دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی قابلیت نشانگرهای رتروترانسپوزون در بررسی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های تربچه

مصطفی طباطبایی[۱]، فاطمه حدادی[۲]، حسین کمال‌الدینی[۲] و بهمن فاضلی نسب[۳]

۱ و ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳- هیات علمی، گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران (نویسنده مسوول: bfazeli@uoz.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۱۴

چکیده

تربچه از تیره شب بویان، دارای موادی از جمله سنوول، مالوین کلراید، ساپوژنین، سولفورافان و رافانین بوده و از خواص درمانی متعددی برخوردار است. در تحقیق حاضر تنوع ژنتیکی ۷ جمعیت تجاری/بومی گیاه دارویی تربچه با استفاده از نشانگر رتروترانسپوزونی IRAP بررسی شد. آغازگر ترکیبی LTR2 & LTR15 با ۱ باند کمترین تعداد و آغازگر LTR23 با ۱۶ باند بیشترین تعداد را در میان باندهای تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. میانگین تعداد باند در کل جایگاه‌ها برابر ۶/۹۳ بود. بیشترین میزان شاخص چندشکلی (۰/۴۱) مربوط به آغازگر Sukkula و کمترین میزان شاخص چندشکلی (۰/۱۸) مربوط به آغازگر LTR2- LTR15 و با میانگین کل ۰/۲۸ مشاهده گردید. بیشترین میزان شاخص نشانگری (۴/۱) مربوط به آغازگر LTR3 و کمترین میزان شاخص نشانگری (۰/۱۸) مربوط به ترکیب آغازگری LTR15 & LTR2 مشاهده گردید. بیشترین میزان تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۸۲، ۰/۶۴ و ۰/۴۵ متعلق به آغازگر Sukkula و کمترین میزان تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۱۸، ۰/۲۷ و ۰/۱۵ متعلق به آغازگر rtdk بود. در بین جمعیت‌های تربچه بیشترین درصد مکان چندشکل، تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع نی و شاخص تنوع شانن به ترتیب ۴۶/۸۵، ۱/۰۵، ۰/۱۷ و ۰/۲۶ متعلق به جمعیت Profit بود. تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۵۹ درصد کل تغییرات ژنتیکی به تنوع درون جمعیت‌ها اختصاص داشت. نتایج این تحقیق نشان داد که می‌توان از جمعیت Profit (چون دارای بیشترین درصد چندشکلی و تنوع شانن و نی و تعداد باند موثره بوده) به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب در اصلاح تربچه‌های ایران استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، شباهت ژنتیکی، IRAP، *Raphanus sativus*

مقدمه

اطلاع از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها و روابط بین ژنوتیپ‌ها، برای انتخاب والدین، جهت انجام تلاقی‌های کارا و اتخاذ روش اصلاحی مناسب، ضروری است که نشانگرهای مولکولی ابزارهای توانمندی برای نیل به این مقصود می‌باشند (۲۷). پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی استفاده از نشانگرهای مولکولی و ابداع و توسعه آنها، به‌نژادگران را به استفاده از این نشانگرها به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و انتخاب والدین متنوع از این گروه‌ها واداشته است. یکی از مهم‌ترین موارد کاربردی این نشانگرها در اصلاح نباتات ارزیابی پتانسیل ذخایر توارثی است که می‌تواند نمونه‌های با ارزش را در اختیار به‌نژادگران قرار دهد (۱). از آنجا که تنوع، ماده‌ی خام اصلاح‌نباتات می‌باشد و تربچه نیز دارای تنوع وسیع ژنتیکی و دامنه سازگاری بالایی می‌باشد، از این رو اتخاذ روش مناسب در جهت اصلاح و معرفی ارقام با کیفیت بالا نیازمند شناخت صحیح از تنوع و ماهیت آن می‌باشد. تربچه[۱] از تیره شب بویان، دو لپه (۱۸)، دیپلوئید (۲n=۲x=۱۸)، جد وحشی آن *Raphanus raphanistrum* L. بوده که در قرن ۱۶ میلادی در انگلستان معرفی و در قرن ۱۷ میلادی در ماساچوست (آمریکا) کشت گردید (۱۵). پنج گونه اصلی آن ترب قرمز (تربچه)، ترب سفید، ترب سیاه (زمستانه)، ترب کوهی و ترب سفید ماموت کالیفرنیا می‌باشند (۱۷). طعم تند تربچه مربوط به ماده‌ای به نام سنوول و رنگ قرمز بنفش آن در اثر وجود ماده‌ای به نام مالوین کلراید می‌باشد (۱۷) گروهی از ترب‌ها به‌منظور استفاده‌های خوراکی و تعدادی دیگر در صنعت دانه‌های روغنی کاربرد دارند و بر این اساس افزایش بهره‌وری گیاه تربچه با شناخت تنوع ژنتیکی از اهمیت بسزایی برخوردار است (۱۸). برگ‌های تربچه منبع خوبی از پروتئین و ریشه آن دارای آهن زیاد بوده و از زمان‌های بسیار قدیم برای درمان بسیاری از بیماری‌ها از جمله پاک کنندگی و نرم‌سازی بدن به خصوص در مخاط‌های بینی، مجاری معده، کیسه‌ی صفرا، کبد، جهت مشکلات ادراری و بواسیر، معالجه روماتیسم، ترشح زیاد شیر مفید بوده است (۵۷،۲۰،۱۵). خواص درمانی تربچه به خاطر حضور برخی مواد مثل متین[۲]، ساپوژنین[۳]، لون[۴]، آنزیم‌ها (فسفاتاز، کاتالاز و ترکیبات هیستامین‌دار)، آمینو اسیدهای مفید (لیزین و متیونین) و ترکیبات پلی‌فنولیک و همین طور مواد ضد میکروبی مثل سولفورافئین و رافانین می‌باشد (۵۷،۱۵). پیشرفت در به‌نژادی تربچه مانند هر گونه گیاهی دیگر، سه پیش نیاز اساسی دارد: نخست ایجاد یا معرفی منابع جدید ژنتیکی؛ دوم، نوترکیبی و تولید ژنوتیپ‌های جدید؛ و سوم، شناسایی و گزینش فنوتیپ‌های مطلوب با غربال هدفمند منابع ژنتیکی برای ژن‌های مفید (تعیین مشخصه‌سازی ژرم‌پلاسم) (۲۲): روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی و کلکسیون‌های ژرم پلاسم در گونه‌های گیاهی وجود دارد که از آن جمله می‌توان استفاده از صفات فنوتیپی و نشانگرهای مولکولی اشاره نمود. نشانگرهای مولکولی شامل ایزوزآیم‌ها، پروتئین‌های ذخیره‌ای و

1- *Raphanus sativus* 2- Methin 3- Sapogenins 4- Levon

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

نشانگرهای مبتنی بر DNA (هسته‌ای، میتوکندری و کلروپلاستی) بوده که ابزار ارزشمندی را برای مطالعات شجره‌نامه، انگشت‌نگاری DNA و همچنین توصیف و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ها فراهم کرده‌اند (۶۶) و نشان داده‌شده است که نشانگرهای مختلف، کلاس‌های متفاوتی از تنوع را نشان می‌دهند (۲۳). تفاوت‌هایی کـه در سـطح DNA تظـاهر مـی‌یابنـد، بـه نشانگرهای DNA معروف‌اند کـه در طبقه‌بندی موجـودات، تعیین تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی و غیره کاربردهای بسیار وسیعی پیدا کرده‌اند (۲۶). در بین نشانگرهای DNA، عناصر جابجا شونده[1] فراوان‌ترین و گسترده‌ترین در ژنوم یوکاریوت‌ها هستند که بر خلاف ترانسپورون‌ها از طریق تولید cDNAی جدید، کپی‌های خود را در نواحی جدید ژنومی درج می‌کنند و کپی‌های قبلی در جای خود پایدار باقی می‌مانند. عناصر جابجا شونده دارای یک ناحیه حفاظت‌شده داخلی هستند که فراورده‌های لازم برای انتقال آنها را فراهم می‌سازد. ناحیه داخلی ممکن است بوسیله توالی‌های طولانی تکراری (LTRها) احاطه و بر این اساس به دو گروه دارای LTR و فاقد LTR (شامل LINEها و SINEها) که نوع LTR دار بسیار فراوان‌تر از بدون LTR هستند تقسیم می‌شوند (۱۶،۳۱). عناصر جابجا شونده تقریبا در تمام نواحی کروموزومی پراکنده، دارای توزیع وسیع و تصادفی در کروموزوم‌های گیاهی و دارای چندشکلی پایدار و بسیار زیاد در بین و داخل گونه‌های گیاهی بوده که استفاده از آن‌ها را بسیار ایده‌آل می‌سازد (۵۵).

