



"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 ژرم‌پلاسما 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 ایوان در یک گروه طبقه‌بندی شدند. طبق گروه‌بندی استراکچر با استفاده از نشانگر ISSR، نمونه‌های مربوط به جمعیت‌های جمع‌آوری شده از کرند و ایوان در یک گروه 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، تعدیل‌کننده 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 هر بار یوم دانشکده کشاورزی (دانشگاه رازی) شناسایی شد. تعداد ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از سایت‌های مختلف نمونه‌گیری به همراه مختصات جغرافیایی 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 (۳۳، ۳۶، ۲۱). 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 پلاسم 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 ژرم‌پلاسم 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 کبَر 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 دوپیل و دوپیل (۹) استخراج شد. مقدار کمی DNA، با اسپکتروفوتومتر 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، 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، $5 \pm$ 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، 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- سابت‌های 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

شماره نمونه	محل نمونه ها	موقعیت جغرافیایی			شماره نمونه	محل نمونه‌ها	موقعیت جغرافیایی		
		عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع			عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع
۱	کرمانشاه	۴۷۱۲/۶۲۰	۳۴۳۱/۶۳۳	۱۳۱۹	۴۱	۴۵۴۸/۲۳۸	۳۴۱۵/۹۲۶	۶۲۸	
۲		۴۷۱۷/۱۶۴	۳۴۵۷/۱۰۱	۱۴۰۶	۴۲	۴۵۴۸/۲۱۱	۳۴۱۵/۹۲۸	۶۲۸	
۳		۴۷۱۷/۱۳۲	۳۴۵۷/۰۲۶	۱۳۵۶	۴۳	۴۵۴۸/۲۱۸	۳۴۱۵/۹۴۱	۶۲۸	
۴		۴۷۱۷/۲۲۰	۳۴۵۷/۰۳۵	۱۳۶۱	۴۴	۴۵۴۸/۵۵۱	۳۴۷۲/۵۶۰	۸۶۷	
۵		۴۷۱۷/۲۵۲	۳۴۵۷/۱۱۵	۱۳۷۲	۴۵	۴۵۴۸/۵۵۶	۳۴۷۲/۵۸۰	۸۶۷	
۶	چارمله	۴۶۱۷/۳۸۲	۳۳۵۶/۵۸۶	۱۳۳۲	۴۶	۴۵۴۸/۹۶۴	۳۴۵۱/۵۷۰	۱۰۵۳	
۷		۴۶۱۷/۳۸۲	۳۳۵۶/۵۹۳	۱۳۳۸	۴۷	۴۵۴۸/۹۵۴	۳۴۵۱/۴۶۰	۱۰۴۹	
