



"مقاله پژوهشی"

مطالعه ساختار جمعیت و تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیک کبر (*Capparis spinosa*) با استفاده از نشانگرهای مولکولی

نوشین محمودی^۱، غلامرضا شریفی سیرچی^۲ و کیانوش چقامیرزا^۳

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲- بخش مهندسی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. آدرس قدیم: گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران، (نویسنده مسوول: sharifisirchi@yahoo.com)
۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۴
صفحه: ۱۳۸ تا ۱۴۹

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کاپاریس اسپینوزا متعلق به جنس *Capparis* و خانواده *Capparidaceae* دارای ۳۵۰ گونه است. این گیاه با نام تجاری کبر دارای گونه‌های متعددی در ایران است. کبر دارای پتانسیل‌های عظیمی برای کشاورزی و بهره‌برداری، به دلیل بازار بین‌المللی متنوع نشان می‌دهد. امروزه تمرکز بر انتخاب و اصلاح این گونه در بسیاری از کشورها انجام شده است. انواع تکنیک‌های تحلیلی مختلف ژنتیکی در زمینه ژنتیک مولکولی به همراه چندین نشانگر ژنتیکی مبتنی بر PCR برای ارائه اطلاعات تغییرات ژنتیکی در گونه‌های گیاهی استفاده می‌شوند. نشانگرهای ISSR و SCoT نشانگرهای غالبی هستند که می‌توانند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژرمپلاسِم گیاهان استفاده شوند.

مواد و روش‌ها: برای ارزیابی ساختار جمعیت *Capparis spinosa* که به طور طبیعی در مناطق غرب ایران رشد می‌کنند، ۸۰ ژنوتیپ از ۱۲ مکان مختلف جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: خوشه‌بندی با استفاده از دو نشانگر ISSR و SCoT، ۸۰ ژنوتیپ را در دو گروه توزیع کرد. طبق نتایج تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیکی بر اساس دو نشانگر ISSR و SCoT، همه نشانگرهای گزارش شده معنی‌دار بودند. در مجموع بر اساس نتایج، ۹۶۶ نشانگر SCoT و ۵۷۱ نشانگر ISSR که ارتباط معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) با صفات مورد مطالعه داشتند شناسایی شدند.

نتیجه‌گیری: طبق گروه‌بندی استراکچر با استفاده از نشانگر SCoT، نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرمانشاه، چارمله، ایلام، سرپل ذهاب، قصرشیرین، گورسفید، گیلان، خسروی، نفت شهر، و سومار در یک گروه و نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرند و ایوان در یک گروه طبقه‌بندی شدند. طبق گروه‌بندی استراکچر با استفاده از نشانگر ISSR، نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرند، خسروی، نفت شهر و بیشتر نمونه‌های جمع‌آوری شده از سومار در یک گروه، و نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرمانشاه، چارمله، ایلام، ایوان، سرپل ذهاب، قصرشیرین، گورسفید، گیلان و بخشی از نمونه‌های سومار در یک گروه طبقه‌بندی شدند. به طور کلی نشانگرهای ISSR و SCoT تنوع ژنتیکی بالایی در نمونه‌های جمع‌آوری شده از غرب ایران را نشان دادند، و نتایج تجزیه ارتباط نشان داد که استفاده از روش GLM همراه با ترکیبی از نشانگرهای مختلف می‌تواند در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورفولوژیک در کبر مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباط، ژنوتیپ‌های کوه‌های زاگرس، ساختار جمعیت، کبر، نشانگر

مقدمه

گیاهان دارویی به عنوان ارتقاء دهنده سلامت با اثربخشی بالا همراه با اثرات جانبی نامطلوب بسیار اندک برای درمان بیماری‌های مختلف انسانی شناخته می‌شوند (۲۱). همچنین، داروهای شیمیایی می‌توانند طیف گسترده‌ای از عوارض جانبی جدی را ایجاد کنند (۶). از این رو در سال‌های اخیر گیاهان دارویی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (۳۲).

کاپاریس اسپینوزا متعلق به جنس *Capparis* و خانواده *Capparidaceae* است، نام علمی آن *Capparis spinosa* و نام تجاری آن کبر است. خاستگاه جنس کبر با دارا بودن ۳۵۰ گونه، در منطقه مدیترانه بوده و کبر برای بیش از ۵۰۰۰ سال بخشی از رژیم غذایی مدیترانه‌ای بوده است (۱۸، ۱۱). از کبر اسپینوزا به عنوان یک داروی سنتی برای کاهش قند و چربی خون، ادرار آور و همچنین درمان روماتیسم و آرتروز استفاده می‌شود. مطالعات نشان داده‌اند که بسیاری از ترکیبات شیمیایی آن دارای خواص ضد میکروبی، ضد اکسیداتیو، ضد التهابی، تعدیل کننده سیستم ایمنی و ضد ویروسی هستند (۲۴، ۳۸، ۳۵). مطالعاتی صورت گرفته در مورد ترکیبات شیمیایی کبر اسپینوزا وجود تعداد زیادی از ترکیبات مفید مانند

ویتامین‌ها، مواد معدنی، آلکالوئیدها و لیپیدها را گزارش کرده‌اند (۳۵، ۲۴، ۱۷). از جوانه‌های گل، میوه‌ها، برگ، ریشه و دانه این گیاه استفاده‌های دارویی می‌شود (۴). مشخص است که ترکیبات گلوکوزینولات موجود در میوه کبر دارای خواص ضد سرطانی، ضد پراکسیداسیون لیپیدی و اثرات آنتی‌اکسیدانی است (۳۵، ۲۴، ۳۸). ترکیبات مختلف فلاونوئیدی و پلی‌فنلی در این گیاه (۲۰، ۱۵) شناسایی شده‌اند که دارای بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی مفید هستند (۳۱).

این گیاه در طیف وسیعی از شرایط اقلیمی متفاوت مانند کنار جاده، در دامنه‌ها، خاک خشک، سنگلاخی و سنگی قابلیت رشد دارد، این گیاه مکانیسم‌های خاصی را برای زنده ماندن در شرایط نیمه‌خشک ایجاد کرده است و در نتیجه این خصوصیات را می‌توان به عنوان منبع ژن‌های مهم برای رشد مورد بررسی قرار داد، همچنین دارای مزایای زیست محیطی زیادی، از جمله حفاظت از خاک و آب، کنترل بیابان‌زایی و احیای زمین در اکوسیستم سرد و شکننده به دلیل پوشش تاج و سیستم ریشه گسترده می‌باشد (۱۲، ۲۷، ۱۴).

کبر دارای پتانسیل‌های عظیمی برای کشاورزی و بهره‌برداری، به دلیل بازار بین‌المللی متنوع نشان می‌دهد.

تقسیم شدند که بیانگر کارایی بالای این نشانگر در بررسی تنوع ژنتیکی گیاه دارویی رازیانه بود (۲۲). حفاظت از گونه‌های گیاهی برای حفظ تنوع زیستی گیاه بسیار مهم است. هدف از این مطالعه تعیین ساختار ژنتیکی و جمعیتی کبر و بررسی ارتباط ویژگی‌های مورفولوژیکی با استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر DNA مانند SCOT و ISSR، به منظور دستیابی به استراتژی‌های حفاظت از گیاه و برنامه اصلاح نباتات آتی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

آزمایشات مربوط به بررسی تنوع ژنتیکی گیاه دارویی کبر با استفاده از نشانگرهای مولکولی در سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی اجرا گردید. ۸۰ نمونه گیاهی کاپاریس اسپینوزای وحشی از ۱۲ جمعیت مختلف کوه‌های زاگرس مرکزی غرب ایران (کرمانشاه، ایلام، چارمله، سرپل ذهاب، قصر شیرین، گورسفید، گیلانغرب، ایوان، سومار، کرد، نفت شهر و خسروی) با ارتفاعات مختلف از ۱۴۰۶ متر (کرمانشاه، نمونه شماره ۲) تا ۲۹۵ متر (سومار نمونه‌های شماره ۶۴، ۶۵ و ۶۶) جمع‌آوری شدند و در هرباریوم دانشکده کشاورزی (دانشگاه رازی) شناسایی شد. تعداد ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از سایت‌های مختلف نمونه‌گیری به همراه مختصات جغرافیای و ارتفاع هر زیستگاه توسط GPS تعیین شده، و در جدول ۱ موجود است.