ژنوم گیاهی در مقایسه با سایر ژنوم‌های یوکاریوتی شامل دامنه‌ی متفاوت و وسیعی از عناصر جابجا شونده‌ی مختلف هستند در گیاهانی با ژنوم‌های بزرگ مانند گندم، عناصر جابجا شونده ۶۰-۴۰ درصد از کل ژنوم را شامل می‌شوند. عناصر جابجا شونده دارای نواحی محفوظ، مشخص و طولانی بوده که می‌توانند برای همسانه‌سازی نشانگرهای ویژه و توالی‌های مجاور آن‌ها و طراحی آغازگر استفاده شوند (۴۰). نقطه ضعیف عمده‌ی آغازگرهای مبتنی بر عناصر جابجا شونده این است که برای طراحی آغازگر نیاز به توالی عناصر جابجا شونده است (۴۱). نشانگرهای مختلفی بر اساس مناطق عناصر جابجا شونده توسعه یافته‌اند که در این بین نشانگر چندشکلی عناصر جابجا شونده[2] مبتنی بر PCR بوده و به طور موفقیت آمیزی در تهیه نقشه ژنوم و مطالعه‌ی ثبات ژنومی گونه‌های آلوپلی‌پلوییدی استفاده شده است (۴۵). روش IRAP در نقشه برداری ژنی در گندم (۴)، خربزه (۳)، جو (۳۵)، در مطالعات تکاملی ژنوم جو (۶۳) و در انواع برنامه‌های کاربردی شامل اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت، اصلاح کروماتین و برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیک، روابط همسانی و کلادیستی (شاخه‌بندی)[3] تعیین اشتقاق اساسی[4]، انتخاب براساس نشانگر، در گیاه جو (۸)، یونجه (۲)، مرکبات (۱۱)، سیب (۷)، برنج (۱۴)، کتان (۵۸)، آفتابگردان (۶۴) و گیاهان دارویی مانند چشم قرقاول[5]، گل صدتومانی[6] و اسفرزه (۱۲) استفاده شده است. با توجه به اینکه تاکنون تحقیقات زیادی در رابطه با تنوع ژنتیکی تربچه گزارش نشده و از طرفی نیز هر نشانگر تنها قسمتی از سطح ژنوم را پوشش می‌دهد، لذا جهت دستیابی به اطلاعات دقیق و مشخص در مورد روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های تربچه، باید از نشانگرهای مختلف جهت پوشش مناسب سطح ژنوم استفاده گردد، در نتیجه با توجه به اهمیت مطالعه ژرم‌پلاسم تربچه به سبب سازگاری به شرایط مختلف محیطی و دارا بودن ژن‌های مفید، در این تحقیق با استفاده از نشانگر IRAP پیمایش تازه‌ای از ژنوم این گیاه مورد بررسی قرار گرفت ضمن اینکه توسعه این نشانگرها در تحقیقات بعدی روی تربچه همچون مکان‌یابی و تجزیه ارتباطی می‌تواند با استفاده از نتایج این تحقیق تسهیل و تسریع گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ۷ رقم و جمعیت تجاری گیاه تربچه (پنج رقم استاندارد(آزاد گرده افشان)[7] و دو جمعیت بومی) (جدول ۱) تهیه و با استفاده از نشانگر IRAP در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

استخراج و تکثیر DNA

استخراج DNAی ژنومی بر مبنای روش SDS (۱۹) به‌صورت تک بوته و از هر جمعیت سه بوته انجام شد. با توجه به اینکه تا کنون هیچ نوع گزارشی در مورد استفاده از IRAP در تربچه و حتی هم خانواده تربچه یافت نشد لذا در این تحقیق سعی شد از آغازگرهایی که بهترین نتیجه و بیشترین گزارش در مورد آن‌ها در مقالات معتبر ذکر شده بود (۳۱،۶۱، ۴،۳،۶،۴۲،۲،۱۱،۶۲) به صورت تکی و ترکیبی برای این تحقیق انتخاب شوند (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر اساس دستورالعمل کالندر و همکاران (۳۰) با اندکی تغییر به به‌قرار زیر انجام شد: یک میکرولیتر آغازگر (با غلظت نهایی ۰/۲۵ میکرومولار)؛ ۷ میکرو لیتر مخلوط آماده $MgCl_2$، dNTP، آنزیم و 10X، ۲ میکرو لیتر DNA (با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرو لیتر) و در نهایت حجم نهایی را با آب دو بار تقطیر به ۱۵ میکرو لیتر می‌رسانیم. سیکل حرارتی بدین‌صورت که پنج دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل (تک‌رشته‌ای شدن DNA در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه، اتصال آغازگر به DNA تک‌رشته‌ای در دمای مختص هر اغازگر(۶۸/۶ - ۴۹)؛ یک دقیقه و بسط آغازگر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد؛ دو دقیقه) و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. جهت الکتروفورز از ژل آگاروز ۱/۵ درصد و سپس جهت رنگ‌آمیزی ژل از ژل رد[8] و دستگاه ترانیسلومیناتور[9] جهت نمایان شدن باندها استفاده شد.

1-Retrotransposon 2- IRAP 3- Hhomogeneity and cladistic relationships 4-determining basic derivation
5- *Adonisvernalis* 6- Paeonia 7- OP=Open Pollinated 8- Gel Red 9- Transilluminator

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مورد استفاده در تحقیق

Table 1. Characteristic of population were used in this research

کد Code	نام علمی نمونه Sample Latin Nmae	Name	Origin	Seed quality
A	*Raphanus sativus*	Vikima	دانمارک Denmark	آزاد گرده افشان OP
B	*Raphanus sativus*	Royal	آمریکا USA	آزاد گرده افشان OP
C	*Raphanus sativus*	Pop vriend seed	هلند Holland	آزاد گرده افشان OP
D	*Raphanus sativus*	Profit	ایتالیا Italy	آزاد گرده افشان OP
E	*Raphanus sativus*	درچه اصفهان	درچه اصفهان Dorche-Isfahan	بومی Native
F	*Raphanus sativus*	French breakfast	هلند Holland	آزاد گرده افشان OP
G	*Raphanus sativus*	اصفهان	اصفهان Isfahan	بومی Native

جدول ۲- نام، توالی آغازگرهای IRAP مورد استفاده

Table 2. Name, Motif of IRAP Primer

نام آغازگر Primer name	توالی Sequence (5' ➔ 3')	دمای اتصال Tm (°C)	منبع
LTR1	CGCATCCATCTAGCACGAGG	50	(62)
LTR2	CGTCGTCTGCCAGAGTCAAACA	50	(62)
LTR3	GTCACGGTCTCAAAGATATCA	50	(11)
LTR15	GTAAATCTGATTTCCTTTGACA	50	(65)
LTR20	ATTGTTTTCAGTAGTAGCTCTATCA	51	(65)
LTR23	CCGACCTTCATTCTGGCATA	49	(65)
Nikita	CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC	56	(61)
Sukkula	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	64.3	(61)
rtdk14-r1	CATTGGGTCCATCAGTTTCC	58.4	(65)
3-LTR1F	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCCAACA	68.6	(61)

