۶,۲۵
۱۱	کردستان	کردستان	۴۷,۶	۳۵,۱۸
۱۲	کرمانشاه	کرمانشاه	۴۷,۳	۳۴,۲۳
۱۳	مشهد	خراسان	۵۹,۳۷	۳۶,۱۹
۱۴	ورامین	تهران	۵۱,۳۹	۳۵,۱۹
۱۵	یزد	یزد	۵۴,۴	۳۲

جدول۱
مشخصات جغرافیایی مناطق جمع‌آوری توده‌های گیاه جعفری مورد استفاده در این پژوهش

1 . Polymerase Chain Reaction

درصد استفاده شد. بعد از انجام الکتروفورز، ژل‌ها با استفاده از نیترات نقره و براساس روش معرفی شده‌ی Stift و همکاران (۲۰۰۳)، رنگ‌آمیزی شدند.

هر یک از قطعات DNA تکثیر شده، یک صفت در نظر گرفته شد و حضور یا عدم حضور آن‌ها به ترتیب با اعداد صفر و یک در نرم‌افزار Excel وارد شد. پس از امتیازدهی باندها، ماتریس عدم تشابه و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزار۵ Darwin محاسبه گردید و دندروگرام بر اساس الگوریتم Neighbor-Joining و ضریب تشابه جاکارد با استفاده از نرم‌افزار NTSYS ترسیم شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)برای درک روابط داخل توده‌ها و بین توده‌ها توسط نرم‌افزار GenAlex 6.41انجام شد. در نهایت به منظور بررسی تنوع آللی در توده‌های مورد بررسی نیز از تجزیه به مختصات اصلی استفاده شد که با استفاده از نرم‌افزار GenAlex 6.41 صورت گرفت.

نتایج و بحث

آغازگرهای به‌کار رفته، در مجموع ۳۷ باند تکثیر شده قابل امتیازدهی از مجموع نمونه‌ها در محدوده ۱۳۰ تا ۹۰۰bp ایجاد کردند(شکل ۱). از این تعداد، ۳۳ باند (۸۹ درصد) چندشکل بودند و تنها سه باند (هشت درصد) از کل باندهای ایجاد شده، یک شکل بودند. میانگین تعداد باندهای تکثیرشده به ازای هر ترکیب آغازگر ۹,۲۵ و میانگین تعداد باندهای چندشکل به ازای هر ترکیب آغازگر ۸,۲۵بود. تمام ترکیب‌های آغازگر مورد استفاده چندشکلی نسبتاً خوبی با میانگین۰,۲۵نشان دادند که بیشترین میزان چندشکل مربوط به ترکیب آغازگر Me2-Em5 بود(جدول ۳).

برای محاسبه شباهت ژنتیکی بین توده‌ها، از ماتریس شباهت بر مبنای ضریب نی استفاده شد. استفاده از ماتریس تشابه می‌تواند به منظور شناسایی و درك بهتر شباهت‌ها و تفاوت‌ها در میان توده‌های مورد بررسی، بسیار موثر باشد. بیشترین تشابه بین دو توده‌ی جمع‌آوری شده از شاهرود و یزد با مقدار ۰,۸۴ و کمترین تشابه نیز بین دو توده‌ی جیرفت و کردستان با مقدار۰,۹۹۶ وجود داشت که به ترتیب نشان دهنده‌ی میزان نزدیکی و دوری فاصله ژنتیك این توده‌ها نسبت به یکدیگر است. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم Neigbor-Joining، نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی بین نمونه‌های جمع‌آوری شده بود و نمودار خوشه‌ای، نمونه‌ها را در فاصله ژنتیک ۰,۰۶ به

شماره	نام آغازگرها	توالی آغازگرها (′3→′5)
۱	Me2	TGAGTCCAAACCGGAGC
۲	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT
۳	Me4	TGAGTCCAAACCGGACC
۴	Em1	GACTGCGTACGAATTATT
۵	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
۶	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
۷	Em5	GACTGCGTACGAATTAAC

جدول۲
اسامی و توالی ترکیب آغازگرهای SRAP مورد استفاده

پنج گروه تفکیک کرد. هر یك از پنج گروه، خود به زیر گروه‌هایی تقسیم شدند. در گروه اول، زیر گروه اول شامل توده‌های اهواز، اردبیل و زنجان بود و توده‌ی اصفهان، بوشهر در زیر گروه دوم قرار گرفتند. در گروه دوم، زیر گروه اول شامل توده شیراز و زیر گروه دوم شامل توده‌های شاهرود، یزد، کردستان، ورامین و مشهد بودند. توده کرمانشاه در گروه سوم و توده ارومیه نیز در گروه چهارم قرار گرفتند. گروه پنجم نیز شامل دو زیر گروه که زیر گروه اول آن توده تکاب ارومیه و زیر گروه دوم آن جیرفت را شامل شدند(شکل ۲).

تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی: نتایج تجزیه آماری نشان داد که محورهای اصلی اول و دوم به ترتیب ۴۹,۸۶ و۱۴,۸۳ درصد از اطلاعات را در بردارند که در مجموع ۶۴,۶۹ درصد از تغییرات را توجیه می‌کنند (جدول ۴). نمودار دوبعدی جهت گروه‌بندی و بررسی روابط بین نمونه‌ها ترسیم شد (شکل ۳)،

شکل۱

الگوی باندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی برخی از نمونه‌های جعفری با ترکیب آغازگر (Em۲-Me۳)

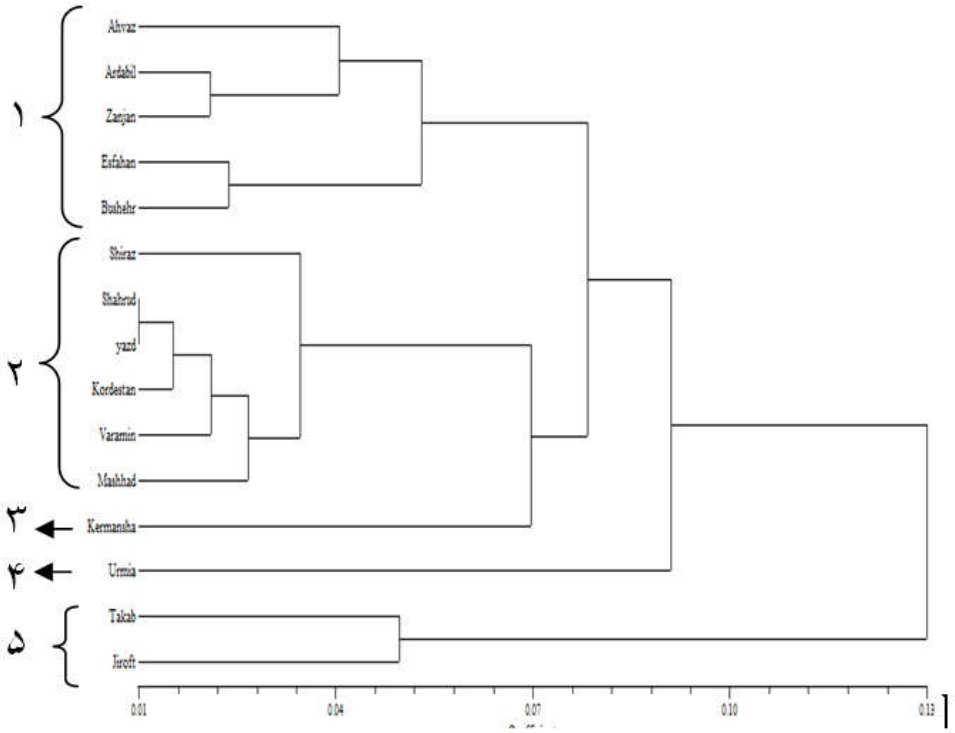
شماره	ترکیب آغازگر	دامنه اندازه (bp)	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چندشکل	درصد باندهای چندشکل	محتوای اطلاعات چندشکل
۱	Me2-Em5	۳۸۰ - ۸۰۰	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰.۳۱
۲	Me3-Em2	۱۷۳ - ۹۰۰	۱۱	۱۰	۹۰	۰.۲۶
۳	Me4-Em1	۴۵۳ - ۶۰۰	۷	۶	۸۵	۰.۲۶
۴	Me4-Em2	۱۳۰ - ۵۸۶	۹	۸	۸۸	۰.۱۷
	میانگین					۰.۲۵