مطالعات مورفولوژیکی

۴۳ ویژگی مورفولوژیکی گیاه کاپاریس اسپینوزا، در محل جمع‌آوری نمونه‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۲). صفات مربوط به بوته‌ها و شاخه‌های یکساله بر روی بوته‌هایی که حداقل یک بار میوه داده بودند اندازه‌گیری شد. طول میانگره در وسط شاخه اندازه‌گیری شد. از برگ‌های کاملاً رشد یافته یک سوم میانی شاخه‌های فصل جاری جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر استفاده شد. گل‌هایی که به طور کامل تکامل یافته بودند جهت بررسی صفات مربوط به گل مورد استفاده قرار گرفت. از میوه‌های کاملاً رسیده جهت اندازه‌گیری صفات مربوط به میوه استفاده شد. صفات کمی اندازه‌گیری شده مانند طول و عرض میوه، طول میانگره، طول کاسبرگ و گلبرگ و ... بر حسب سانتی متر بودند (۲۹). صفاتی مانند شکل و رنگ دانه، شکل انتهای برگ، جنس تنه بوته، رنگ ساقه و دم میوه و ... به صورت توصیفی امتیازدهی شدند (۴۰، ۱۶). صفاتی مانند تقارن در مقطع طولی، بیرون زدگی خطوط بر روی میوه، وجود کرک بر روی برگ و ساقه و ... به صورت حضور و عدم حضور امتیازبندی شدند (۴۰).

فراوانی و درصد توزیع صفات مورفولوژیکی با استفاده از توصیف کننده‌های کیفی مشخص شد. تجزیه و تحلیل مولفه‌های اصلی (PCA) بر اساس ماتریس کوواریانس ضرایب و تجزیه و تحلیل عامل توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶/۰) انجام شد.

امروزه تمرکز بر انتخاب و اصلاح این گونه به ویژه در کشورهای مدیترانه شرقی ضروری به نظر می‌رسد (۲۱، ۳۶، ۳۳). تولید و تجارت کاپاریس در کشورهای خاورمیانه گسترش زیادی یافته است، مهمترین کشورهای صادرکننده آن عبارتند از مراکش، ترکیه، ازبکستان، لبنان، قرقیزستان و سوریه و واردکنندگان عمده آن ترکیه، کشورهای اروپایی و آمریکا هستند. اولین نشانه مصرف کاپاریس در ایران به ۶۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد (۵).

گیاهان معطر و دارویی نسبت به سایر محصولات دارای سطح زیر کشت کمتری هستند. بسیاری از گونه‌های گیاهی با بیشترین تنوع در صفات و ویژگی‌های مورفولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۰). اینوسنسیو و همکاران (۱۱) با استفاده از داده‌های مورفولوژیکی، جغرافیایی و مولکولی، ده گونه کاپاریس را شناسایی نمودند. زوهاری (۳۹) نیز در ایران پنج گونه مختلف کبر را در ایران شناسایی و معرفی کرد. زوکیان (۴۰) تنوع بالایی از خصوصیات مورفولوژیکی و تشریحی کبر را گزارش نمود که به صورت وحشی در عراق رویش دارند. مسلم و همکاران (۱۹) بیست و چهار جمعیت کاپاریس اسپینوزای جمع‌آوری شده از مناطق مختلف جغرافیایی اردن را مورد بررسی قرار دادند و تنوع فنوتیپی بالایی در جمعیت‌های کبر رشد یافته در اردن را گزارش نمودند. ساختار جمعیت کاپاریس اسپینوزا بسیار کم مورد مطالعه قرار گرفته است.

فناوری‌های نشانگر مولکولی به طور فزاینده‌ای نقش مهمی در ارزیابی تنوع ژنتیکی، شناسایی روابط ژنتیکی و کمک به انگشت نگاری ژرم پلاسما در مجموعه‌های گیاهی ایفا می‌کنند. در چند دهه اخیر، انواع تکنیک‌های تحلیلی مختلف ژنتیکی در زمینه ژنتیک مولکولی برای ارائه اطلاعات تغییرات ژنتیکی در گونه‌های گیاهی، ظهور کرده‌اند. اخیراً، مطالعاتی در مورد تنوع ژنتیکی بالا در کبر با استفاده از نشانگرهای DNA مانند RAPD (۷، ۲۳)، ISSR (۱۳، ۳۰، ۲، ۲۸)، AFLP (۱۱، ۳۷) و IRAP (۳) گزارش شده است. نشانگرهای ISSR و SCOT نشانگرهای تصادفی (غالب) بوده که می‌توانند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسما گیاهان استفاده شوند. گریستینا و همکاران (۱۰) ۱۹ جمعیت وحشی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایتالیا را توسط نشانگر ISSR مورد مطالعه قرار داد. احمدی و سعیدی (۲) با استفاده از نشانگرهای ISSR، ۲۱ جمعیت کاپاریس را در ایران مورد مطالعه قرار دادند و آنها را به ۴ خوشه تقسیم کردند. SCOT یک روش جدید است که بر اساس توالی‌های شروع ATG طراحی شده است (۶). نواحی بین کدون‌های شروع در طی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز تکثیر می‌شوند و تفاوت‌ها را نشان می‌دهند. پرایمرهای SCOT معمولاً ۱۸-۲۴ نوکلئوتیدی هستند و محتوای G و C آنها ۵۰٪ تا ۷۲٪ است (۶). در مطالعه‌ای، ۱۶ جمعیت *Foeniculum vulgare* در ایران با استفاده از نشانگرهای SCOT مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتایج نشان داد که درصد چندشکلی در بین توده‌های مورد بررسی برابر با ۹۶ درصد بود، همچنین جمعیت‌های مورد مطالعه به ۴ خوشه

مطالعات مولکولی

برای ارزیابی تنوع مولکولی و روابط ژنتیکی ۸۰ ژنوتیپ، از هر ژنوتیپ کبر نمونه‌های تازه از برگ‌های جوان تهیه شد. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. DNA ژنومی کامل با استفاده از پروتکل اصلاح شده CTAB توسط دوپل و دوپل (۹) استخراج شد. مقدار کمی DNA، با اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر، و کیفیت DNA با الکتروفورز ژل آگارز تعیین شد.

از مجموع ۳۴ آغازگر ISSR استفاده شده برای واکنش PCR، ده آغازگر دارای قطعات شفاف و قابل تشخیص بودند (جدول ۳). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی، ۱۴/۷۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۱/۶ میلی‌مولار MgCl₂، ۰/۵ میلی‌مولار dNTPs، ۰/۲ واحد Taq پلیمرز، ۲/۵ میکرومول از هر پرایمر، و ۳ میکرولیتر DNA الگو صورت گرفت. واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت، سپس ادامه واکنش PCR با ۴۰ چرخه تکراری، ۱ دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در دمای خاص اتصال آغازگرها (۵۰-۵۷ درجه سانتی‌گراد، ± 5 درجه سانتی‌گراد از دمای TM) و ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، دنبال شد، و پس از آن ۶ دقیقه مرحله گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. محصولات PCR قبل از تجزیه و تحلیل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در نشانگر SCoT، از ۱۰ آغازگر (جدول ۴) استفاده شد (۶). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم ۲۶ میکرولیتر حاوی ۱۵/۷۵ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۲/۵ میکرولیتر بافر

PCR (Amplicon, Cat. No. 180301)، ۱/۵ میلی‌مولار MgCl₂، ۰/۵ میلی‌مولار dNTPs، KC1، ۰/۲۵ واحد تک پلیمرز (Sigma- Aldrich, USA)، ۲/۵ میکرومول از هر پرایمر، ۳ میکرولیتر DNA الگو (۵۰ ng/ μ l) تهیه شد. چرخه اول PCR شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه بود، در ۳۵ چرخه بعدی، واسرشته‌سازی به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد (جدول ۳) و گسترش آن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه صورت گرفت و مرحله سوم گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه دنبال شد.

محصولات تولید شده بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شدند و در بافر ۱ × TBE از هم جدا و با اتیدیم برومید (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) رنگ آمیزی شدند. پس از الکتروفورز، ژل‌ها بر روی یک سیستم آشکار سازی ژل ثبت شدند، اندازه قطعه با استفاده از نردبان DNA ۱ kb تخمین زده شد و ژل‌ها تحت نور UV مشاهده شدند.

الگوهای باندهای بدست آمده از SCoT و ISSR به صورت حضور (۱) یا عدم حضور باند (۰) امتیازگذاری شدند. به منظور تعیین سودمندی هر یک از سیستم‌های نشانگر، نسبت چندشکلی موثر (EMR)، شاخص نشانگری (MI)، تعداد قطعات تقویت شده (NA)، تعداد قطعات چندشکلی (NP)، درصد چند شکلی (PP)، قدرت تفکیک (RP)، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) به کمک نرم‌افزار EXCEL و با استفاده از فرمول‌های پاول و همکاران (۲۵) محاسبه شد.