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این تحقیق امتیازبندی الگوهای باندی به‌صورت یک (وجود) و صفر (عدم وجود) برای هر باند انجام شد. صفاتی همچون تعداد باندهای تکثیر شده[1]، تعداد باندهای چند شکل[2]، تعداد باند مؤثر[3]، درصد چندشکلی[4]، شاخص چندشکلی[5]، شاخص شانن[6]، شاخص نی[7] و ارتباط بین تعداد باند تکثیر شده توسط هر آغازگر IRAP با شاخص چندشکلی اندازه‌گیری شد. شاخص چندشکلی که میزان آن بین صفر تا یک است (۵) با استفاده از فرمول

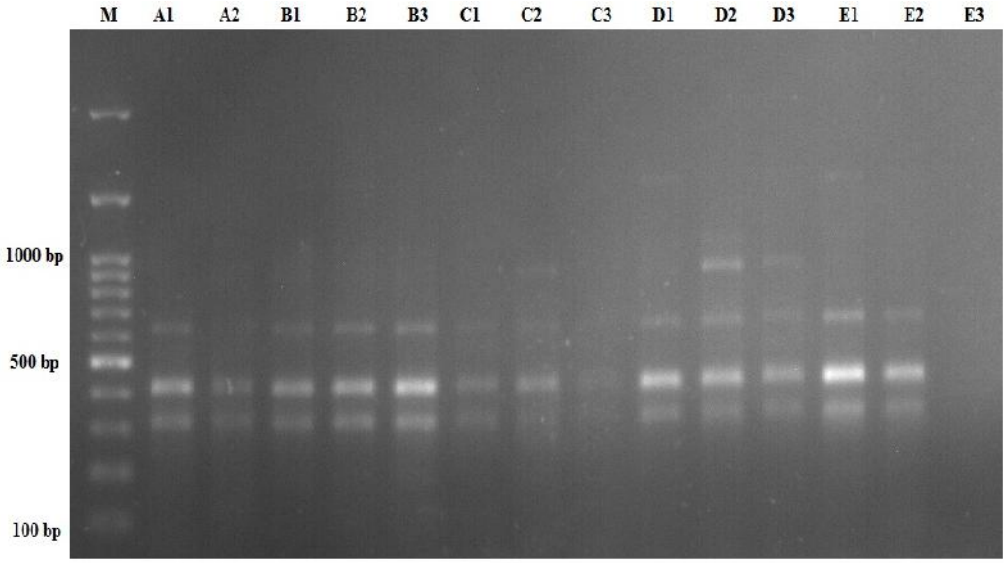
$$DI = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_j^2$$

(Pj فراوانی باند jام در تمام جمعیت‌های مورد ارزیابی) محاسبه شد (۱۳). ضمناً شاخص نشانگری[8] (۳۳)، شاخص تنوع شانن (۳۴)، شاخص تنوع نی (۴۳) و تعداد باند مؤثر با استفاده از نرم‌افزار POPGENE 1.32، تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار GeneAlex 6.5، تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش UPGMA، ماتریس تشابه بر اساس روش نی و لی (۴۴) و جاکارد (۲۸)، با نرم‌افزار NTSYS-pc v.2.1 (۵۴) صورت گرفت. همبستگی بین ماتریس تشابه نی و لی و جاکارد با استفاده از آزمون مانتل و همچنین تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز انجام شد. شاخص مارکری نشان‌دهنده‌ی کارایی نشانگر است و با استفاده از فرمول MI=EMR * DI(or PIC) که در آن EMR نسبت چندگانه مؤثر بوده و بیانگر تعداد جایگاه‌های ژنی چند شکل موجود در یک ژنوم است به دست آمد. EMR با استفاده از فرمول $EMR= N_a * \beta$ که در آن Na تعداد مکان‌های چند شکل و ß نیز نسبت مکان‌های چند شکل به تعداد کل مکان‌ها است محاسبه شد (۳۳).

چندشکلی و شاخص‌های کمّی

از ۳۲ آغازگر تکی و ترکیبی مورد استفاده در این تحقیق، ۱۶ آغازگر تکثیر و چند شکل بودند (شکل ۱). در مجموع ۱۱۱ باند شناسائی شد که آغازگر ترکیبی LTR2 & LTR15 با ۱ باند کمترین تعداد و آغازگر LTR23 با ۱۶ باند بیشترین تعداد را در میان باندهای تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. میانگین تعداد باند در کل جایگاه‌ها برابر ۶/۹۳ بود (جدول ۳). برای بررسی قدرت تفکیک آغازگرها در نمایش چندشکلی در یک جمعیت، شاخص چندشکلی (DI) و شاخص نشانگری (MI) هر آغازگر محاسبه شد. بیشترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۴۱ مربوط به آغازگر Sukkula و کمترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۱۸ مربوط به آغازگر LTR2-LTR15 و با میانگین کل ۰/۲۸ مشاهده گردید (جدول ۳). بیشترین میزان شاخص نشانگری با میزان ۴/۱ مربوط به آغازگر LTR3 و کمترین میزان شاخص نشانگری با میزان ۰/۱۸ مربوط به آغازگر LTR15-LTR2 و میانگین ۱/۹ مشاهده گردید (جدول ۳). برای تجزیه‌وتحلیل تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت، شاخص تنوع ژنی نی (h)، شاخص اطلاعات شانن (I) و تعداد باندهای مؤثر (Ne) آغازگرها و همچنین جمعیت‌های تربچه مورد مطالعه محاسبه شد (جدول ۳). در بین آغازگرها بیشترین میزان تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۸۲، ۰/۶۴ و ۰/۴۵ متعلق به آغازگر Sukkula و کمترین میزان تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع شانن و شاخص تنوع نی به ترتیب ۱/۱۸، ۰/۲۷ و ۰/۱۵ متعلق به آغازگر rtdk بود (جدول ۳). در بین جمعیت‌های تربچه بیشترین درصد مکان چندشکل، تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع نی و شاخص تنوع شانن به ترتیب ۴۶/۸۵، ۱/۳۰۵، ۰/۱۷ و ۰/۲۶ متعلق به جمعیت Profit و کمترین درصد مکان چندشکل، تعداد باند مؤثره، شاخص تنوع نی و شاخص تنوع شانن به ترتیب ۱۹/۸۲، ۱/۱۱، ۰/۰۷ و ۰/۱۰۶ متعلق به جمعیت اصفهان بود (جدول ۴).

1-AB=Amplified Bands 2- PB= Polymorphic Bands 3- Ne=Effective number of alleles 4- PP= Percent of Polymorphic
5- DI= Diversity Index 6- I= Shannon's Information index 7- h= Nei's gene diversity 8-MI=Marker Index



شکل ۱- الگوی نواری تکثیرشده در نشانگر IRAP با استفاده از آغازگر LTR1

Figure 1. The band pattern reproduced in the IRAP marker using the LTR1 primer

جدول ۳- تعداد باند تکثیرشده (AB)، تعداد باند چندشکلی (PB)، درصد چندشکلی (PP)، شاخص چندشکلی (DI)، شاخص نشانگری (MI)، تعداد باند مؤثر (Ne)، شاخص شانن (I) و شاخص نی (h) تکثیر شده توسط آغازگرهای IRAP

Table 3. Amplified bands (AB), Polymorphic bands (PB), percent of polymorph (PP), Diversity Index (DI), Marker Index (MI), effective band number (Ne), Nei diversity index (H) and shanoon diversity index (I) were produced by IRAP primers

I	H	Ne	MI	DI	PP	PB	AB	Primer Name
0.535	0.35	1.54	1.215	0.405	60	3	5	3primLTR21
0.437	0.287	1.469	0.735	0.245	75	3	4	LTR1 & LTR2
0.479	0.314	1.535	1.5	0.3	83.33	5	6	LTR1 & LTR3
0.308	0.176	1.227	0.594	0.198	100	3	3	LTR1 & LTR15
0.461	0.286	1.401	0.72	0.18	100	4	4	LTR1
0.336	0.198	1.285	3.528	0.252	93.33	14	15	LTR2 & LTR3
0.382	0.223	1.286	0.18	0.18	100	1	1	LTR2 & LTR15
0.359	0.217	1.313	2.73	0.21	86.67	13	15	LTR2
0.377	0.237	1.38	1.212	0.303	80	4	5	LTR3 & LTR15
0.436	0.276	1.436	4.121	0.317	86.67	13	15	LTR3
0.322	0.195	1.312	1.024	0.256	80	4	5	LTR15
0.459	0.294	1.464	2.625	0.375	87.5	7	8	LTR20
0.305	0.179	1.259	3.984	0.249	94.12	3	17	LTR23
0.491	0.315	1.479	2.298	0.383	85.71	3	7	Nikkita
0.276	0.15	1.184	2.88	0.24	80	5	15	rtdk
0.641	0.45	1.827	1.239	0.413	60	3	5	Sukkula