جدول۲

شاخص‌های اندازه‌گیری شده برای نشانگر SRAP در بررسی ۱۸۰ فرد از ۱۵ ژنوتیپ جعفری

همان‌طور که مشاهده شد بین توده‌های ایرانی تفاوت نواری چشم‌گیری وجود داشت که در این مورد می‌توان در انتخاب برای دورگ‌گیری توده‌هایی اقدام کرد که دارای تفاوت زیادتری هستند. شایان ذکر است که همیشه نمی‌توان براساس مبداء جغرافیایی، افراد را برای استفاده در دورگ‌گیری انتخاب کرد و باید با اطلاعات ژنتیکی این کار انجام شود. تلاقی بین ژنوتیپ‌های یک گروه، تفرق مطلوب از نظر صفات و عملکرد را نشان نخواهند داد. برای تنظیم برنامه‌ی تلاقی باید والدین مناسبی را انتخاب کرد که از گروه‌های مختلف یک خوشه هستند. هر چه این والدین از هم دورتر باشند، هتروزیس قوی‌تری در نتایج ظاهر خواهد شد. در چنین شرایطی تنوع بیشتر می‌شود و امکان تجمیع صفات مطلوب از منابع مختلف در یک رقم مهیا می‌گردد و بدین ترتیب پایه‌ی ژنتیکی رقم‌های حاصل از نتایج آن‌ها، قوی‌تر شده و زمینه‌ی آسیب پذیری ژنتیک کاهش می‌یابد. بدیهی است لاین‌هایی را که از گروه‌های دور جهت دورگ‌گیری به عنوان والد انتخاب می‌شوند، باید داری صفات مطلوب مانند مقاومت به بیماری‌ها، عملکرد بالا، سازگاری بیشتر، میزان اسانس بیشتر و غیره باشند. اطلاع از فاصله‌های ژنتیک می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی به ویژه در انتخاب والدین برای تلاقی‌ها مفید باشد.

پارامترهای ژنتیک توده‌های جعفری: درصد مکان ژنی چندشکل (PI)، تنوع ژنیNei (He) ، و شاخص اطلاعات شانون (I) از طریق نرم‌افزار GenAlex 6.41 محاسبه شد (جدول ۵). درصد مکان ژنی چندشکل (P) که نشان می‌دهد چند درصد از باندها در هر یك از توده‌ها چندشکل بودند، از ۳۳,۲۳ درصد در توده کردستان تا ۶۶,۶۷ درصد در توده اصفهان، متغیر بود و میانگین درصد مکان‌های چندشکل برای همه توده‌ها ۴۴,۴۴ درصد بود. شاخص تنوع ژنی (He) Nei از۰,۰۶۸ (در توده کردستان) تا ۰,۲۳ (در توده اصفهان) متغیر بود و شاخص تنوع ژنی کل ۰,۱۴۳ محاسبه گردید. شاخص شانون (I) که معیاری از تنوع



شکل ۲

دندروگرام حاصل از روش NJ و عدم تشابه ژنتیکی جاکارد برای ۱۵ توده جعفری با استفاده از آغازگرهای SRAP

است از ۰,۱۱ (در توده کردستان) تا ۰,۳۳۸ (در توده اصفهان) متغیر بود. شاخص شانون کل ۰,۲۱۷ بود. این شواهد نشان می‌دهد که نتایج حاصل از درصد مکان‌های ژنی چندشکل با نتایج حاصل از میانگین و انحراف معیار تمام لوکوس‌ها در هر توده با استفاده از شاخص تنوع ژنی و شاخص شانون سازگار است و تأکید می‌کند که توده‌ی اصفهان دارای بیشترین تنوع و توده‌ی کردستان دارای کمترین تنوع در بین توده‌ها هستند.

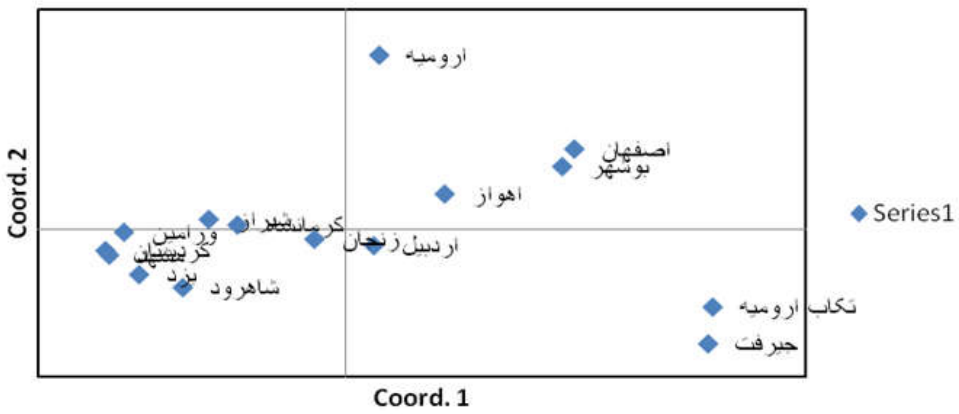
در تجزیه واریانس که نشان می‌دهد چه مقدار از تنوع مربوط به درون توده‌ها (بین ژنوتیپ‌های هر توده) و چه مقدار از تنوع مربوط به میان توده‌ها است، مشاهده می‌شود که واریانس درون توده‌ها (۶۴درصد) به مراتب بیشتر از واریانس بین توده‌ها (۳۶ درصد) است (جدول ۶). درصد بالای واریانس درون توده‌ها می‌تواند نشان دهنده‌ی این باشد که همه توده‌ها از یك كلون منشاء نگرفته‌اند.