جدول ۱- سایت‌های مختلف جمع‌آوری هشتاد ژنوتیپ کبر از ۱۲ جمعیت کوه‌های زاگرس مرکزی غرب ایران
Table 1. General features of the 12 sampling locations of *C. spinosa* L. in west of Iran

موقعیت جغرافیایی				شماره نمونه	محل نمونه ها	موقعیت جغرافیایی				شماره نمونه	محل نمونه ها
ارتفاع	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع			طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی				
۶۲۸	۳۴۱۵/۹۲۶	۴۵۴۸/۲۳۸	۱۳۱۹	۳۴۳۱/۶۳۳	۴۷۱۲/۶۲۰	کرمانشاه	۱				
۶۲۸	۳۴۱۵/۹۲۸	۴۵۴۸/۲۱۱	۱۴۰۶	۳۴۵۷/۱۰۱	۴۷۱۲/۱۶۴		۲				
۶۲۸	۳۴۱۵/۹۴۱	۴۵۴۸/۲۱۸	۱۳۵۶	۳۴۵۷/۰۲۶	۴۷۱۷/۱۳۲		۳				
۸۶۷	۳۴۷۲/۵۶۰	۴۵۴۸/۵۵۱	۱۳۶۱	۳۴۵۷/۰۳۵	۴۷۱۷/۲۲۰		۴				
۸۶۷	۳۴۷۲/۵۸۰	۴۵۴۸/۵۵۶	۱۳۷۲	۳۴۵۷/۱۱۵	۴۷۱۷/۲۵۲		۵				
۱۰۵۳	۳۴۵۱/۵۷۰	۴۵۴۸/۹۶۴	۱۳۳۲	۳۳۵۶/۵۸۶	۴۶۱۷/۳۸۲	چارمله	۶				
۱۰۴۹	۳۴۵۱/۴۶۰	۴۵۴۸/۹۵۴	۱۳۳۸	۳۳۵۶/۵۹۳	۴۶۱۷/۳۸۲		۷				
۳۰۰	۳۳۵۲/۵۵۲	۴۵۳۸/۶۲۴	۱۳۳۸	۳۳۵۶/۶۰۶	۴۶۱۷/۳۶۶		۸				
۱۳۹۹	۳۳۵۷/۰۹۵	۴۵۳۷/۱۷۱	۱۳۰۴	۳۳۵۶/۴۸۹	۴۶۱۶/۷۳۲		۹				
۱۳۸۵	۳۳۵۷/۱۱۱	۴۵۳۷/۶۳۰	۱۳۰۶	۳۳۳۶/۴۹۲	۴۶۲۳/۷۳۱	ایلام	۱۰				
۱۳۸۸	۳۳۵۷/۱۱۵	۴۵۳۷/۵۴۰	۱۳۳۳	۳۳۳۶/۰۳۴	۴۶۲۳/۷۱۸		۱۱				
۱۳۸۸	۳۳۵۷/۱۳۲	۴۵۳۷/۲۷۸	۱۳۳۸	۳۳۳۶/۰۳۸	۴۶۲۳/۷۳۶		۱۲				
۱۱۲۱	۳۳۵۷/۴۲۲	۴۵۳۷/۸۱۰	۱۳۲۹	۳۳۳۶/۰۳۱	۴۶۲۳/۷۱۱		۱۳				
۷۱۲	۳۳۵۷/۲۶۴	۴۵۳۷/۲۱۶	۱۳۲۹	۳۳۳۶/۰۳۰	۴۶۲۳/۷۰۷		۱۴				
۷۱۳	۳۳۵۷/۴۲۹	۴۵۳۷/۰۶۹	۱۳۳۰	۳۳۳۶/۰۳۴	۴۶۲۳/۶۹۳		۱۵				
۶۹۵	۳۳۵۷/۴۱۵	۴۵۳۶/۹۱۳	۱۳۳۱	۳۳۳۶/۰۲۶	۴۶۲۳/۷۰۲		۱۶				
۵۰۷	۳۳۵۶/۳۱۰	۴۵۳۰/۴۸۵	۱۳۳۲	۳۳۳۵/۹۸۹	۴۶۲۳/۷۱۸		۱۷				
۵۱۵	۳۳۵۶/۳۰۴	۴۵۳۰/۴۸۳	۱۱۳۱	۳۳۳۹/۷۹۸	۴۶۱۸/۴۰۸		۱۸				
۵۱۴	۳۳۵۶/۳۰۴	۴۵۳۰/۴۹۲	۱۱۳۷	۳۳۳۹/۸۱۴	۴۶۱۸/۴۱۳		۱۹				
۵۱۴	۳۳۵۶/۳۰۱	۴۵۳۰/۴۷۷	۵۵۵	۳۴۲۷/۸۴۶	۴۵۵۲/۰۴۲	سرپل ذهاب	۲۰				
۳۰۱	۳۳۵۲/۵۴۷	۴۵۳۸/۶۳۱	۵۵۳	۳۴۲۷/۸۷۶	۴۵۵۲/۰۱۸		۲۱				
۲۹۹	۳۳۵۲/۵۵۱	۴۵۳۸/۶۲۹	۵۵۵	۳۴۲۷/۸۱۱	۴۵۵۲/۰۸۷		۲۲				
۲۹۹	۳۳۸۲/۵۵۲	۴۵۳۶/۶۳۱	۵۷۳	۳۴۲۷/۷۸۷	۴۵۵۲/۱۴۲		۲۳				
۲۹۵	۳۳۸۷/۷۳۲	۴۵۳۶/۲۴۰	۵۶۷	۳۴۲۷/۷۸۹	۴۵۵۲/۱۵۷		۲۴				
۲۹۵	۳۳۸۷/۷۳۰	۴۵۳۶/۲۴۲	۵۷۰	۳۴۲۷/۷۸۹	۴۵۵۲/۱۵۷		۲۵				
۲۹۵	۳۳۸۷/۷۲۵	۴۵۳۶/۵۰۰	۵۷۳	۳۴۲۷/۷۸۶	۴۵۵۲/۱۵۳		۲۶				
۶۲۲	۳۴۰۳/۱۰۷	۴۵۳۰/۷۲۲	۵۷۴	۳۴۲۷/۷۸۵	۴۵۵۲/۱۵۴		۲۷				
۶۲۲	۳۴۰۳/۱۰۳	۴۵۳۰/۷۲۵	۵۷۱	۳۴۲۷/۷۷۱	۴۵۵۲/۱۴۲		۲۸				
۶۲۲	۳۴۰۳/۱۰۲	۴۵۳۰/۷۳۰	۵۶۰	۳۴۲۷/۷۵۲	۴۵۵۲/۱۲۴		۲۹				
۶۲۲	۳۴۰۳/۱۰۲	۴۵۳۰/۷۳۲	۵۶۱	۳۴۲۷/۷۵۵	۴۵۵۲/۱۳۸		۳۰				
۳۰۵	۳۴۳۹/۹۲۵	۴۵۳۳/۳۲۸	۵۶۱	۳۴۲۷/۷۵۶	۴۵۵۲/۱۳۱		۳۱				
۳۱۰	۳۴۳۹/۹۲۵	۴۵۳۳/۳۲۸	۳۸۸	۳۴۳۱/۶۷۱	۴۵۳۶/۰۵۷	قصر شیرین	۳۲				
۳۰۷	۳۴۳۹/۹۳۰	۴۵۳۳/۳۲۰	۳۷۶	۳۴۳۱/۶۷۰	۴۵۳۶/۰۴۲		۳۳				
۳۷۵	۳۴۳۳/۹۳۱	۴۵۳۳/۳۲۵	۳۷۶	۳۴۳۱/۶۶۶	۴۵۳۶/۰۳۳		۳۴				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۸۴۱	۴۶۲۹/۴۲۶	۳۷۶	۳۴۳۱/۶۷۰	۴۵۳۶/۰۳۳		۳۵				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۸۷۷	۴۶۲۹/۵۲۱	۳۷۲	۳۴۳۱/۶۹۱	۴۵۳۶/۰۵۲		۳۶				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۸۷۷	۴۶۲۹/۵۰۱	۳۷۲	۳۴۳۱/۶۸۸	۴۵۳۶/۰۵۷		۳۷				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۸۲۱	۴۶۲۹/۵۸۰	۶۳۲	۳۴۱۵/۹۳۳	۴۵۴۸/۲۷۱	گورسفید	۳۸				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۹۴۵	۴۶۲۹/۴۹۵	۶۳۳	۳۴۱۵/۹۳۶	۴۵۴۸/۲۱۲		۳۹				
۱۲۱۵	۳۴۲۳/۶۸۷	۴۶۲۹/۶۸۷	۶۳۳	۳۴۱۵/۹۳۰	۴۵۴۸/۲۱۵		۴۰				

LSB, LSA, LKB, FAM, LFC و GYB دارای ضریب تنوع بالاتری (CV) بودند، که نشان‌دهنده سطح بالایی از تنوع است، صفات FTL, HTS, P, RLB, PS SSH و FLS کمترین ضریب تنوع (CV) را نشان دادند، که نشان‌دهنده کمترین سطح تغییرات بودند (جدول ۲). وجود CV بالا در ژنوتیپ‌های ارزیابی شده، نشان داد که تنوع بالایی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده، وجود دارد.

ساختار جمعیت با استفاده از نشانگر ISSR

در نشانگر ISSR، در مجموع ۱۰۸ باند از ۱۲۷ باند (۸۵/۰۴٪) چند شکل بودند. شاخص‌های نشانگری آغازگرهای ISSR در جدول ۳ مشخص شده است. بیشترین مقدار PIC مربوط به UBC 825 (۰/۳۳) و کمترین مقدار مربوط به UBC 864 (۰/۰۲) بود. نشانگرهای UBC 856 دارای بالاترین (۵/۰۸) شاخص نشانگر (MI) و نشانگر UBC 864 دارای کمترین (۰/۰۳) مقدار MI بودند.