جدول ۴- نعداد باندهای چندشکل(PB)، درصد چند شکلی (PP)، تعداد باند موثر (Ne)، شاخص تنوع شانن (I) و نی (H) بدست آمده از نشانگر IRAP در جمعیت‌های تربچه

Table 4. Polymorphic bands (PB), percent of polymorph (PP), (effective band number) Ne, I (shanoon diversity index), H (Nei diversity index) and MI were produced by IRAP marker in all population of Radish

I	H	He	Ne	PP	PB	Population Name
0.153	0.1045	0.104	1.178	25.23	28	Vikima
0.212	0.1385	0.138	1.221	40.54	45	Royal
0.144	0.0939	0.094	1.148	27.93	31	Pop vriend seed
0.264	0.1777	0.178	1.305	46.85	52	Profit
0.193	0.129	0.129	1.217	35.14	39	Idfahan-dorche
0.142	0.1262	0.097	1.170	24.32	27	French breakfast
0.106	0.0788	0.070	1.113	19.82	22	Isfahan

فاصله ژنتیکی

به‌منظور شناسایی و درک بهتر شباهت‌ها و تفاوت‌ها در میان جمعیت‌های موردبررسی، ماتریس تشابه در بین ۷ ژنوتیپ تربچه مورداستفاده با توجه به کل ۱۱۱ باند تولیدشده در نشانگر IRAP، بر اساس روش نی (۴۳) محاسبه گردید. بیشترین میزان فاصله ژنتیکی (۰/۴۵۹) مربوط به جمعیت‌های تربچه Profit و French breakfast و کمترین میزان فاصله (۰/۱۱) مربوط به ژنوتیپ‌های درچه اصفهان و Profit با میانگین ۰/۲۴۹ مشاهده گردید.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی که در آن تغییرات مشاهده شده درون و بین اجزا جمعیت با استفاده از فاصله‌های ژنتیکی دسته‌بندی می‌شود محاسبه و بر اساس

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

نتایج این تحقیق ۵۹ درصد تغییرات ژنتیکی یافت شده درون جمعیت‌ها و ۴۱ درصد در بین جمعیت‌ها بود (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های تربچه با استفاده از نشانگر IRAP

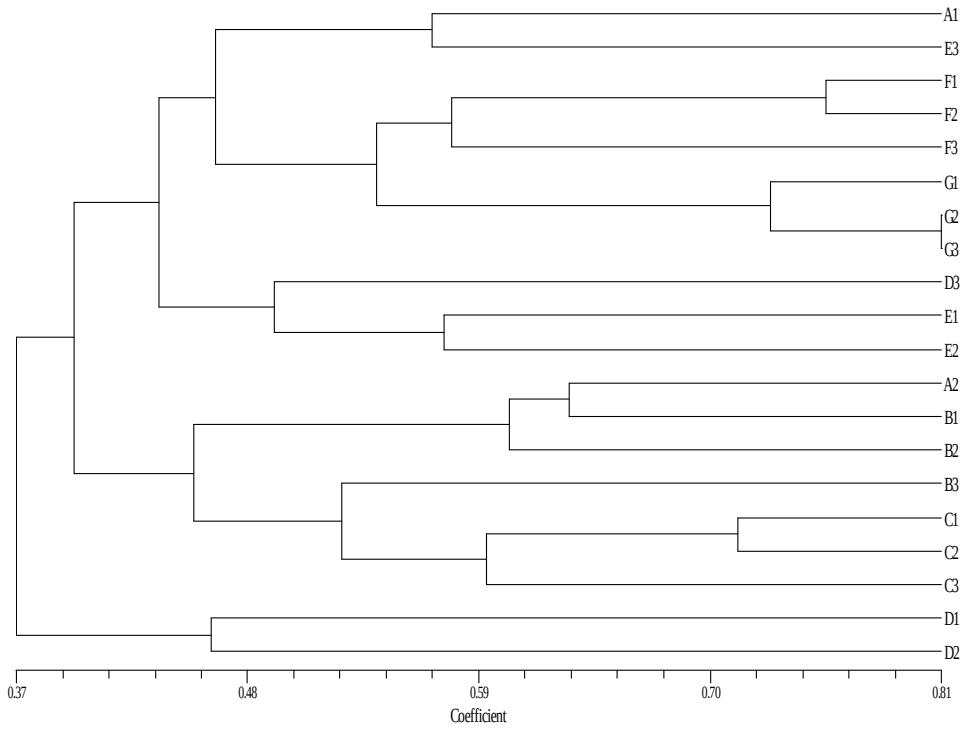
Table 5. Analysis of the variance of radish populations using the IRAP marker

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس
بین جمعیت‌ها	6	218.500	36.417	41
درون جمعیت‌ها	13	158.000	12.154	59
کل	19	376.500		100

**: تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد (P<0.01)

تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه نـی و لـی و جاکارد

تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف تربچه بر اساس نشانگر IRAP، با استفاده از روش شباهت ژنتیکی نی و لی و جاکارد و بر اساس روش UPGMA، با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc (۵۴) انجام شد که در هر دو روش نتایج یکسان بود. به جز جمعیت‌های Vikima، Profit و درچه اصفهان بقیه هر کدام در گروهی جداگانه قرار گرفتند (شکل ۲؛ شکل ۳). در هر دو روش جمعیت بومی اصفهان کم تنوع تر و جمعیت Profit متنوع‌ترین بوده‌اند که مطابق نتایج جدول ۴ می‌باشد. ضمنا تجزیه خوشه‌ای کلی جمعیت‌ها بر اساس ماتریس تشابه نی (۴۳) و روش NJ با نرم‌افزار Mega 6.06 انجام شد و مشخص گردید (شکل ۴) که جمعیت‌ها بر اساس موقعیت جغرافیایی کشور تولیدکننده تفکیک نشدند که می‌تواند به دلیل تبادل ژنوم در این کشورها جهت تولید بذر استاندارد باشد اما آنچه که مشهود بود قرار گرفتن جمعیت‌های تربچه بومی استان اصفهان در خوشه‌های نزدیک به هم که نشان دهنده خصوصیات ژنتیکی و خویشاوندی این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. ضمنا جمعیت تربچه درچه اصفهان از لحاظ تنوع نسبت به بقیه جمعیت‌ها در سطح خوبی بود (جدول ۴).



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های تربچه بر اساس نشانگر IRAP، ماتریس تشابه نی و لی و روش UPGMA

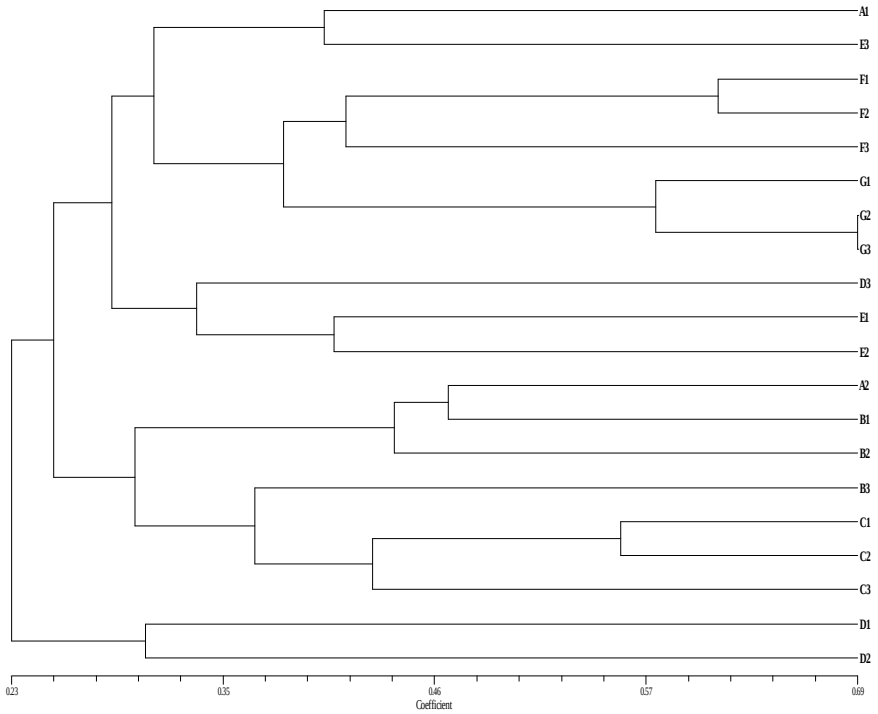
Figure 2. Cluster analysis of all population were conducted by IRAP marker, Nei and Li similarity Matrix and UPGMA methods