۸		۴۶۱۷/۳۶۶	۳۳۵۶/۶۰۶	۱۳۳۸	۴۸	۴۵۳۸/۶۲۴	۳۳۵۲/۵۵۲	۳۰۰	
۹		۴۶۱۷/۳۳۲	۳۳۵۶/۴۸۹	۱۳۰۴	۴۹	۴۵۳۷/۱۷۱	۳۳۵۷/۰۹۵	۱۳۹۹	
۱۰	ایلام	۴۶۲۳/۷۳۱	۳۳۳۶/۴۹۲	۱۳۰۶	۵۰	۴۵۳۷/۶۳۰	۳۳۵۷/۱۱۱	۱۳۸۵	
۱۱		۴۶۲۳/۷۱۸	۳۳۳۶/۰۳۴	۱۳۳۳	۵۱	۴۵۳۷/۵۴۰	۳۳۵۷/۱۱۵	۱۳۸۸	
۱۲		۴۶۲۳/۷۳۶	۳۳۳۶/۰۳۸	۱۳۳۸	۵۲	۴۵۳۷/۲۷۸	۳۳۵۷/۱۳۲	۱۳۸۸	
۱۳		۴۶۲۳/۷۱۱	۳۳۳۶/۰۳۱	۱۳۲۹	۵۳	۴۵۳۷/۸۱۰	۳۳۵۷/۴۲۲	۱۱۲۱	
۱۴		۴۶۲۳/۷۰۷	۳۳۳۶/۰۳۰	۱۳۲۹	۵۴	۴۵۳۷/۲۱۶	۳۳۵۷/۳۶۴	۷۱۲	
۱۵		۴۶۲۳/۶۹۳	۳۳۳۶/۰۳۴	۱۳۳۰	۵۵	۴۵۳۷/۰۶۹	۳۳۵۷/۴۲۹	۷۱۳	
۱۶		۴۶۲۳/۷۰۲	۳۳۳۶/۰۲۶	۱۳۳۱	۵۶	۴۵۳۷/۹۱۳	۳۳۵۷/۴۱۵	۶۹۵	
۱۷		۴۶۲۳/۷۱۸	۳۳۳۵/۹۸۹	۱۳۳۲	۵۷	۴۵۵۰/۴۸۵	۳۳۵۶/۳۰۴	۵۱۵	
۱۸		۴۶۱۸/۴۰۸	۳۳۳۹/۷۹۸	۱۱۳۱	۵۸	۴۵۵۰/۴۸۳	۳۳۵۶/۳۰۴	۵۱۵	
۱۹		۴۶۱۸/۴۱۳	۳۳۳۹/۸۱۴	۱۱۳۷	۵۹	۴۵۵۰/۴۹۲	۳۳۵۶/۳۰۴	۵۱۴	
۲۰	سرپل ذهاب	۴۵۵۲/۰۴۲	۳۴۲۷/۸۴۶	۵۵۵	۶۰	۴۵۵۰/۴۷۷	۳۳۵۶/۳۰۱	۵۱۴	
۲۱		۴۵۵۲/۰۱۸	۳۴۲۷/۸۷۶	۵۵۳	۶۱	۴۵۳۸/۶۳۱	۳۳۵۲/۵۴۷	۳۰۱	
۲۲		۴۵۵۲/۰۸۷	۳۴۲۷/۸۱۱	۵۵۵	۶۲	۴۵۳۸/۶۳۹	۳۳۵۲/۵۵۱	۲۹۹	
۲۳		۴۵۵۲/۱۴۲	۳۴۲۷/۷۸۷	۵۷۳	۶۳	۴۵۳۸/۶۳۱	۳۳۸۲/۵۵۲	۲۹۹	
۲۴		۴۵۵۲/۱۵۷	۳۴۲۷/۷۸۹	۵۷۰	۶۴	۴۵۳۸/۲۴۰	۳۳۸۷/۷۳۲	۲۹۵	
۲۵		۴۵۵۲/۱۵۷	۳۴۲۷/۷۸۹	۵۷۰	۶۵	۴۵۳۸/۲۴۲	۳۳۸۷/۷۳۰	۲۹۵	
۲۶		۴۵۵۲/۱۵۳	۳۴۲۷/۷۸۶	۵۷۳	۶۶	۴۵۳۸/۵۰۰	۳۳۸۷/۷۲۵	۲۹۵	
۲۷		۴۵۵۲/۱۵۴	۳۴۲۷/۷۸۵	۵۷۴	۶۷	۴۵۷۰/۷۲۲	۳۴۰۳/۱۰۷	۶۲۲	
۲۸		۴۵۵۲/۱۴۲	۳۴۲۷/۷۷۱	۵۷۱	۶۸	۴۵۷۰/۷۲۵	۳۴۰۳/۱۰۳	۶۲۲	
۲۹		۴۵۵۲/۱۲۴	۳۴۲۷/۷۵۲	۵۶۰	۶۹	۴۵۷۰/۷۳۰	۳۴۰۳/۱۰۲	۶۲۲	
۳۰		۴۵۵۲/۱۲۸	۳۴۲۷/۷۵۵	۵۶۱	۷۰	۴۵۷۰/۷۳۲	۳۴۰۳/۱۰۲	۶۲۲	
۳۱		۴۵۵۲/۱۳۱	۳۴۲۷/۷۵۶	۵۶۱	۷۱	۴۵۷۳/۲۳۸	۳۴۳۹/۹۲۵	۳۰۵	
۳۲	قصر شیرین	۴۵۳۶/۰۵۷	۳۴۳۱/۶۷۱	۳۸۸	۷۲	۴۵۷۳/۲۳۸	۳۴۳۹/۹۲۵	۳۱۰	
۳۳		۴۵۳۶/۰۴۲	۳۴۳۱/۶۷۰	۳۷۶	۷۳	۴۵۷۳/۲۳۰	۳۴۳۹/۹۳۰	۳۰۷	
۳۴		۴۵۳۶/۰۳۳	۳۴۳۱/۶۶۶	۳۷۶	۷۴	۴۵۷۳/۲۳۵	۳۴۳۹/۹۳۱	۳۷۵	
۳۵		۴۵۳۶/۰۳۳	۳۴۳۱/۶۷۰	۳۷۶	۷۵	۴۶۲۹/۴۲۶	۳۴۲۳/۸۴۱	۱۲۱۵	
۳۶		۴۵۳۶/۰۵۲	۳۴۳۱/۶۹۱	۳۷۲	۷۶	۴۶۲۹/۵۲۱	۳۴۲۳/۸۷۷	۱۲۱۵	
۳۷		۴۵۳۶/۰۵۷	۳۴۳۱/۶۸۸	۳۷۲	۷۷	۴۶۲۹/۵۰۱	۳۴۲۳/۸۷۷	۱۲۱۵	
۳۸	گورسفید	۴۵۴۸/۲۷۱	۳۴۱۵/۹۳۳	۶۳۲	۷۸	۴۶۲۹/۵۸۰	۳۴۲۳/۸۲۱	۱۲۱۵	
۳۹		۴۵۴۸/۲۱۲	۳۴۱۵/۹۳۶	۶۳۳	۷۹	۴۶۲۹/۴۹۵	۳۴۲۳/۹۴۵	۱۲۱۵	
۴۰		۴۵۴۸/۲۱۵	۳۴۱۵/۹۳۰	۶۳۳	۸۰	۴۶۲۹/۶۸۷	۳۴۲۳/۸۷۷	۱۲۱۵	