نرم‌افزار STRUCTURE برای هر تعداد واقعی زیر جمعیت (k) یک ماتریس Q را برآورد می‌کند که طبق این ماتریس برآورد ضریب احتمال حضور هر ژنوتیپ در هر یک از زیر جمعیت‌ها آورده شده است. طبق نتایج خوشه‌بندی، به

به‌منظور مطالعه ساختار جمعیت کاپاریس، و برآورد تعداد زیرساخت‌های موجود (K) و تجزیه موثر ساختار جمعیت و گروه‌بندی دقیق ژنوتیپ‌ها به زیر جمعیت‌های مناسب، ارزیابی ساختار جمعیت با استفاده از روش Bayesian در نرم‌افزار STRUCTURE، انجام گرفت. در این مطالعه طول دوره Burnin ۱۰۰۰۰۰ انتخاب شد، تعداد زیر جمعیت‌های احتمالی بین ۱ تا ۱۰ خوشه و برای هر خوشه ۵ شبیه‌سازی مستقل جهت تأیید تعداد صحیح گروه‌بندی‌های مجزا، انتخاب گردید. برای تجزیه و تحلیل ارتباط بین نشانگرهای ISSR و SCoT و صفات مورفولوژیکی بر اساس مدل خطی عمومی (GLM) که یک مدل وابسته به ماتریس ساختار جمعیت هست، از نرم‌افزار TASSEL (نسخه ۲،۰،۱) استفاده شد.

نتایج و بحث

تنوع مورفولوژیکی زیادی در مجموعه فعلی کاپاریس بر اساس خصوصیات مورفولوژی مشاهده شد. میانگین، حداقل، حداکثر، انحراف معیار (SD)، واریانس و ضریب تغییرات برای هر یک از خصوصیات ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. از میان ویژگی‌های مورد مطالعه، HSC، PTC، FPM،

ساختار جمعیت با استفاده از نشانگر SCoT

در مجموع ۱۶۵ باند تولید شده توسط نشانگر SCoT از ۱۹۰ باند (۶۵/۴۸٪) چند شکل بودند. شاخص‌های نشانگری آغازگرهای SCoT در جدول ۴ مشخص شده است. بیشترین مقدار PIC مربوط به SCoT33 (۰/۳۰) و کمترین مقدار مربوط به SCoT29 (۰/۱۶) بود. نشانگرهای SCoT36 دارای بالاترین (۵/۱۹) شاخص نشانگر (MI) و نشانگر SCoT29 دارای کمترین (۱/۱۹) مقدار شاخص نشانگر بودند. برای استنباط ساختار جمعیت و گروه‌بندی جمعیت‌ها، از روش خوشه‌بندی مبتنی بر مدل استفاده شد. نرم‌افزار استراکچر به منظور مطالعه ساختار جمعیت کاپاریس و برآورد ماتریس Q مورد استفاده قرار گرفت. در این نرم‌افزار تجزیه موثر ساختار جمعیت و گروه‌بندی دقیق ژنوتیپ‌ها به زیرجمعیت‌های مناسب به روش بیز انجام شد (۲۶). نمودار برآورد ثانویه تغییر (DK) و نمودار مقادیر میانگین احتمال خلفی ($\ln P(D)$) نشان دادند که به احتمال زیاد تعداد جمعیت بر اساس برنامه استراکچر و بدون آگاهی قبلی در مورد جمعیت‌ها، به ۲ گروه (k) دسته‌بندی شدند (شکل ۳). نمایه گرافیکی ضرایب عضویت تخمینی در خوشه‌ها برای هر ژنوتیپ (در $K = 2$) در شکل ۴ نشان داده شده است.

احتمال زیاد ژنوتیپ‌ها با توجه به توزیع جغرافیایی آنها، با اندکی تداخل، توزیع شده‌اند. نمودار برآورد ثانویه تغییر DK و نمودار مقادیر میانگین احتمال خلفی ($\ln P(D)$) نشان دادند که به احتمال زیاد تعداد جمعیت‌ها، به ۲ گروه (k) دسته‌بندی شدند (شکل ۱). طبق نتایج نمودار به احتمال زیاد تعداد جمعیت طبق تجزیه استراکچر به ۲ گروه (k) تقسیم می‌شوند (شکل ۴). نمایه گرافیکی ضرایب عضویت تخمینی در خوشه‌ها برای هر ژنوتیپ (در $K = 2$) در شکل ۲ نشان داده شده است. طبق گروه‌بندی استراکچر نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کُرد، خسروی، نفت شهر و بیشتر نمونه‌های جمع‌آوری شده از سومار در یک گروه و نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرمانشاه، چارمله، ایلام، ایوان، سرپل‌ذهاب، قصرشیرین، گورسفید، گیلان، و بخشی از نمونه‌های سومار در یک گروه طبقه‌بندی شدند. طبق اطلاعات تخمینی بدست آمده از نمودار ۶/۲۵٪ نمونه‌ها اختلاط دارند. نمونه‌های شماره ۱۸ (ایلام)، ۲۰ (سرپل‌ذهاب)، ۳۶ (قصرشیرین)، و ۵۳ و ۶۱ (سومار) اختلاط داشتند. نمونه‌های جمع‌آوری شده از سومار در فواصل زیادی نسبت به هم قرار داشتند، نمونه‌های جمع‌آوری شده از مرکز سومار در گروه اول و نمونه‌های مربوط به حاشیه سومار در گروه دوم قرار گرفتند.

جدول ۲- میانگین، حداکثر، حداقل، واریانس و انحراف معیار و ضریب تغییرات برای هر صفت مورفولوژیکی گیاه کاپاریس اسپینوزا جمع‌آوری شده از ۱۲ مکان مختلف کوه‌های زاگرس مرکزی غرب ایران، ارزیابی شد

Table 2. Statistical analysis results for the characteristics evaluated among the 12 populations of *C. spinosa* L.