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

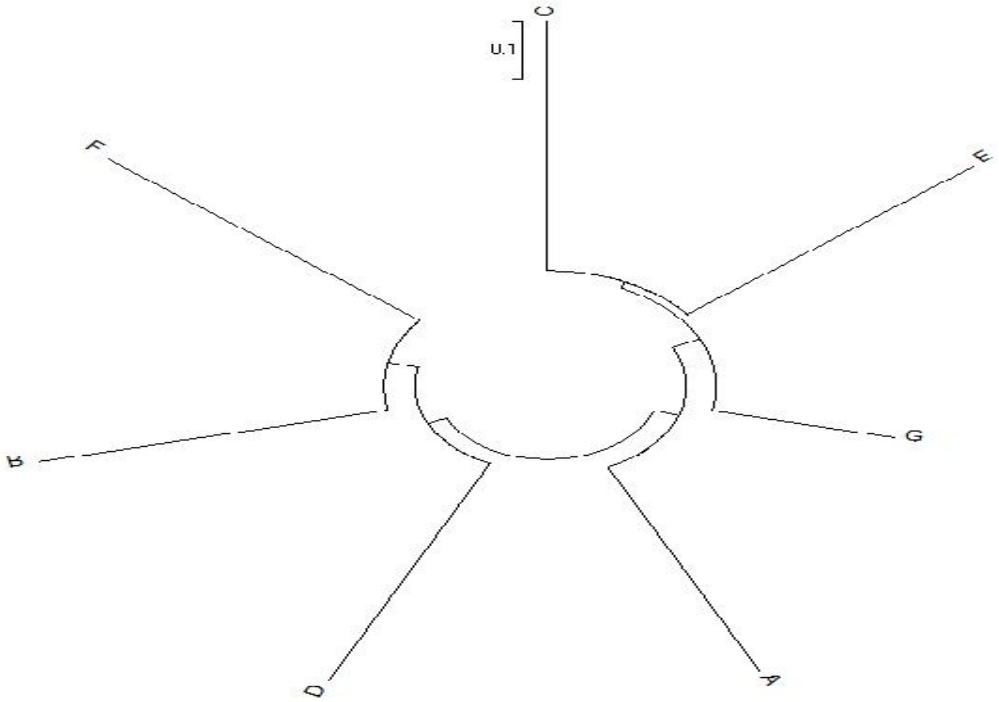
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های تربچه بر اساس نشانگر IRAP، ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA

Figure 3. Cluster analysis of all population were conducted by IRAP marker, Jaccard Similarity Matrix and UPGMA methods



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های تربچه بر اساس نشانگر IRAP، ماتریس تشابه جاکارد و روش NJ

Figure 4. Cluster analysis of all population were conducted by IRAP marker, Jaccard Similarity Matrix and NJ Methods

آزمون مانتل

بر اساس آزمون مانتل بهترین ضریب الگوریتم جهت تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف تربچه ضریب تشابه نی و لی (r=۰/۹۶) و سپس جاکارد (r=۰/۹۳) و بهترین الگوریتم، الگوریتم UPGMA بودند که بر همین اساس نیز تجزیه خوشه‌ای طبق هر دو روش انجام شد. ضمنا همبستگی بین ماتریس‌های حاصل از تجزیه و تحلیل‌های داده‌ها بر اساس ماتریس تشابه نی و لی و جاکارد محاسبه و مشخص شد که همبستگی بسیار بالایی بین ماتریس‌های تشابه حاصل از روش نی و لی و جاکارد وجود دارد (r =۰/۹۹۲) که نشان می‌دهد دو ماتریس نتایج یکسانی را ارائه داده‌اند.

چندشکلی و شاخص‌های کمی

در گزارشی عبدالهی مندولکانی و همکاران (۲) جهت ارزیابی یونجه از ۱۰ آغازگر تکی و ترکیبی IRAP استفاده کردند که فقط ۸ آغازگر چندشکلی مناسب نشان داده شد و در مجموع ۱۰۱ باند تکثیر شدند که فقط ۶۶ باند (۶۵ درصد) چندشکل بودند و تعداد باند را از ۵ تا ۱۲ با میانگین ۶/۶ گزارش دادند. اسدخانی ممغانی (۸) جهت ارزیابی ۱۱ جمعیت جو از ۹ آغازگر IRAP استفاده کرد که در مجموع ۲۴۴ باند چندشکل، تعداد باند چند شکل را از ۱۰ تا ۵۷ با میانگین ۲۷/۱۱ بدست آوردند ضمنا از ۱۰۰ درصد کل واریانس مولکولی (تنوع مشاهده شده ناشی از تنوع بین و درون جمعیت‌ها)، ۵۸ درصد متعلق به تغییرات درون جمعیت‌های جو گزارش دادند. یوئین و همکاران (۶۵) جهت ارزیابی زردآلو با استفاده از نشانگر REMAP، تعداد باند را از ۱۷ تا ۴۶ با میانگین ۲۴/۴، تعداد باند موثر ۱/۳۴ تا ۱/۸۲ با میانگین ۱/۴۸، شاخص تنوع نی را از ۰/۲۳۹ تا ۰/۴۴۵ با میانگین ۰/۳۹۱، شاخص شانن را از ۰/۳۸۹ تا ۰/۶۳۶ با میانگین ۰/۵۷۲، نسری و همکاران (۴۲) جهت ارزیابی گندم با استفاده از نشانگر REMAP، تعداد باند را از ۵ تا ۱۵ با میانگین ۱۲، تعداد باند موثر ۱/۳۲ تا ۱/۸۰ با میانگین ۱/۶، شاخص شانن را از ۰/۲۶ تا ۰/۶۲ با میانگین ۰/۵۱، در گندم؛ گوا و همکاران (۲۵) شاخص نشانگری را در *Hemarthria compressa* از ۷/۳۲–۱/۷۸ با میانگین ۴/۰۴، میردریکوند و همکاران (۳۶)، شاخص چندشکلی را گندم دوروم و نان از ۰/۷۷–۰/۱۳، اصغری میرک (۹) شاخص چندشکلی را در گندم از ۰/۸۹– ۰/۵، جمالی راد و همکاران (۲۹) شاخص چندشکلی را در گندم از ۰/۹۰۲–۰/۵۶۳ و میانگین ۰/۶۸۸، دریکوند و همکاران (۲۱) چندشکلی را در گندم از ۰/۸۰–۰/۱۲ و میانگین ۰/۵۹ به دست آوردند. جهت ارزیابی برنج با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد باند را از ۳ تا ۱۳ با میانگین ۷/۸۵، شاخص چندشکلی (DI) را از ۰/۵۷ تا ۰/۹ با میانگین ۰/۷۷ و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) را زا ۰/۴۹ تا ۰/۸۹ با میانگین ۰/۷۶۴ به دست آوردند. ساینی و همکاران (۵۶) در ارزیابی mungbean با استفاده از RAPD شاخص نشانگری (MI) را از ۰/۲۸ تا ۷/۲۵ و شاخص چندشکلی (DI) را ۰/۰۹ تا ۰/۴۳۷ گزارش دادند. گاوتام مورتی و همکاران (۲۴) جهت ارزیابی *Jatropha curcas* L. با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد باند را از ۷ تا ۱۷ با میانگین ۱۲/۰۹، درصد چندشکلی از ۷۲/۷۲ درصد تا ۱۰۰ درصد، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) از ۰/۷۵۵ تا ۰/۹۲ با میانگین ۰/۸۶ و میانگین شاخص نشانگری را ۱۹/۰۷ به دست آوردند. پتروویکووا و همکاران (۴۸) جهت ارزیابی چاودار با استفاده از نشانگر RAPD، تعداد باند را از ۷ تا ۱۲ با میانگین ۸/۶، شاخص چندشکلی (DI) از ۰/۸۴۲ تا ۰/۹۰۷ با میانگین ۰/۸۶۷ و محتوای چندشکلی (PIC) از ۰/۸۳۸ تا ۰/۹۰۵ با میانگین ۰/۸۶۳ به دست آوردند. عبدالهی مندولکانی و همکاران (۴) جهت ارزیابی گندم وحشی امر با استفاده از IRAPهای جداسازی شده از نشانگرهای SCAR پیوسته به ژن‌های مقاومت به زنگ زرد به این نتیجه رسیدند که نشانگر IRAP دارای قابلیت بسیار بالایی در شناسایی دقیق موقعیت ژن‌ها و نشانگرهای پیوسته به ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها می‌باشد. بر اساس آنچه که ارایه شد شاخص چندشکلی نمی‌تواند عدد ثابتی داشته باشد و بستگی به عواملی مثل تعداد باند تولیدی توسط هر جایگاه، تعداد ژنوتیپ و حتی تعداد آغازگر دارد (۴۹). به‌طوری‌که رو در و همکاران (۵۲) میانگین محتوای چندشکلی را در تحقیقی با ۱۸ ژنوتیپ و ۱۵ آغازگر در گندم را ۰/۶۳ و همین میزان را زمانی که تعداد ژنوتیپ‌ها ۶ عدد بود ۰/۵۴ به دست آوردند.