به منظور 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 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 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

ساختار جمعیت با استفاده از نشانگر SCoT

در مجموع ۱۶۵ باند تولید شده توسط نشانگر SCoT از ۱۹۰ باند ($0.65/48$) چند شکل بودند. شاخص‌های نشانگری آغازگرهای SCoT در جدول ۴ مشخص شده است. بیشترین مقدار PIC مربوط به SCoT33 ($0/30$) و کمترین مقدار مربوط به SCoT29 ($0/16$) بود. نشانگرهای SCoT36 دارای بالاترین ($5/19$) شاخص نشانگر (MI) و نشانگر SCoT29 دارای کمترین ($1/19$) 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 (26). نمودار برآورد ثابویه 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 ثابویه 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 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، سرپل‌ذهاب، قصرشیرین، گورسفید، گیلان، و بخشی از نمونه‌های سومار در یک گروه طبقه‌بندی شدند. طبق اطلاعات تخمینی بدست آمده از نمودار $6/25\%$ 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	۲/۳۳	-/۸۰	-/۶۴	۲۴/۱۴
۴	شاخه یکساله	GYB	۱	۳	۲/۰۴	-/۸۳	-/۶۹	۴۰/۶۵
۵	طول میانگره	MNL	۳	۷	۲/۹۳	۱/۰۵	۱/۰۹	۲۶/۶۵
۶	تعداد عدسک	LN	۱	۴	۲/۷۴	-/۸۵	-/۷۲	۳۰/۹۷
۷	رنگ تنه	HSC	۱	۱۰	۲/۳۴	۲/۵۸	۶/۶۵	۱۱۰/۳۱
۸	تنه	HTS	۱	۲	۱/۰۵	-/۲۲	-/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	FEP	۱	۲	۱/۲۳	-/۴۲	-/۱۷	۳۴/۰۹
۱۶	تقارن در برش طول	FS	۱	۲	۱/۲۱	-/۴۱	-/۱۷	۳۳/۷۴
۱۷	تعداد خطوط روی میوه	NF	۳	۷	۲/۹۳	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	۲/۲۵	۲/۲۳	۴/۹۸	۶۶/۶۰
۲۰	موقعیت بیشترین قطر میوه	FPM	۱	۳	۱/۵۴	-/۸۷	-/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	-/۳۶	-/۱۳	۳۱/۰۵
۲۳	برآمدگی خطوط روی میوه	FBL	۱	۲	۱/۳۳	-/۴۷	-/۲۲	۳۵/۳۵
۲۴	اندازه بذر	SS	۱	۳	۱/۶۶	-/۶۵	-/۴۲	۳۹/۱۵
۲۵	شکل بذر	SSH	۱	۲	۱/۸۶	-/۳۴	-/۱۲	۱۸/۴۹
۲۶	رنگ بذر	SC	۱	۲	۱/۵۳	-/۵۰	-/۲۵	۳۲/۷۵
۲۷	اندازه گل	FLS	۱	۲	۱/۰۵	-/۲۲	-/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	-/۴۹	-/۲۴	۳۰/۶۲
۳۸	طول جوانه گل	LFB	۱	۲	۱/۶۳	-/۴۸	-/۲۳	۲۹/۷۹
۳۹	رنگ پرچم	LFC	۱	۴	۱/۷۱	-/۷۴	-/۵۵	۴۳/۵۰
۴۰	شکل نوک جوانه	STB	۱	۲	۱/۳۱	-/۴۶	-/۲۱	۳۵/۳۲
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	-/۷۹	-/۶۲	۳۴/۷۳