شماره	صفت	اختصار	حداقل	حداکثر	میانگین	SD ^a	واریانس	CV % ^b
۱	قدرت رشد	GP	۳	۹	۵/۹۰	۱/۶۷	۲/۷۹	۲۸/۳۱
۲	شاخه‌زایی	B	۳	۹	۵/۵۰	۱/۷۲	۲/۹۵	۳۱/۲۳
۳	عادت رشد	GH	۱	۴	۳/۳۳	۰/۸۰	۰/۶۴	۲۴/۱۴
۴	شاخه یکساله	GYB	۱	۳	۲/۰۴	۰/۸۳	۰/۶۹	۴۰/۶۵
۵	طول میانگره	MNL	۳	۷	۳/۹۳	۱/۰۵	۱/۰۹	۲۶/۶۵
۶	تعداد عدسک	LN	۱	۴	۲/۷۴	۰/۸۵	۰/۷۲	۳۰/۹۷
۷	رنگ تنه	HSC	۱	۱۰	۲/۳۴	۲/۵۸	۶/۶۵	۱۱۰/۳۱
۸	تنه	HTS	۱	۲	۱/۰۵	۰/۲۲	۰/۰۵	۲۰/۷۶
۹	طول میوه	FLH	۳	۹	۵/۹۸	۱/۵۸	۲/۵۰	۲۶/۴۶
۱۰	عرض میوه	FTD	۳	۷	۴/۷۳	۱/۳۳	۱/۷۷	۲۸/۱۹
۱۱	نسبت طول به عرض میوه	FLD	۳	۷	۴/۱۵	۱/۰۹	۱/۱۸	۲۶/۱۵
۱۲	دم میوه	FTL	۳	۷	۶/۰۵	۱/۰۹	۱/۲۰	۱۸/۰۹
۱۳	دمگل	P	۳	۷	۵/۸۵	۱/۲۲	۱/۴۸	۲۰/۷۸
۱۴	قطر دم	FTT	۳	۷	۴/۲۸	۱/۰۸	۱/۱۶	۲۴/۶۱
۱۵	پروفیل کناره	FFP	۱	۲	۱/۲۳	۰/۴۲	۰/۱۷	۳۴/۰۹
۱۶	تقارن در برش طول	FS	۱	۲	۱/۲۱	۰/۴۱	۰/۱۷	۳۳/۷۴
۱۷	تعداد خطوط روی میوه	NF	۳	۷	۳/۹۳	۱/۲۲	۱/۴۹	۳۱/۱۵
۱۸	انحنای دم	FCT	۱	۹	۵/۶۵	۱/۹۴	۳/۷۸	۳۴/۴۰
۱۹	حالت دم نسبت به محور میوه	PTC	۱	۷	۳/۲۵	۲/۲۳	۴/۹۸	۶۶/۶۰
۲۰	موقعیت بیشترین قطر میوه	FPM	۱	۳	۱/۵۴	۰/۸۷	۰/۷۵	۵۷/۲۷
۲۱	آبداری گوشت میوه	FAM	۱	۱۰	۵/۱۰	۲/۳۲	۵/۳۹	۴۵/۵۲
۲۲	رنگ دم میوه	FTC	۱	۲	۱/۱۵	۰/۳۶	۰/۱۳	۳۱/۰۵
۲۳	برآمدگی خطوط روی میوه	FBL	۱	۲	۱/۳۳	۰/۴۷	۰/۲۲	۳۵/۳۵
۲۴	اندازه بذر	SS	۱	۳	۱/۶۶	۰/۶۵	۰/۴۲	۳۹/۱۵
۲۵	شکل بذر	SSH	۱	۲	۱/۸۶	۰/۳۴	۰/۱۲	۱۸/۴۹
۲۶	رنگ بذر	SC	۱	۲	۱/۵۳	۰/۵۰	۰/۲۵	۳۲/۷۵
۲۷	اندازه گل	FLS	۱	۲	۱/۰۵	۰/۲۲	۰/۰۵	۲۰/۷۶
۲۸	تراکم کرک برگ	SBOD	۱	۷	۴/۷۳	۱/۷۵	۳/۰۷	۳۷/۱۱
۲۹	کرک برگ	LQD	۱	۷	۴/۵۷	۱/۸۱	۳/۲۷	۳۹/۵۲
۳۰	طول پهنک	LBL	۳	۹	۵/۲۳	۱/۵۵	۲/۴۰	۲۹/۶۵
۳۱	عرض پهنک	LBW	۳	۹	۵/۴۰	۱/۴۳	۲/۰۴	۲۶/۴۵
۳۲	نسبت طول به عرض پهنک	RLB	۳	۹	۵/۴۳	۱/۲۱	۱/۴۷	۲۲/۳۴
۳۳	دمبرگ	PL	۳	۹	۴/۲۸	۱/۶۳	۲/۶۶	۳۷/۲۷
۳۴	شکل قاعده	LSB	۱	۵	۲/۳۳	۱/۱۶	۱/۳۴	۴۹/۸۷
۳۵	شکل انتهای نوک تیز	LSA	۱	۵	۲/۶۳	۱/۲۵	۱/۵۶	۴۷/۵۷
۳۶	طول نوک تیز	LKB	۱	۷	۴/۱۵	۱/۸۹	۳/۵۸	۴۵/۵۸
۳۷	دمبرگ گوشوارک	LPS	۱	۲	۱/۶۰	۰/۴۹	۰/۲۴	۳۰/۶۲
۳۸	طول جوانه گل	LFB	۱	۲	۱/۶۳	۰/۴۸	۰/۲۳	۲۹/۷۹
۳۹	رنگ پرچم	LFC	۱	۴	۱/۷۱	۰/۷۴	۰/۵۵	۴۳/۵۰
۴۰	شکل نوک جوانه	STB	۱	۲	۱/۳۱	۰/۴۶	۰/۲۱	۳۵/۳۳
۴۱	طول پرچم	FL	۳	۹	۶/۵۸	۱/۵۴	۲/۳۷	۲۳/۴۱
۴۲	اندازه گلبرگ	PS	۳	۹	۶/۶۸	۱/۴۳	۲/۰۴	۲۱/۴۲
۴۳	طول کاسبرگ	SL	۱	۳	۲/۲۸	۰/۷۹	۰/۶۲	۳۴/۷۳

بروز ژنوتیپ‌های میانی است. شرایط مبهم فیلورنی کاپاریس بسیاری از محققین را به حل ابهامات طبقه‌بندی گونه‌های وحشی و کشت شده ژنوتیپ‌های کاپاریس با استفاده از نشانگرهای مولکولی سوق داده است (۲۰). برای بررسی ساختار جمعیتی، یک روش خوشه‌بندی مبتنی بر مدل با استفاده از برنامه STRUCTURE اجرا شد، که بدون اطلاعات قبلی در مورد جمعیت‌ها و تحت یک مدل مخلوط، ساختار تعداد احتمالی جمعیت برای داده‌های ISSR و SCoT را نشان داد، یعنی $K = 2$ به حداکثر خود رسید (شکل ۱ و ۳)، که همه جمعیت‌ها در یکی از دو خوشه قرار گرفتند. این دو خوشه متمایز ژنتیکی در درجه اول با توزیع جغرافیایی این جمعیت‌ها مطابقت دارند. تناسب بین توزیع جغرافیایی جمعیت‌ها و روابط ژنتیکی آنها به طور کلی به عنوان نشانه‌ای از الگوی طولانی مدت جریان ژن بسیار محدود تفسیر می‌شود.

در این مطالعه هر دو نشانگر SCoT و ISSR تقریباً نتایج یکسانی بدست آوردند، که نشان‌دهنده کارایی یکسان این دو

طبق گروه‌بندی استراکچر نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرمانشاه، چارمله، ایلام، سرپل‌ذهاب، قصرشیرین، گورسفید، گیلان، خسروی، نفت شهر، و سومار در یک گروه، و نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرد و ایوان در یک گروه طبقه‌بندی شدند. طبق اطلاعات تخمینی بدست آمده از نمودار ۷,۵٪ نمونه‌ها اختلاط دارند. نمونه‌های شماره ۱۲ و ۱۷ (ایلام)، ۳۳ و ۳۵ (قصرشیرین)، ۵۴ (سومار)، و ۷۰ (نفت‌شهر) اختلاط داشتند. بدین معنی که چون درصد عضویت آنها کمتر از ۷۰٪ بود نتوانستند به هیچ یک از گروه‌ها منتسب گردند. خوشه‌بندی جمعیت‌ها، حاکی از آن است که به احتمال زیاد ژنوتیپ‌ها با توجه به توزیع جغرافیایی آنها البته با اندکی تداخل، توزیع شده‌اند.

طبقه‌بندی کاپاریس مبهم و بسیار بحث برانگیز است. ساختار جمعیتی آن به خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است. تاکسونومیست‌های مختلف ۲۵۰ گونه مختلف از نظر ریخت شناسی را در جنس Capparis شناسایی کرده‌اند. بیشتر سردرگمی‌ها به دلیل هیبریداسیون آزاد گونه‌های مختلف و

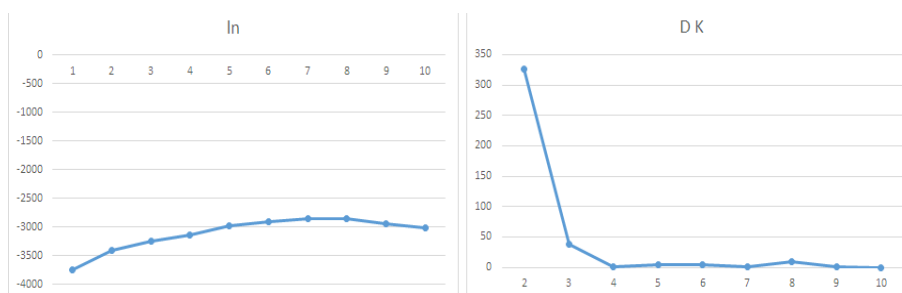
کبر با استفاده از نشانگر ISSR به طور کلی دو خوشه ژنتیکی اصلی را نشان دادند. طبق نتایج مطالعه یوسفی و همکاران (۳۸) ساختار تعداد احتمالی جمعیت کاپاریس متعلق به ۶ گونه با استفاده از نشانگر AFLP برابر با $K=6$ بود، که با نتایج کا رما مطابقت نداشت، احتمالاً دلیل متفاوت بودن نشانگرهای بکار رفته می‌باشد.

نشانگر برای مطالعه ساختار جمعیت کبر غرب ایران می‌باشد. طبق نتایج مطالعه بوهیار و همکاران (۷)، جمعیت کبر جمع‌آوری شده از ۹ منطقه مورد بررسی، در سه گروه قرار گرفتند، تعداد گروه ایجاد شده کمتر از تعداد مکان‌های جمع‌آوری نمونه‌ها بود، که با نتایج کار ما مطابقت داشت. علاوه بر این، نتایج مطالعه گریستینا و همکاران (۱۰) با نتایج مطالعه ما همخوانی داشتند، طبق گفته آنها افراد و جمعیت‌های

جدول ۳- مشخصات آغازگرهای ISSR و خصوصیات باند و تفسیر آن در ۸۰ ژنوتیپ از ۱۲ جمعیت کاپاریس