ضریب تشابه

بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ارتباط مؤثری در رابطه با موقعیت جغرافیایی در بین جمعیت‌ها مشاهده نشد اما به جز جمعیت‌های Vikima، Profit و درچه اصفهان، بقیه جمعیت‌ها در گروه‌های مجزا و کنار هم قرار گرفته‌اند. لازم به ذکر است جمعیت‌های بومی ایران در تجزیه خوشه‌ای در یک گروه قرار نگرفتند که نشان‌دهنده تنوع بین آنها بوده اما نزدیک به هم قرار گرفتند و نشان‌دهنده خصوصیات ترانسپوزونی نزدیک بین آنها است. از طرفی نتایج مبنی بر عدم تطبیق منشأ جغرافیایی با تنوع ژنتیکی در پژوهش عبدالهی‌مندولکانی و برسونی (۳) در ارزیابی خربزه با استفاده از REMAP، بهاری و همکاران (۱۰)، در ارزیابی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر RPAD، سورش و همکاران (۶۰)، در ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر RAPD، سلوکی و همکاران (۵۹) در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر AFLP مشاهده شده که با تحقیق حاضر مشابهت داشتند. چندین عامل اکولوژیکی سبب انباشته شدن تفاوت ژنتیکی بین دو جمعیت می‌شود. مکان‌های جغرافیایی مختلف از نظر برخی ویژگی‌های اکولوژیکی از جمله عرض و طول جغرافیایی، دما و رطوبت متفاوت‌اند. این عوامل فاکتورهای اکو جغرافیایی خوانده می‌شوند و سبب گوناگونی ژنتیک در بین دو جمعیت می‌شوند. با توجّه به نتایج، استفاده از جمعیت‌های مناطق جغرافیایی بیشتر برای تأیید الگوی موجود لازم است (۳،۴۷). در گونه‌های دگرگشن به علت ایجاد ترکیبات ژنی جدید، جریان ژنی بالا و فشار شرایط محیطی حاکم بر منطقه، منجر به تثبیت یک سری ژن‌های خاص شده لذا فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها زیاد بوده و در عوض تنوع بین جمعیت نسبتاً کم است (۵۱) اما در گونه‌های خودگشن به دلیل وجود باندهای متفاوت درون هر جمعیت، تغییرات بیشتری درون

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

جمعیت‌ها وجود دارد (۵۰) و در کل هم در گیاهان خودگشن و هم دگرگشن در اکثر حالات تنوع درون جمعیت بیشتر از تنوع بین جمعیت بوده ولی این میزان تنوع در گیاهان خودگشن بیشتر از دگرگشن است.

در تحقیق حاضر نتایج تجزیه واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ۵۹ و بیشتر از تنوع بین جمعیت‌ها ۴۱ درصد بود. وجود تنوع بالا درون جمعیت در گیاهان دیگر با استفاده از نشانگر RAPD (شباهت بیشتر گونه *M. piperita* را با گونه *M. aquatic*) (۳۹) و نشانگر ISSR؛ شوید (۱۰)، لاله واژگون (۳۸)، مازودار و وی‌ول (۶)، نعناع (۵۳) و مرزه (۳۲) گزارش شده است از عوامل مؤثر در توجیه تنوع بیشتر درون ارقام و جمعیت‌ها مواردی از جمله خودگشن بودن گیاه، یک‌ساله بودن، ازدیاد با بذر، تعداد مکان‌های باندی موردبررسی، موقعیت باندی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه جمعیت را می‌توان ذکر نمود (۴۷) بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی، تلاقی خویشاوندی، مهاجرت و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (۳۷). قرار گرفتن نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق جغرافیایی مختلف در خوشه‌های یکسان می‌تواند نشانه‌ای از تشابه ژنتیکی و یا تبادل فیزیکی بذر بین مناطق مختلف باشد که تفسیر آن بر اساس تبادلات فیزیکی نسبت به تشابهات ژنتیک توجیه‌پذیری بیشتری دارد (۱۰). با توجه به اینکه فاصله ژنتیکی بیشتر در هنگام تلاقی جمعیت‌ها یا لاین‌ها، سبب افزایش مکان‌های ژنی هتروزیگوت و بالا بردن احتمال اثر هتروزیس می‌شود (۴۶)؛ و از طرفی فاصله ژنتیکی ممکن است با صفات مطلوب مرتبط باشد درنتیجه می‌توان پس از بررسی‌های بیشتر، از آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی استفاده کرد (۱۰). لذا بر این اساس چون کمترین میزان تشابه مربوط به جمعیت‌های تربچه French breakfast و Profit بوده و یشترین تنوع درون جمعیتی مربوط به جمعیت Profit بود در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی تربچه بهتر است جمعیت Profit به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب کرد.