همچنین مجموع مربعات به دست آمده از تجزیه واریانس برای هر توده، میزان تنوع درون توده‌ها را نشان داد و مشخص کرد که توده‌ی اصفهان با مجموع مربعات ۴۳/۶۷ بیشترین و بالعکس توده کردستان با مجموع مربعات ۱۳/۸۳ کمترین تنوع درون توده را دارند(جدول ۷).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق حاکی از تنوع ژنتیکی زیاد در توده‌های مورد مطالعه بود. چند شکل قابل ملاحظه‌ای در الگوهای باندی به دست آمد. این موضوع بیانگر مناسب بودن تکنیک SRAP در شناسایی نواحی چندشکل است. مقدار PIC بالا برای ترکیب آغازگر Me2-Em5 نشان‌دهنده‌ی کارایی بالای آن‌ها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق بود که می‌توان آن‌ها را در مطالعات مشابه پیشنهاد کرد. در این مطالعه میزان تشابه ژنتیکی بین توده‌ها از۰,۸۴۰ تا ۰,۹۹۶ متغیر بود. بیشترین تشابه بین دو توده‌ی جمع‌آوری شده از شاهرود و یزد و کمترین تشابه نیز بین دو توده‌ی جیرفت و کردستان مشاهده شد.

توده‌ی اصفهان، به علت داشتن تنوع بالا می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی آینده مواد اصلاحی خوبی به شمار آید. از طرفی نتایج این آزمایش تا حد زیادی مطابقت تنوع جغرافیایی با تنوع مولکولی به دست آمده از داده‌های SRAP را نشان نداد، که ممکن است ناشی از جابه‌جایی ژرم پلاسم یا احتمالاً به دلیل پراکنش وسیع این گیاه در ایران باشد. به طور کلی نتایج این تحقیق ثابت کرد که نشانگر مولکولی SRAP ابزار مناسبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی در بین توده‌های جعفری است.



شکل ۳

نمودار دوبعدی مختصات اصلی توده‌های جعفری با استفاده از آغازگرهای SRAP

محور	۱	۲
فراوانی هر مولفه	۴۹.۸۶	۱۴.۸۳
درصد تجمعی	۴۹.۸۶	۶۴.۶۹

جدول ۴

خصوصیات مولفه‌های حاصل از تجزیه به مختصات اصلی توده‌های جعفری با استفاده از نشانگر SRAP

توده	تعداد نمونه	درصد مکان ژنی چندشکل	شاخص تنوع ژنی (انحراف معیار± میانگین)	شاخص شانون (انحراف± میانگین)
اهواز	۱۲	۴۶.۶۷	۰.۱۵ ± ۰.۳۴	۰.۲۴ ± ۰.۰۵۰
ارومیه	۱۲	۵۳.۳۳	۰.۲۰ ± ۰.۰۳۹	۰.۲۷ ± ۰.۰۵۶
اصفهان	۱۲	۶۶.۶۷	۰.۲۳ ± ۰.۰۳۹	۰.۳۴ ± ۰.۰۵۵
اردبیل	۱۲	۶۳.۳۳	۰.۱۶ ± ۰.۰۳۰	۰.۲۶ ± ۰.۰۴۴
بوشهر	۱۲	۴۶.۶۷	۰.۱۶ ± ۰.۰۳۸	۰.۲۵ ± ۰.۰۵۴
تکاب	۱۲	۵۳.۳۳	۰.۱۸ ± ۰.۰۳۶	۰.۲۷ ± ۰.۰۵۲
جیرفت	۱۲	۶۶.۳۳	۰.۲۱ ± ۰.۰۳۶	۰.۳۲ ± ۰.۰۳۶
زنجان	۱۲	۵۰	۰.۱۵ ± ۰.۰۳۴	۰.۲۳ ± ۰.۰۴۹
شیراز	۱۲	۴۳.۳۳	۰.۰۱ ± ۰.۰۲۹	۰.۱۶ ± ۰.۰۴۲
شاهرود	۱۲	۲۶.۶۷	۰.۰۸ ± ۰.۰۳۲	۰.۱۲ ± ۰.۰۴۶
کرمانشاه	۱۲	۴۶.۶۷	۰.۱۴ ± ۰.۰۳۴	۰.۲۲ ± ۰.۰۴۹
کردستان	۱۲	۲۳.۳۳	۰.۰۷ ± ۰.۰۲۵	۰.۱۱ ± ۰.۰۳۷
مشهد	۱۲	۲۴.۳۳	۰.۰۸ ± ۰.۰۳۱	۰.۱۲ ± ۰.۰۴۵
ورامین	۱۲	۳۳.۳۳	۰.۱۰ ± ۰.۰۳۴	۰.۱۵ ± ۰.۰۴۸
یزد	۱۲	۲۶.۶۷	۰.۱۰ ± ۰.۰۳۲	۰.۱۵ ± ۰.۰۴۷
کل	میانگین	۴۴.۴۴	۰.۱۴ ± ۰.۰۹	۰.۲۲ ± ۰.۰۱