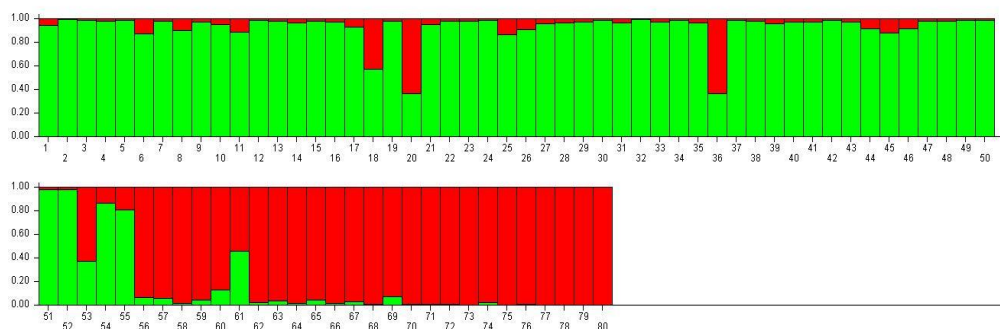
نشانگر	دمای اتصال	توالی (5'-3')	NA	NP	PP	MI	RP	PS	PIC
UBC 873	۵۴	AGAGAGAGAGAGAGAGT	۱۱	۸	۷۲/۷	۱/۲۲	۵/۸۲	۱۴/۳۸	۰/۲۱
UBC 880	۵۷	AGAGAGAGAGAGAGAGC	۱۰	۶	۶۰	۰/۷۲	۳/۶۰	۱۵/۵۵	۰/۲۰
USB 835	۵۴	ACACACACACACACACT	۱۲	۱۰	۸۳/۳	۲/۱۱	۸/۳۳	۱۳/۱۰	۰/۲۵
UBC 864	۵۶	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	۶	۳	۵۰	۰/۰۳	۱/۵۰	۱۱/۸۸	۰/۰۲
USB 884	۵۰	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	۱۱	۸	۲۷/۷	۱/۱۲	۵/۸۲	۱۳/۲۵	۰/۱۹
UBC 856	۵۴	ACACACACACACACACYA	۱۷	۱۷	۱۰۰	۵/۰۸	۱۷	۱۶/۹۸	۰/۳۰
UBC 825	۵۶	ATGATGATGATG	۱۵	۱۵	۱۰۰	۴/۸۹	۱۵	۱۳/۹۸	۰/۳۳
UBC 841	۵۴	GACAGACAGACAGACA	۱۰	۶	۶۰	۰/۵۶	۳/۶۰	۱۶/۳۳	۰/۱۷
UBC 807	۵۴	GGAGAGGAGAGAGAGA	۱۸	۱۸	۱۰۰	۴/۵۵	۱۸	۲۲/۳۳	۰/۲۵
UBC 808	۵۵	ACTGCTGAGAGAGAGAGAGA	۱۷	۱۷	۱۰۰	۳/۸۰	۱۷	۲۰/۳۳	۰/۲۲
میانگین			۱۲/۷	۱۰/۸	۸۵/۰۳۹	۲/۴۱	۹/۵۷	۱۵/۸۱	۰/۲۲

NA = تعداد قطعات تقویت شده، NP = تعداد قطعات چند شکلی، PP = درصد چندشکلی، MI = شاخص نشانگر، RP = نسبت چندشکلی، PS = قدرت تفکیک، PIC = محتوای اطلاعات چند شکل



شکل ۱- نمودار میانگین مقادیر احتمال خلفی (A) (DK) در هر خوشه (K)، و تجزیه و تحلیل (B) (ln) P (D) برای تعیین مقدار بهینه K با استفاده از نشانگر ISSR

Figure 1. Chart of mean posterior probability values (DK) (A) per cluster (K), and analysis of B (ln) P (D) to determine the optimal value of K using the ISSR marker.



شکل ۲- خوشه‌بندی بی‌طرفانه ۸۰ ژنوتیپ از نظر آماری متعلق به ۱۲ جمعیت با استفاده از ۱۰۸ جایگاه چند شکلی ISSR به کمک نرم‌افزار استراکچر. دو ژنوتیپ مختلف با رنگ‌های مختلف نشان داده شده‌اند.

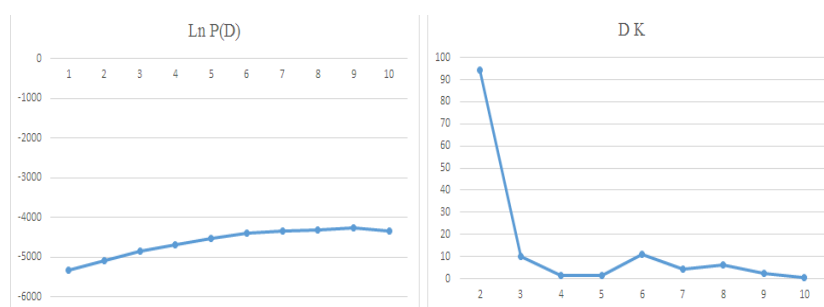
Figure 2. Impartially clustering of 80 genotypes statistically belonging to 12 populations using 108 ISSR polymorphic loci using structure software. Two different genotypes are shown with different colors.

جدول ۴- مشخصات آغازگرهای SCoT در ۸۰ ژنوتیپ از ۱۲ جمعیت کاپاریس

Table 4. SCoT primers characteristics in 80 genotypes from 12 caper populations

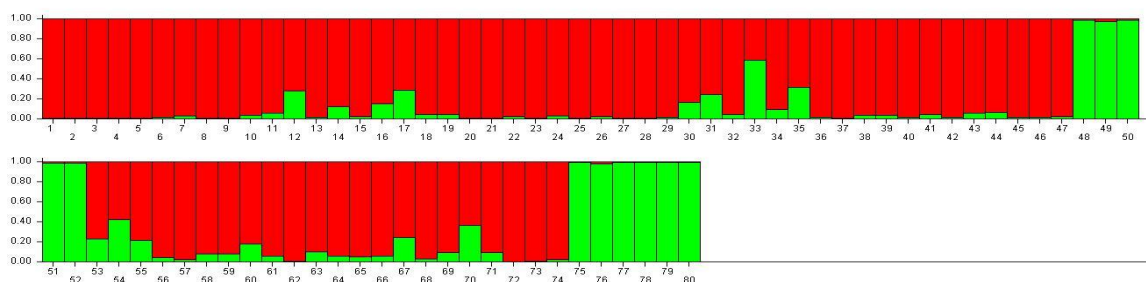
نشانهگر	دماي اتصال	توالي (5'-3')	NA	NP	PP	MI	EMR	PS	PIC
SCoT01	۵۰	CAACAATGGCTACCACCA	۲۴	۲۱	۸۷/۵۰	۳/۶۰	۱۸/۳۸	۲۸/۲۰	-/۲۰
SCoT12	۵۰	ACGACATGGCGACCAACG	۲۲	۱۶	۷۲/۷۳	۲/۰۸	۱۱/۶۴	۲۸/۸۰	-/۱۸
SCoT13	۵۰	ACGACATGGCGACCATCG	۲۳	۲۲	۹۵/۶۵	۴/۵۸	۲۱/۰۴	۲۷/۷۰	-/۲۲
SCoT18	۵۰	ACCATGGCTACCACCGCC	۱۹	۱۶	۸۴/۲۱	۲/۹۰	۱۳/۴۷	۲۳/۷۰	-/۲۲
SCoT22	۵۰	AACCATGGCTACCACCAC	۱۸	۱۵	۸۳/۳۳	۲/۶۶	۱۲/۵۰	۲۱/۶۰	-/۲۱
SCoT29	۵۰	CCATGGCTACCACCGGCC	۱۴	۱۰	۷۱/۴۳	۱/۱۳	۷/۱۴	۲۰/۴۰	-/۱۶
SCoT30	۵۰	CCATGGCTACCACCGGCG	۱۸	۱۷	۹۴/۴۴	۳/۸۲	۱۶/۰۶	۲۳/۲۰	-/۲۴
SCoT31	۵۰	CCATGGCTACCACCGCCT	۱۵	۱۳	۸۶/۶۷	۲/۶۵	۱۱/۲۷	۱۸/۲۰	-/۲۴
SCoT33	۵۰	CCATGGCTACCACCGCAG	۱۵	۱۴	۹۳/۳۳	۳/۰۸	۱۳/۰۷	۲۱/۰۰	-/۳۰
SCoT36	۵۰	GCAACAATGGCTACCACC	۲۲	۲۱	۹۵/۴۵	۵/۱۹	۲۰/۰۵	۲۴/۸۰	-/۲۶

NA= تعداد قطعات تولید شده، NP= تعداد قطعات چند شکلی، PP= درصد چندشکلی، MI= شاخص نشانگر، RP= قدرت تفکیک، PS= قدرت تفکیک، PIC= محتوای میانگین اطلاعات چند شکل



شکل ۳- نمودار میانگین مقادیر احتمال خلفی (A) (DK) در هر خوشه (K) و تجزیه و تحلیل (B) (Ln P(D)) برای تعیین مقدار بهینه K با استفاده از نشانگر SCoT

Figure 3. Chart of mean posterior probability values (DK) (A) per cluster (K), and analysis of B (Ln) P(D) to determine the optimal value of K using the SCoT marker



شکل ۴- خوشه‌بندی بی‌طرفانه ۸۰ ژنوتیپ از نظر آماری متعلق به ۱۲ جمعیت با استفاده از ۱۵۳ جایگاه چند شکلی SCoT به کمک نرم افزار استراکچر. دو ژنوتیپ مختلف با رنگ‌های مختلف نشان داده شده‌اند و اعداد روی محور افقی و عمودی به ترتیب شماره افراد و ضریب تعلق هر فرد به هر کلاستر را نشان می‌دهد.