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

بروز ژنوتیپ‌های میانی است. شرایط مبهم فیلوژنی 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

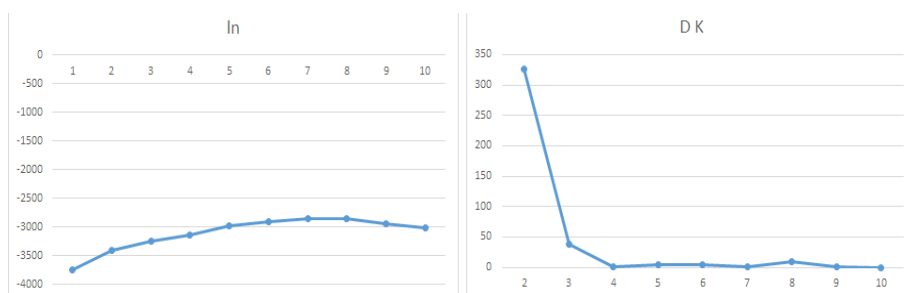
کبَر با استفاده از نشانگر ISSR به طور کلی دو خوشه ژنتیکی اصلی را نشان دادند. طبق نتایج مطالعه یوسفی و همکاران (۳۸) ساختار تعداد احتمالی جمعیت کاپاریس متعلق به ۶ گونه با استفاده از نشانگر AFLP برابر با $K = 6$ بود، که با نتایج کا رما مطابقت نداشت، احتمالاً بدلیل متفاوت بودن نشانگرهای بکار رفته می‌باشد.

نشانگر برای مطالعه ساختار جمعیت کبَر غرب ایران می‌باشد. طبق نتایج مطالعه بوهیار و همکاران (۷)، جمعیت کبَر 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