جدول ۵

پارامترهای ژنتیک برای ۱۵ توده جعفری مبتنی بر نشانگر SRAP

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس	واریانس کل
بین توده‌ها	۱۴	۲۷۲.۳۶۷	۱۹.۴۵۵		۱.۴۱۵
درون توده‌ها	۱۶۵	۴۰۷.۵۸۳	۲.۴۷۰	٪۶۴	۱۲.۴۷۰
کل	۱۷۹	۶۷۹.۹۵۰	-	٪۱۰۰	۱۳.۸۸۵

جدول ۶

تجزیه واریانس مولکولی توده‌های جعفری با استفاده از نشانگر SRAP

توده	تعداد نمونه	مجموع مربعات درون توده
اهواز	۱۲	۲۸.۸۳
ارومیه	۱۲	۳۴.۵۰
اصفهان	۱۲	۴۳.۷۵
اردبیل	۱۲	۳۹.۰۸
بوشهر	۱۲	۳۱.۵۰
تکاب	۱۲	۳۷.۳۳
جیرفت	۱۲	۴۰.۶۶
زنجان	۱۲	۲۹.۳۳
شیراز	۱۲	۱۸.۵۸
شاهرود	۱۲	۱۵.۱۶
کرمانشاه	۱۲	۲۶.۶۶
کردستان	۱۲	۱۳.۸۳
مشهد	۱۲	۱۴.۶۶
ورامین	۱۲	۱۶.۸۳
یزد	۱۲	۱۶.۸۳

جدول ۷

پراکنش آللی درون توده‌های مختلف جعفری ایرانی

REFERENCES

- Amar H. M., Biswas M. K., Zhang Z. & Guo, W. (2011). Exploitation of SSR, SRAP and CAPS- SNP markers for genetic diversity of Citrus germplasm collection. Scientia Horticulturae, 128, 220-227.
- Cai, X., Feng, Z., Zhang, X., Xu, W., Hou, B. & Ding, X. (2011). Genetic diversity and population structure of an endangered Orchid (Dendrobium loddigesii Rolfe) from China revealed by SRAP markers. Scientia Horticulturae, 129, 877-881.
- Daneshvar, M. H. (2000). Vegetables Producing. Shahid Chamran University of Ahvaz. (In Farsi)
- Ghanbary, K. (2011). Assessement of genetic diversity in some Iranian Coriander (Coriander sativum) accession using SRAP markers. M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture Ilam University. (In Farsi)
- Huang, C., Zhang. Y., Liu, G., Bai, C. & Wang, W. (2012). Genetic diversity of Cynodon radiatus assessed by sequence- related amplified polymorphism markers. Biochemical Systematics and Ecology, 40, 56-61.
- Kumar, L.S. (1999). DNA markers in plant improvement. An overview. Biotecnology Advances, 17, 143-182.
- Li, G. & Quiros, C. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. Theoretical and Applied Genetics, 103, 455-461.
- Salehi Surmaghi, M. H. (1999). Medicinal Plants and Phytotherapy. World of Nutrition. (In Farsi)
- Stift, G., Pachner, M. & Lelley, T. (2003). Comparison of RAPD fragment separation in agarose and polyacrylamide gel by studying cucurbita species. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 26, 62-65.
- Wang, S., Yang, W. & Shen, H. (2011). Genetic diversity in Apium graveolense and related species revealed by SRAP and SSR markers. Scientia Horticulturae, 129, 1-8.
- Yildiz, M., Ekbic, E., Keles, D., Sensoy, S. & Abak, K. (2011). Use of ISSR, SRAP and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. Scientia Horticulturae, 130, 349-353.
- Zhao, W., Fang, R., Pan, Y., Yang, Y., Chung, J., Chung, I. & Park, Y. (2009). Analysis of genetic relationship of mulberry (Morus L.) germplasm using sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. African Journal of Biotechnology, 8, 2604-2610.