Figure 4. Impartially clustering of 80 genotypes statistically belonging to 12 populations using 153 SCoT polymorphic loci using structure software. Two different genotypes are represented by different colors, and the numbers on the horizontal and vertical axes indicate the number of individuals and the coefficient of belonging of each individual to each cluster, respectively.

تجزیه ارتباط

صفات پیچیده و مهم زراعی تحت تاثیر QTL‌های متعدد، محیط و اثر متقابل QTL‌ها و محیط است، تجزیه لینکاژ و مکانیابی ارتباطی دو روش معمول و پرکاربرد برای بررسی صفات پیچیده می‌باشند (۸). تجزیه لینکاژ برای شناسایی

نشانگرهای ISSR و SCoT مرتبط با صفات مورفولوژیکی از روش مدل خطی عمومی (GLM) استفاده شد. تجزیه با استفاده از نرم‌افزار TASSEL (نسخه ۲,۰,۱) انجام شد. ارتباط بین نشانگرها و صفات مورفولوژیکی در جدول ۵ گزارش شده است. همه نشانگرهای گزارش شده در این

(SL, UBC880-4, GP, HTS, FLS, LBL, LBW, PL, LFB و UBC856-6, GP, GH, FTD, PTC, FPM, SS, SC, PS و SL)، که نشان‌دهنده اثر پلیوتروپی این نشانگرها و احتمالاً پیوستگی مکان‌های ژنومی کنترل کننده این صفات باشد (۱).

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج، تنوع ژنتیکی کل کاپاریس اسپینوزا بالا بود و هر دو نشانگر SCoT و ISSR برای مطالعه روابط ژنتیکی نمونه‌های کبر در مناطق غرب ایران تقریباً به یک اندازه مفید بودند. نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از روش GLM همراه با ترکیبی از نشانگرهای مختلف می‌تواند در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورفولوژیک در کبر مؤثر باشد.

جدول معنی‌دار بودند. در مجموع بر اساس نتایج، ۹۶۶ نشانگر SCoT و ۵۷۱ نشانگر ISSR که ارتباط معنی‌داری (در سطح احتمال ۵ درصد) با صفات مورد مطالعه داشتند، شناسایی شدند. کمترین مکان مرتبط و معنی‌دار بر اساس این مدل شامل ارتباط ۲ نشانگر با شکل بذر در نشانگر ISSR، و ارتباط ۶ نشانگر با رنگ دم میوه و شکل نوک جوانه در نشانگر SCoT بود و بیشترین مکان مرتبط و معنی‌دار شامل ۴۸ نشانگر در ارتباط با صفت رنگ پرچم در نشانگر ISSR، و ۲۶ نشانگر در ارتباط با صفت طول پرچم در نشانگر SCoT بود، این نتایج حاکی از آن است که دو صفت شکل بذر، رنگ دم میوه و شکل نوک جوانه به احتمال زیاد جزء صفات کیفی می‌باشند. بیشتر نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط بودند، مانند نشانگرهای UBC873-4 (GP, GH, LN, SS, FAM, PTC, FCT, FTT, P, FTL, FTD, FLH, FL, LFC, LKB, PL, LBW, LQD, SBOD و PS،

جدول ۵- تجزیه ارتباط بر اساس روش مدل خطی عمومی (GLM) با استفاده از نشانگرهای ISSR و SCoT شامل ۴۳ صفت مورفولوژیک
Table 5. Association Analysis based on general linear model (GLM) method using ISSR and SCoT markers including 43 morphological traits

ISSR				SCoT				اختصار	مورفولوژیکی صفات	ISSR				SCoT				اختصار	مورفولوژیکی صفات
R2	T	R2	T	R2	T	R2	T			R2	T	R2	T	R2	T				
۱۵/۸	۲۵	۲۱/۳	۱۱	FBL	برآمدگی خطوط روی میوه	۱۶/۲	۱۸	۱۰/۵	۱۳	GP	قدرت رشد	۲۱/۱	۳۰	۱۲/۹	۲۰	SS	شاخه‌زایی	B	عادت رشد
۸/۳	۲	۱۰/۹	۱۲	SSH	شکل بذر	۱۹/۵	۲۸	۱۷/۱	۱۹	GH	شاخه‌یکساله	۱۴/۵	۱۹	۱۲/۰	۱۳	SC	طول میانگره	GYB	تعداد عسک
۵۳/۵	۴۰	۴۰/۴	۲۴	FLS	اندازه گل	۷/۴	۵	۷/۲	۶	MNL	رنگ تنه	۱۰/۶	۲۸	۸/۰	۷	SBOD	تنه	LN	طول میوه
۱۱/۸	۲۴	۱۰/۱	۷	LQD	تراکم کرک برگ	۲۳/۳	۱۵	۱۹/۰	۱۱	HSC	نسبت طول به عرض	۱۰/۸	۱۶	۱۰/۳	۵	LBL	پهنک	HTS	عرض میوه
۹/۳	۱۸	۱۲/۸	۷	LBW	عرض پهنک	۱۵/۷	۳۰	۱۰/۳	۹	FLH	عرض میوه	۱۹/۶	۱۷	۱۵/۴	۱۷	RLB	نسبت طول به عرض پهنک	FTD	عرض میوه
۱۹/۳	۲۱	۸/۷	۸	PL	دمبرگ	۹/۴	۳۰	۱۰/۹	۸	FLD	نسبت طول به عرض میوه	۱۶/۸	۲۰	۸/۳	۷	LSB	شکل قاعده	FTL	دم میوه
۱۴/۹	۶	۹/۹	۱۰	LSA	شکل انتهایی نوک تیز	۱۷/۹	۳۵	۱۲/۱	۲۵	P	دمگل	۱۴/۹	۶	۹/۹	۱۰	LKB	طول نوک تیز	FTT	قطر دم
۱۱/۴	۱۱	۱۳/۲	۱۲	LPS	دمبرگ گوشوارک	۱۲/۲	۲۱	۱۰/۰	۱۴	FEP	پروفیل کناره	۱۸/۴	۱۸	۲۶/۶	۱۳	LFB	طول جوانه گل	FS	تقارن در برش طول
۵۰/۵	۴۸	۲۱/۲	۱۸	LFC	رنگ پرچم	۸/۹	۱۰	۱۷/۲	۹	NF	تعداد خطوط روی میوه	۸/۸	۱۰	۷/۲	۴	STB	شکل نوک جوانه	FCT	انحنای دم
۳۰/۶	۴۰	۲۸/۰	۲۶	FL	طول پرچم	۱۳/۷	۲۴	۱۲/۹	۱۵	PTC	حالت دم نسبت به محور میوه	۲۹/۳	۳۶	۳۲/۳	۲۰	PS	اندازه گلبرگ	FPM	موقعیت بیشترین قطر میوه
۱۵/۲	۳۱	۱۵/۸	۱۸	SL	طول کاسبرگ	۲۱/۹	۳۱	۱۵/۲	۲۲	FAM	آبداری گوشت میوه	۲۰/۶	۱۱	۷/۳	۴	FTC	رنگ دم میوه		

T: تعداد کل نشانگرها نشان‌دهنده ارتباط معنی‌داری با صفت است
R2: حداکثر تغییر صفت توسط یک نشانگر از مجموع نشانگرهای مرتبط با آن صفت