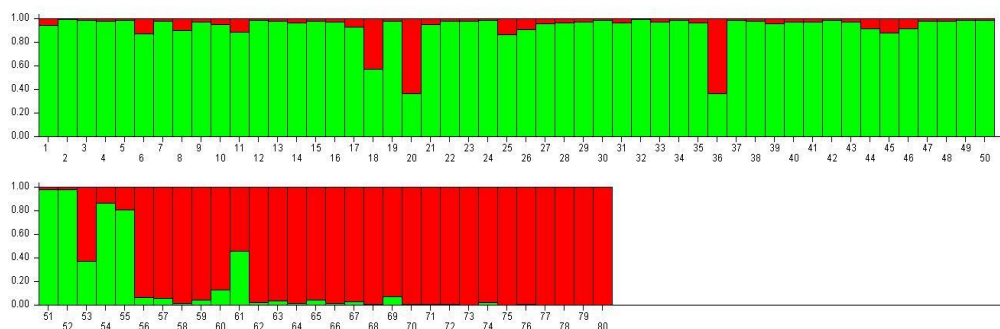
نشانگر	دمای اتصال	توالی (5'-3')	NA	NP	PP	MI	RP	PS	PIC
UBC 873	۵۴	AGAGAGAGAGAGAGAGT	۱۱	۸	۷۲/۷	۱/۲۲	۵/۸۲	۱۴/۳۸	۰/۲۱
UBC 880	۵۷	AGAGAGAGAGAGAGAGC	۱۰	۶	۶۰	۰/۷۲	۳/۶۰	۱۵/۵۵	۰/۲۰
USB 835	۵۴	ACACACACACACACT	۱۲	۱۰	۸۳/۳	۲/۱۱	۸/۳۳	۱۳/۱۰	۰/۲۵
UBC 864	۵۶	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	۶	۳	۵۰	۰/۰۳	۱/۵۰	۱۱/۸۸	۰/۰۲
USB 884	۵۰	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	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	GGAGAGGAGAGGAGA	۱۸	۱۸	۱۰۰	۴/۵۵	۱۸	۲۲/۳۳	۰/۲۵
UBC 808	۵۵	ACTGCTGAGAGAGAGAGA	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.

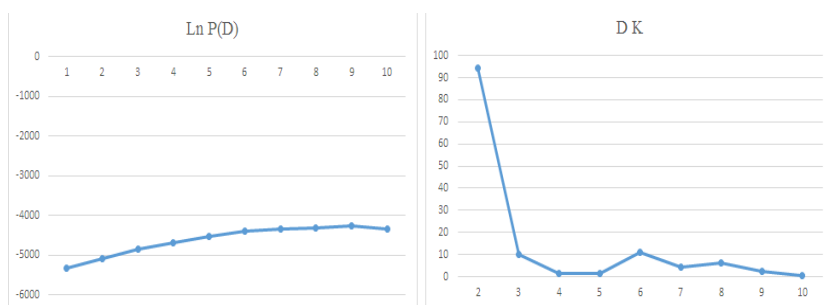
Figure 2. Impartially clustering of 80 genotypes statistically belonging to 12 populations using 108 ISSR polymorphic loci using structure software. Two different genotypes are shown with different colors.

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

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

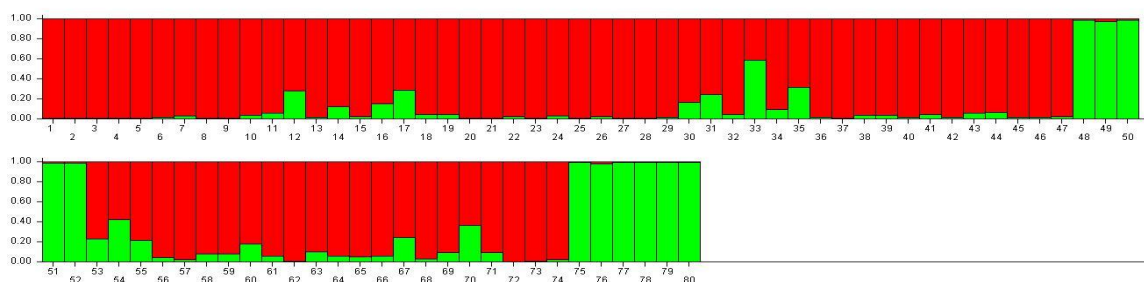
نشانهگر	دمای اتصال	توالی (5'-3')	NA	NP	PP	MI	EMR	PS	PIC
SCoT01	۵۰	CAACAATGGCTACCACCA	۲۴	۲۱	۸۷/۵۰	۳/۶۰	۱۸/۳۸	۲۸/۲۰	-/۲۰
SCoT12	۵۰	ACGACATGGCGACCAACG	۲۲	۱۶	۷۲/۷۳	۲/-۸	۱۱/۶۴	۲۸/۸۰	-/۱۸
SCoT13	۵۰	ACGACATGGCGACCATCG	۲۳	۲۲	۹۵/۶۵	۴/۵۸	۲۱/۰۴	۲۷/۷۰	-/۲۲
SCoT18	۵۰	ACCATGGCTACCACCGCC	۱۹	۱۶	۸۴/۲۱	۲/۹۰	۱۳/۴۷	۲۳/۷۰	-/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/-۸	۱۳/۰۷	۲۱/۰۰	-/۳۰
SCoT36	۵۰	GCAACAATGGCTACCACC	۲۲	۲۱	۹۵/۴۵	۵/۱۹	۲۰/۰۵	۲۴/۸۰	-/۲۶
میانگین			۱۹	۱۶/۵	۸۶/۴۸	۳/۱۷	۱۴/۴۶	۲۳/۷۶	-/۲۲