منابع

1. Aalami, A. and N. Karami. 2017. The Study of Genetic Diversity in Iranian Rice Cultivars using ISSR, IRAP and REMAP Markers. Journal of Crop Breeding, 8(20): 51-41.
2. Abdollahi Mandoulakani, B., Y. Piri, R. Darvishzadeh, I. Bernoosi and M. Jafari. 2011. Retroelement Insertional Polymorphism and Genetic Diversity in *Medicago sativa* Populations Revealed by IRAP and REMAP Markers. Plant molecular biology reporter, 30(2): 286-296.
3. Abdollahi Mandoulakani, B. and I. Bernousi. 2015. Genetic diversity in iranian melon populations and hybrids assessed by IRAP and REMAP markers. Journal of Agricultural Science and Technology, 17(5): 1267-1277.
4. Abdollahi Mandoulakani, B., E. Yaniv, R. Kalendar, D. Raats, H.S. Bariana, M.R. Bihamta and A.H. Schulman. 2015. Development of IRAP- and REMAP-derived SCAR markers for marker-assisted selection of the stripe rust resistance gene Yr15 derived from wild emmer wheat. Theor Appl Genet, 128(2): 211-219. 10.1007/s00122-014-2422-8
5. Agrama, H. and M. Tuinstra. 2003. Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. African journal of biotechnology, 2(10): 334-340.
6. Alikhani, L., M.S. Rahmani, N. Shabanian, H. Badakhshan and A. Khadivi-Khub. 2014. Genetic variability and structure of Quercus brantii assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. Gene, 552(1): 176-183.
7. Antonius-Klemola, K., R. Kalendar and A.H. Schulman. 2006. TRIM retrotransposons occur in apple and are polymorphic between varieties but not sports. Theoretical and Applied Genetics, 112(6): 999-1008.
8. Asadkhani Mamaghani, R., S.A. Mohammadi and S. Aharizad. 2015. Transferability of barley retrotransposon primers to analyze geneticstructure in Iranian Hypericum perforatum L. populations. Turkish Journal of Botany, 39664-672. 10.3906/bot-1405-76
9. Asghari-Mirk, A.R., S.Y. SayedMaasoumi and M.R. Bihamta. 2011. Studying of genetic diversity in some wheat cultivar using SSRs marker in dry stress condition, Sixth national congress of new idea in agriculture, Islamic azad University, Khorasgan, , Article COI: AGRIDEA06_124: 1-6 pp.
10. Bahari, Z., A. Shojaeiyan, S. Rashidi Monfared, A. Mirshekari, K. Nasiri and M. Amiriyan. 2015. Investigation of Genetic Diversity among Some Iranian Dill (*Anethum graveolens* L.) Landraces, Using ISSR Markers. Journal of Plant Genetic Research, 2(1): 11-22.
11. Biswas, M.K., Q. Xu and X.x. Deng. 2010. Utility of RAPD, ISSR, IRAP and REMAP markers for the genetic analysis of Citrus spp. Scientia Horticulturae, 124(2): 254-261.
12. Boronnikova, S.V. and R.N. Kalendar. 2010. Using IRAP markers for analysis of genetic variability in populations of resource and rare species of plants. Russian Journal of Genetics, 46(1): 36-42. 10.1134/s1022795410010060
13. Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American journal of human genetics, 32(3): 314-322.
14. Branco, C.J., E.A. Vieira, G. Malone, M.M. Kopp, E. Malone, A. Bernardes, C.C. Mistura, F.I. Carvalho and C.A. Oliveira. 2007. IRAP and REMAP assessments of genetic similarity in rice. J Appl Genet, 48(2): 107-113.
15. Campbell, L.G. 2007. Rapid evolution in a crop-weed complex (*Raphanus* spp.). Thesis of Doctor of Philosophy, The Ohio State University, Document number: osu1166549627, 235 pp.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]

[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

16. D'Onofrio, C., G. De Lorenzis, T. Giordani, L. Natali, A. Cavallini and G. Scalabrelli. 2010. Retrotransposon-based molecular markers for grapevine species and cultivars identification. Tree Genetics & Genomes, 6(3): 451-466.
17. Daei Hasani, B., M. Abedini, A. Hemati and S. Falahati. 2013. Radish and its medicinal properties. he third national conference on medicinal plants and sustainable agriculture, Article COI: MPSA03,_203: 1-10.
18. Dalvand, K. and A. Eftekhari. 2014. Evaluation of Cadmium Uptake by Reddish cv. Sorkhan Plant (*Raphanus sativus* L.) in Cadmium Contaminated Soils. Scientific Journal Management System, 37(1): 67-75.
19. Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation: version II. Plant molecular biology reporter, 1(4): 19-21.
20. Djebali, N., J.K. Scott, M. Jourdan and T. Souissi. 2009. Fungi pathogenic on wild radish (*Raphanus raphanistrum* L.) in northern Tunisia. Phytopathologia mediterranea, 48(2): 205-213.
21. Drikvand, R., M.R. Bihamta, G. Najafian and A. Ebrahimi. 2013. Investigation of genetic diversity among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using SSR markers. Journal of Agricultural Science, 5(1): 122-129.
22. Eivazi, A., M. Naghavi, M. Hajheidari, S. Pirseyedi, M. Ghaffari, S. Mohammadi, I. Majidi, G. Salekdeh and M. Mardi. 2008. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using quality traits, amplified fragment length polymorphisms, simple sequence repeats and proteome analysis. Annals of Applied Biology, 152(1): 81-91.
23. Fazeli-Nasab, B., A.A. Mehrabi and A. Izadi-Darbandi. 2010. Genetic diversity of wheat storage proteins and SSRs markers. Modern Genetics, 5(2): 81-93.
24. Gautam Murty, S., F. Patel, B. Punwar, M. Patel, A. Singh and R. Fougat. 2013. Comparison of RAPD, ISSR and DAMD markers for genetic diversity assessment between accessions of *Jatropha curcas* L. and its related species. Journal of Agricultural Science and Technology, 15(5): 1007-1022.
25. Guo, Z.H., K.X. Fu, X.Q. Zhang, S.Q. Bai, Y. Fan, Y. Peng, L.K. Huang, Y.H. Yan, W. Liu and X. Ma. 2014. Molecular insights into the genetic diversity of Hemarthria compressa germplasm collections native to southwest China. Molecules, 19(12): 21541-21559.
26. Hashemi, H. and A. Safarnejad. 2010. The use of RAPD markers dor assessing the genetic diversity of Bunium persicum (Boiss) B. FEDTSCH populations. International Journal of Science and Nature, 1202-208.
27. Hassani-Tesie, S.F., H. Samizadeh-Lahiji and M. Shoaei-Deilami. 2016. Assessment of Genetic Diversity Among and Within Different Types of Tobacco (*Nicotianatabacum* L.) Using IRAP and REMAPMarkers. Journal of Crop Breeding, 7(16): 1-9.
28. Jaccard, P. 1912. The distribution of the flora in the alpine zone. New phytologist, 11(2): 37-50.
29. Jamalirad, S., S. Mohammadi and M. Toorchi. 2012. Assessing genetic diversity in a set of wheat (*Triticum aestivum*) genotypes using microsatellite markers to improve the yellow rust resistant breeding programs. African Journal of Agricultural Research, 7(48): 6447-6455.
30. Kalendar, R., T. Grob, M. Regina, A. Suoniemi and A. Schulman. 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. Theoretical and Applied Genetics, 98(5): 704-711.
31. Kalendar, R. and A.H. Schulman. 2006. IRAP and REMAP for Retrotransposon Based on Genotyping and Fingerprinting. National Protocols, 1(5): 2478-2484.
32. Kameli, M., S. Hesamzadeh and M. Ebadi. 2013. Assessment of genetic diversity on populations of three satureja species in Iran using ISSR markers. Annals of Biological Research, 4(3): 64-72.
33. Khaled, A., M. Motawea and A. Said. 2015. Identification of ISSR and RAPD markers linked to yield traits in bread wheat under normal and drought conditions. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 13(2): 243-252.
34. Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity, pp. 381-398, Evolutionary biology. Springer, 381-398 pp. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-9063-3,_14.
35. Manninen, O., R. Kalendar, J. Robinson and A.H. Schulman. 2000. Application of BARE-1 retrotransposon markers to the mapping of a major resistance gene for net blotch in barley. Mol Gen Mikrobiol Virusol Genet, 264325-334.
36. Mir-Drikvand, R., A. Khyrolahi, A. Ebrahimi and M. Rezvani. 2015. Study of Genetic Diversity Among Some Rainfed Bread and Durum Wheat Genotypes, Using SSR Markers. Journal of Plant Genetic Research, 2(1): 35-44.
37. Mohammadi, S. and B. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43(4): 1235-1248.
38. Momeni, H., B. Shiran, M. Khodambashi and K. Cheghamirzaei. 2013. Studying of genetic diversity in some population of *Fritillaria imperialis* L. in Iranian Zagros region using ISSR marker and morphological traits. Iranian journal of horticulture, 44(1): 61-72.
39. Momeni, S., B. Shiran and K. Razmjoo. 2006. Genetic variation in Iranian mints on the bases of RAPD analysis. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(10): 1898-1904.
40. Monden, Y., K. Yamaguchi and M. Tahara. 2014. Application of iPBS in high-throughput sequencing for the development of retrotransposon-based molecular markers. Current Plant Biology, 140-44. 10.1016/j.cpb.2014.09.001
41. Monden, Y., T. Hara, Y. Okada, O. Jahana, A. Kobayashi, H. Tabuchi, S. Onaga and M. Tahara. 2015. Construction of a linkage map based on retrotransposon insertion polymorphisms in sweetpotato via high-throughput sequencing. Breeding science, 65(2): 145-153.
42. Nasri, S., B.A. Mandoulakani, R. Darvishzadeh and I. Bernousi. 2013. Retrotransposon insertional polymorphism in Iranian bread wheat cultivars and breeding lines revealed by IRAP and REMAP markers. Biochem Genet, 51(11-12): 927-943.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

43. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences, 70(12): 3321-3323.
44. Nei, M. and W.H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences, 76(10): 5269-5273.
45. Nguyen, T.X., S.I. Lee, R. Rai, N.S. Kim and J.H. Kim. 2016. Ribosomal DNA locus variation and REMAP analysis of the diploid and triploid complexes of Lilium tigrinum Ker-Gawler, Genome. 59(8): 551-564. https://doi.org/10.1139/gen-2016-0011.
46. Olfati, J.A., H. Samizade, G.A. Peyvast, B. Rabiei and S.A. Khodaparast. 2012. Rleationship between genetic distance and heterosis in cucumber. International Journal of plant breeding, 621-26.
47. Pejmanmehr, M., M.A. Hasani, S.M. Fakhr-Tabatabai and J. Hadian. 2009. Genetic diversity and segregating of populations Zyrh English (*Bunium persicum* (Boiss)) using molecular markers RAPD. Journal of Environmental Sciences, 7(2): 63-76.
48. Petrovičová, L., Ž. Balážová, Z. Gálová, M. Wójcik-Jagła and M. Rapacz. 2014. RAPD Analysis of the Genetic Polymorphism in the Collection of Rye Cultivars. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 8(7): 664-668.
49. Prasad, M., R. Varshney, J. Roy, H. Balyan and P. Gupta. 2000. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 100: 584-592.
50. Rao, V.R. and T. Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. Plant cell, tissue and organ culture, 68(1): 1-19.
51. Rauf, S., J. Teixeira da Silva, A.A. Khan and A. Naveed. 2010. Consequences of plant breeding on genetic diversity. International Journal of plant breeding, 4(1): 1-21.
52. Roder, M.S., J. Plaschke, S.U. König, A. Börner, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley and M.W. Ganal. 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. Molecular and General Genetics MGG, 246(3): 327-333.
53. Rodrigues, V.F., R.R. Oliveira and M.R. Vega. 2014. A new isocoumarin from *Cajanus cajan* (*Fabaceae*). Nat Prod Commun, 9(4): 493-494.
54. Rolf, F.J. 2002. NTSYS-Pc: Reference Manual. Exeter publishing Ltd. New York, NII Article ID (NAID): 10016098383.
55. Sabot, F. and A.H. Schulman. 2007. Template switching can create complex LTR retrotransposon insertions in Triticeae genomes. BMC Genomics, 8(1): 247.
56. Saini, M., S. Singh, Z. Hussain and A. Yadav. 2010. RAPD analysis in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]: I. Assessment of genetic diversity, Indian Journal of Biotechnology, 9(2): 137-146.
57. Singh, P. and J. Singh. 2013. Medicinal and therapeutic utilities of Raphanus sativus. Int J Plant Anim Environ Sci, 3103-105.
58. Smýkal, P., N. Bačová-Kerteszová, R. Kalendar, J. Corander, A.H. Schulman and M. Pavelek. 2011. Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. Theoretical and Applied Genetics, 122(7): 1385-1397.
59. Solouki, M., S. Hoseini, B. Siahsar and A. Tavassoli. 2012. Genetic diversity in dill (*Anethum graveolens* L.) populations on the basis of morphological traits and molecular markers. African journal of biotechnology, 11(15): 3649.
60. Suresh, S., J.W. Chung, J.S. Sung, G.T. Cho, J.H. Park, M.S. Yoon, C.K. Kim and H.J. Baek. 2013. Analysis of genetic diversity and population structure of 135 dill (*Anethum graveolens* L.) accessions using RAPD markers. Genetic resources and crop evolution, 60(3): 893-903.
61. Teo, C.H., S.H. Tan, C.L. Ho, Q.Z. Faridah, Y.R. Othman, J.S. Heslop-Harrison, R. Kalendar and A.H. Schulman. 2005. Genome constitution and classification using retrotransposon-based markers in the orphan crop banana. Journal of Plant Biology, 48(1): 96-105.
62. Venturi, S., L. Dondini, P. Donini and S. Sansavini. 2006. Retrotransposon characterisation and fingerprinting of apple clones by S-SAP markers. Theoretical and Applied Genetics, 112(3): 440-444.
63. Vicient, C.M., R. Kalendar and A.H. Schulman. 2005. Variability, recombination and mosaic evolution of the barley BARE-1 retrotransposon. J Mol Evol, 61275-291.
64. Vukich, M., A.H. Schulman, T. Giordani, L. Natali, R. Kalendar and A. Cavallini. 2009. Genetic variability in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and in the Helianthus genus as assessed by retrotransposon-based molecular markers. Theoretical and Applied Genetics, 119(6): 1027-1038.
65. Yuying, S., D. Xiajun, W. Fei, C. Binhua, G. Zhihong and Z. Zhen. 2011. Analysis of genetic diversity in Japanese apricot (Prunus mume Sieb. et Zucc.) based on REMAP and IRAP molecular markers. Scientia Horticulturae, 13250-58. 10.1016/j.scienta.2011.10.005
66. Zoghlami, N., I. Chrita, B. Bouamama, M. Gargouri, H. Zemni, A. Ghorbel and A. Mliki. 2007. Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (Opuntia ficus indica (L.) Mill.) in Tunisia. Scientia Horticulturae, 113(2): 134-141.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]

Evaluation of the Ability of Retrotransposon Markers to Study the Genetic Diversity in some Populations of Radish (*Raphanus Sativus*)

Mostafa Tabatabaei[1], Fatemeh Haddadi[2], Hossein Kamalaldini[2] and Bahman Fazeli-Nasab[3]

1 and 2- Graduated M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran
3- Lecturer, Research Department of Agronomy and Plant breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, (Corresponding author: Bfazeli@uoz.ac.ir)
Received: August 12, 2017 Accepted: April 3, 2018

Abstract

Radish belonging to the *Brassicaceae* family, contains some componds such as cineol, malvin Chloride, Sapogenin, Sulforaphane and Raphanin and has many therapeutic properties. In this study, IRAP retrotransposon marker was used for evaluation of genetic diversity in seven commercial and native populations of Radish herb. The least number of bands (1) were produced by LTR2 & LTR15 (primer combinations) and the highest number, (16) were produced by LTR23 primer. The mean number of bands in all sites was 6. 39. the most diversity index (0.41) was found for Sukkula primer and the least diversity index (0.18) was related to LTR2-LTR15 primer and also the mean diversity index was 0.28. The highest marker index (4.1) was related to the LTR3 primer and the least marker index (0.18) was related to the LTR15 and LTR2 primer combination. The most number of effective bands, the Shanoon diversity index and the Nei diversity index were 1.82, 0.64 and 0.45, respectively and all belonged to Sukkula primer. The least number of effective bands, the Shanoon diversity index and the Nei diversity index were 1.18, 0.27 and 0.15, respectively belonged to the rtdk primer. Among radish populations, the most percentage of polymorphic location, effective band, the Shanoon diversity index and the Nei diversity index were 46.85, 1.305, 0.17 and 0.26, respectively. Molecular variance analysis among and between populations showed that 59% of the total genetic diversity was among populations. The results of this study showed that the population of Profit could be used as a parent or maternal parent or gene selection provider in Iran's radish breeding, since it showed the most polymorphism, the Shanoon diversity index and the Nei diversity index and number of effective bands.

Keywords: Genetic Diversity, Genetic similarity, IRAP, Radish

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-10-12]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1397.10.28.15.2]
[DOI: 10.29252/jcb.10.28.27]