منابع

1. Abdollahi Mandoulakani, B., H. Azizi, Y. Piri, S. Rahmanpour and L. Hassani. 2016. Association analysis for morphological traits in cultivated alfalfa using molecular markers. Journal of Crop Breeding, 8: 52-60 (In Persian).
2. Ahmadi, M. and H. Saeidi. 2018. Genetic diversity and structure of *Capparis spinosa* L. in Iran as revealed by ISSR markers. Physiology and Molecular Biology of Plants, 24(3): 483-491.
3. Al- Safadi, B., H. Faouri and R. Elias. 2014. Genetic diversity of some *Capparis* L. species growing in Syria. Brazilian Archives Biology and Technology, 57(6): 916-926.
4. Anonymous. 1999. The ayurvedic pharmacopoeia of India. Part-1. 1st ed., Vol. V. Kottakkal: Arya Vaidya sala, 41 pp.
5. Babili, J.M. 2015. Benefiting commercially from untapped plant natural resources: Caper as a case study. No. 1104-2016-91738.
6. Bertrand, C.C. and D.J. Mackill. 2009. Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. Plant Molecular Biology Report, 27: 86-93.
7. Bhoyar, M.S., G.P. Mishra, P.K. Naik, A. Ashutosh and R.B. Murkute. 2012. Genetic variability studies among natural populations of *Capparis spinosa* from cold arid desert of Trans-Himalayas using DNA markers National Academic Science Letter, 35(6): 505-515.
8. Doerge, R.W. 2002. Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. Nature Reviews Genetics, 3: 43-52.
9. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
10. Gristina, A.S., S. Fici, M. Siragusa, I. Fontana, G. Garfi and F. Carimi. 2014. Hybridization in *Capparis spinosa* L.: molecular and morphological evidence from a mediterranean island complex. Flora 209: 733-741.
11. Inocencio, C., A.R.S. Cowan, F. Alcaraz, D. Rivera and M.K. Fay. 2005. AFLP finger-printing in *Capparis* subgenus *Capparis* related to the commercial sources of capers, Genetic Resource and Crop Evolution, 52:137-144.
12. Lansky, E.F., H.M. Paavilainen and S.h. Lansky. 2014. Traditional herbal medicines for modern times. International Standard Book Number, 13: 978-1-4398-6138-7.
13. Liu, C., G.P. Xue, B. Cheng, X. Wang, J. He, G.H. Liu and W.H. Yang. 2015. Genetic diversity analysis of *Capparis spinosa* L. populations by using ISSR markers. Genetic and Molecular Research, 14(4): 16476-16483.
14. Manikandaselvi, S., V. Vadivel and P. Brindha. 2016. Review on ethnobotanical studies of nutraceutical plant: *capparis spinose* (caper). Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 9(3):123-126.
15. Mansour, R.B., I.B.H. Jilani, M. Bouaziz, B. Gargouri, N. Elloumi, H. Attia, Z. Ghrabi-Gammar and S. Lassoued. 2016. Phenolic contents and antioxidant activity of ethanolic extract of *Capparis spinosa*. Cytotechnology, 68(1): 135.
16. Martín, J.J., E. Saadaoui and E. Cervantes. 2016. Seed shape quantification in *Capparis spinosa* L.: Effect of subspecies and geographic regions. Scirea Journal Agriculture, 1(1): 79-90.
17. Matsuyama, K., M.O. Villareal, A. El Omri, J. Han, M.E. Kchouk and H. Isoda. 2009. Effect of Tunisian *Capparis spinosa* L. extract on melanogenesis in B16 murine melanoma cells. J. Nat. Med, 63(4): 468.
18. Muharrem, G., Ö. Gürsel and E. Sezai. 2009. Caper (*Capparis spp.*) growing techniques and economic importance. 1st International Symposium on Sustainable Development, 9-10.
19. Musallam, I., M. Duwayri and R. Shibli. 2010. Morphological diversity of *Capparis spinosa* L. in Jordan. Pharmacognosy Magazine, 6(22): 158.
20. Musallam, I., M. Duwayri, R. Shibli and F. Alali. 2012. Investigation of rutin content in different plant parts of wild caper (*Capparis spinosa* L.) populations from Jordan. Research Journal of. Medicinal Plant, 6(1): 27.
21. Nabavi, S.F., F. Maggi, M. Daglia, S. Habtemariam, L. Rastrelli and S.M. Nabavi. 2016. Pharmacological effects of *Capparis spinosa* L. Phytotherapy Research, 30: 1733-1744.
22. Nikkerdar, F., M. Farshadfar, M.A. Ebrahimi and H. Shirvani. 2018. Genetic diversity among Fennel (*Foeniculum Vulgare* Mill.) landrace using Scot markers. Journal of Crop Breeding, 9(24): 95-102.
23. O'zbek, O. and A. Kara. 2013. Genetic variation in natural populations of *Capparis* from Turkey, as revealed by RAPD analysis, Plant Systematics and Evolution, 299(10).
24. Patel, V., V. Sharma and A. Patidar. 2014. Quantitative analysis of rutin and quercetin in *Capparis spinosa* and *Brassica oleracea* by HPLC Int. Journal of. Pharmaceutical and Life Science, 5(8): 3720.
25. Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanafey, J. Vogel, S. Tingey and A. Rafalski. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular breeding, 2(3): 225-238.

26. Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data", Genetics, 155: 945-959.
27. Pugnaire, F. 1989. Nota sobre las Capparaceae ibericas. Blancoana, 7: 121-2.
28. Rhimi, A., S. Mnasri, R. Ben Ayed, A.I. Bel Hajj, S. Hjaoujia and B. Mohamed. 2019. Genetic relationships among subspecies of *Capparis spinosa* L. from Tunisia by using ISSR markers. Molecular Biology Reports.
29. Saadaoui, E., A. Khaldi, M.L. Khouja and E.G. Mohamed. 2009. Intraspecific variation of *Capparis spinosa* L. in Tunisia. Journal of herbs, spices & medicinal plants, 15(1): 9-15.
30. Salamat, A., S. Mashuf and F. Mgab. 2014. Effects of inhalation of lavender essential oil on open-heart surgery pain. Iranian journal of pharmaceutical research (IJPR), 13(4):1257-61.
31. Schmidt, J. 2016. Negative ion electrospray high-resolution tandem mass spectrometry of polyphenols. Journal of Mass Spectrometry, 51(1): 33.
32. Schulz, V. 2006. Safety of St. John's Wort extract compared to synthetic antidepressants. Phytomedicine, 13: 99-204.
33. Sozzi, O.G. and A.R. Vicente. 2006. "Capers and caperberries," in handbook of herbs and spices, ed K. V. Peter (Boca Raton, FL: Woodhead Publishing Limited; CRC Press, 230-256.
34. Tamboli, A., P. Yadav, A. Gothe, S.H. Yadav and S. Govindwar, 2018. Molecular phylogeny and genetic diversity of genus *Capparis* (Capparaceae) based on plastid DNA sequences and ISSR markers. Pant Systematics and Evolution 304:205–217. <https://doi.org/10.1007/s00606-017-1466-z>.
35. Tlili, N., A.H. Khaldi, S. Triki and S. Munné-Bosch. 2010. Phenolic compounds and vitamin antioxidants of Caper (*Capparis spinosa*). Plant Foods for Human Nutrition, 65: 260-265.
36. Tlili, N., W. El-Fallah, E. Saadadoui, A.H. Khaldi, S. Triki and N. Nasri. 2011. The caper (*Capparis* L.): ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Fitoterapia, 82: 93-101.
37. Yousfi, H.A., B.A. Bahri, M. Medini, S. Rouz, M. Nejib Rejeb and Z. Ghrabi-Gammar. 2016. Genetic diversity and population structure of six species of *Capparis* in Tunisia using AFLP markers. C. R. Biologies, 339: 442-453.
38. Zhang, Y. 2012. The molecular basis that unifies the metabolism, cellular uptake and chemopreventive activities of dietary isothiocyanates. Carcinogenesis, 33(1): 2.
39. Zohary, M. 1960. The species of *Capparis* in the Mediterranean and the near eastern countries. Bull Research Counc Israel, 80: 49-65.
40. Zokian, S.A. 2015. Morphological, anatomical study and geographical distribution in Iraq of *Capparis spinosa* L. Iraqi Journal of Science, 56(1): 100.

Study of Population Structure of *Capparis Spinosa* and Analysis of Morphological Traits using ISSR and SCoT Markers

Noushin Mahmoudi¹, Gholamreza Sharifi Sirchi² and Kianoosh Chaghamirza³

1- Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran

2- Department of Biotechnology Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Old Address: Department of Horticulture, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Hormozgan University, Bandar Abbas, Iran (Responsible author: sharifisirchi@yahoo.com)

3- Department of Agriculture and Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, Iran

Received: 19 January 2022 Accepted: 13 February 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: *Capparis spinosa* is from *Capparis* genus, and Capparidaceae family includes 350 species. It is originated from Mediterranean region. Human as food uses entire parts of *C. spinosa* as young stems, flower buds, fruit, and seed. Caper, trade name, has several species in Iran. *C. spinosa* has a high capacity in international agriculture markets. Today, focused on Caper selection and breeding programmes in many countries in the world. Kinds of genetics analysis techniques accompanied by genetic markers based on PCR are presented to evaluate genetic variation on plant species. ISSR and Scot are dominant markers used for genetic variation evaluation in plant germplasm.

Material and Methods: To evaluate *C. spinosa* population structure, which grows naturally in western Iran, collected 80 genotypes from 12 different locations.

Results: Neutral statistical clustering of genotypes without previous knowledge of populations, using two ISSR and SCoT markers, distributed 80 genotypes in the two groups. According to the results of morphological analysis of morphological traits based on ISSR and SCoT markers, all reported markers were significant. Based on the results, 966 SCoT markers and 571 ISSR markers were identified with a significant relationship (with a probability level of 5%) with the studied traits.

Conclusion: Based on structure analysis, using SCoT markers, collected genotypes from Kermanshah, Chahmeleh, Ilam, Sarpolzohab, Ghasr Shirin, Gor Safid, Gilan, Khosravi, Naft Shahr, Somar classified in group one, and collected genotypes from Karand and Ivan classified in group two. Based on structure analysis, using ISSR markers, collected genotypes from Karand, Khosravi, Naft Shahr, and most of genotypes from Somar were classified in group one and collected genotypes from Kermanshah, Chahmeleh, Ilam, Ivan, Sarpolzohab, Ghasr Shirin, Gor Safid, Gilan and little Somar genotypes classified in group two. Generally, ISSR and SCoT markers showed high genetic diversity in samples collected from western Iran. The results of correlation analysis showed that using GLM method with a combination of different markers can identify markers related to morphological traits in *C. spinosa*.

Keywords: Caper, Marker, Population structure, Relation analysis, Zagros mountain genotypes