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

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

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

(SL, LBW, LBL, FLS, HTS, GP) UBC880-4، (LFB و (FPM, PTC, FTD, GH, GP) UBC856-6، (PS, SC, SS 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 (LN, GH, GP) UBC873-4، (SS, FAM, PTC, FCT, FTT, P, FTL, FTD, FLH و (PS, FL, LFC, LKB, PL, LBW, LQD, SBOD

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		
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	اندازه بذر	۱۰/۴	۱۸	۱۱/۲	۱۳	B	شاخه‌زایی
۸/۳	۲	۱۰/۹	۱۲	SSH	شکل بذر	۱۹/۵	۲۸	۱۷/۱	۱۹	GH	عادت رشد
۱۴/۵	۱۹	۱۲/۰	۱۳	SC	رنگ بذر	۳۵/۹	۲۶	۸/۴	۱۱	GYB	شاخه یکساله
۵۳/۵	۴۰	۴۰/۴	۲۴	FLS	اندازه گل	۷/۴	۵	۷/۲	۶	MNL	طول میانگوه
۱۰/۶	۲۸	۸/۰	۷	SBOD	تراکم کرک برگ	۱۵/۸	۲۵	۱۸/۲	۹	LN	تعداد عدسک
۱۱/۸	۲۴	۱۰/۱	۷	LQD	کرک برگ	۲۳/۳	۱۵	۱۹/۰	۱۱	HSC	رنگ تنه
۱۰/۸	۱۶	۱۰/۳	۵	LBL	طول پهنک	۵۳/۵	۴۰	۴۰/۴	۲۴	HTS	تنه
۹/۳	۱۸	۱۲/۸	۷	LBW	عرض پهنک	۱۵/۷	۳۰	۱۰/۳	۹	FLH	طول میوه
۱۹/۶	۱۷	۱۵/۴	۱۷	RLB	نسبت طول به عرض پهنک	۱۲/۱	۲۰	۱۳/۹	۱۷	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	۱۹/۴	۳۳	۱۴/۱	۲۲	FTL	دم میوه
۱۴/۹	۶	۹/۹	۱۰	LSA	شکل انتهای نوک تیز	۱۷/۹	۳۵	۱۲/۱	۲۵	P	دمگل
۱۴/۶	۲۸	۲۰/۷	۲۰	LKB	طول نوک تیز	۱۲/۲	۲۱	۱۰/۰	۱۴	FTT	قطر دم
۱۱/۴	۱۱	۱۳/۲	۱۲	LPS	دمبرگ گوشوارک	۱۳/۵	۵	۴/۶	۵	FEP	پروفیل کناره
۱۸/۴	۱۸	۲۶/۶	۱۳	LFB	طول جوانه گل	۱۳/۶	۶	۱۳/۲	۹	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	۳۲/۵	۳۳	۱۶/۹	۱۸	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	۱۳/۰	۱۳	۱۶/۶	۹	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. Bhojar, 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. *Sciara 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, Chameleh, 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, Chaemeleh, Ilam, Ivan, Sapolzohab, 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