ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۴۰۵ - ۳۹۷

بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گشنیز با استفاده از نشانگرهای ISSR

Study of genetic diversity among coriander populations (*Coriandrum sativum* L.) using ISSR markers

سولماز نادی[۱]، جلال صبا*[۱]، محمد جعفرآقایی[۲]، بابک عندلیبی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش ذخایر ژنتیک و ذخایر توارثی، کرج، ایران

Nadi S[1], Saba J*[1], Jafaraghae M[2], Andalibi B[1]

1- PhD Student, Professor, Associate professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2- Associate professor, Seed and Plant Improvement Institute, Genetic and plant genetic resources research department, Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: saba@znu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰)

چکیده

ارزیابی تنوع ژنتیکی گشنیز برای برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی اهمیت زیادی دارد. در این تحقیق، با هدف بررسی ساختار جمعیت‌های گشنیز ایران، تعداد۲۰ جمعیت گشنیز که از نواحی مختلف کشور جمع‌آوری شده بود، با استفاده از ۱۰ نشانگر ISSR مورد ارزیابی قرار گرفتند. این نشانگرها در مجموع تعداد ۱۱۱ بند در جمعیت‌های مورد بررسی ایجاد کردند که از این تعداد،۸۰ قطعه چندشکل بوده و میانگین چندشکلی از ۰/۲ تا ۰/۳۵ به ازای هر آغازگر متفاوت بود. به‌منظور تعیین کارایی نشانگرها، محتوای اطلاعاتی چندشکلی (PIC) و همچنین درصد چندشکلی آن‌ها محاسبه شد. میانگین درصد چندشکلی تعیین شده در مجموع جمعیت‌های مورد بررسی ۷۲/۲ بود. آغازگر P2 با دارا بودن تنوع و قدرت تمایز در میان جمعیت‌ها، آغازگر بهتری جهت بررسی تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های گشنیز ایران بود. نتایج حاصل از گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد جمعیت‌ها را در سه گروه طبقه‌بندی نمود. بر اساس نتایج این تحقیق، گشنیزهای ایران دارای تنوع ژنتیکی بالایی بوده و نشانگر ISSR به‌خوبی قادر به تفکیک جمعیت‌های گشنیز می‌باشد. وجود تنوع ژنتیکی زیاد بین جمعیت‌های گشنیز این امکان را فراهم می‌سازد تا به‌نژادگران از این تنوع ژنتیکی وسیع برای انجام تلاقی‌های هدفمند به‌منظور پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و راهبردهای حفاظتی این گونه گیاهی بهره‌برداری کنند.

واژه‌های کلیدی

تجزیه خوشه‌ای
تنوع ژنتیکی
گشنیز
نشانگرISSR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

گیاهان دارویی از ارزش و اهمیت خاصی در تأمین بهداشت و سلامت جوامع هم به لحاظ درمان و هم پیشگیری از بیماری‌ها برخوردار هستند. گرایش عمومی جامعه به استفاده از داروها و درمان‌های گیاهی و به‌طور کلی فرآورده‌های طبیعی به‌ویژه در طی سال‌های اخیر رو به افزایش بوده و مهم‌ترین علل آن، اجتناب از اثرات جانبی داروهای شیمیایی و ایجاد آلودگی‌های زیست‌محیطی ناشی از آن‌ها که کره زمین را تهدید می‌کند، بوده است. از طرفی گیاهان دارویی جزو ذخایر و منابع طبیعی با ارزش کشور هستند، که گستره نوع، تعداد و تنوع گونه‌های گیاهی آن بر اساس شرایط و موقعیت جغرافیایی هر منطقه متفاوت است. متأسفانه سودآوری‌های کلان اقتصادی و توجه روزافزون به تجارت جهانی گیاهان دارویی، مشکلات و مسائل ناگواری را برای این منابع به وجود آورده و تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی را با خطر انقراض مواجه ساخته است. چرا که بخش عظیمی از تجارت گونه‌های گیاهان دارویی مربوط به منابعی است که از طبیعت جمع‌آوری شده و بعضاً با شیوه‌های نادرست، نه تنها به انقراض نسل گونه‌ها می‌انجامد بلکه تنوع زیستی منطقه و جهان را نیز با خطر نابودی مواجه می‌سازد (Ma et al. 2003).

گیاه گشنیز با نام انگلیسی Coriander و نام علمی *Coriandrum sativum* L. از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است. این گیاه، با ریخته ارثی 2n=2X=22، گیاهی یک‌ساله، علفی (Micića et al. 2019, Tulsani et al. 2020) است. این گیاه بومی جنوب اروپا و مناطق مدیترانه است (Msaada et al. 2007, Choudhary et al. 2019). گشنیز گیاهی دگرگشن می‌باشد (Innocent et al. 2011; Muzamil et al. 2019) که درصد دگرگشنی آن بسته به وجود حشرات گرده‌افشان و مقدار باد بین ۷۰-۶۰٪ متغیر است (Emamghoreishi et al. 2006; Msaada et al. 2007). کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی میان افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های موردنظر در برنامه‌های اصلاحی، امکان سازماندهی ژرم‌پلاسم و نمونه‌گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها را فراهم می‌سازد. اولین قدم در اصلاح خصوصیات گیاهی، شناخت خصوصیات ژنتیکی نمونه‌های ژرم‌پلاسم است که این موضوع به نوبه خود نمونه‌گیری سیستماتیک از ژرم‌پلاسم را برای مقاصد اصلاحی و حفاظتی امکان‌پذیر می‌سازد (Hasani et al. 2011). نشانگر مولکولی ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) از نشانگرهای نیمه‌اختصاصی بوده و به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حضور یک آغازگر مکمل با یک توالی ریزماهواره در ژنوم تکثیر می‌شود (Bornet and Branchard 2001). به‌دلیل فراوانی این نشانگر در مناطق تکرارشونده در ژنوم، چندشکلی بیشتری را نسبت به آغازگرهای RAPD نشان داده و باندهای حاصله اطلاعات بیشتری از ژنوم را در اختیار می‌گذارند (Terzopoulos and Bebeli 2008)؛ همچنین به‌دلیل عدم نیاز به داشتن اطلاعات اولیه از توالی DNA هدف و همچنین دارا بودن ویژگی‌های مطلوب مانند تکرارپذیری، تجزیه و تحلیل همزمان تعداد زیاد جایگاه ژنی، دقت بالا، تنوع بسیار بالا، هزینه پایین، سرعت و سهولت اجرا، به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی به‌طورگسترده‌ای به‌ویژه در گیاهان معطر و دارویی از جمله انیسون (Akcali Giachino 2019)، بومادران (Farajpour et al. 2012)، آویشن (Rahimmalek et al. 2009)، گلرنگ (Yang et al. 2007)، رازیانه (Salami et al. 2017, Yadav and Malik 2018, Choudhary et al. 2019) به‌کار برده شده است. در پژوهشی تنوع ژنتیکی ۱۰ جمعیت گشنیز مشاهده شد که از بین ۶ نشانگر مورد استفاده (۴ نشانگر ISSR و ۲ نشانگر SSR) در مجموع ۴۷ آلل با میانگین ۸/۵ الل برای ISRR و ۶/۵ الل برای SSR مشاهده شد. شاخص PIC نیز در محدوده ۰/۳۱ و ۰/۷۳ متغیر بود (Obaleye et al. 2023). Tomar Rukam et al. (2014) تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گشنیز با استفاده از ۲۸ نشانگر ISSR را مورد بررسی قرار دادند که تعداد ۱۳۷۱ نوار حاصل شد که ۱۴۲ نوار چندشکل و ۵۸ نوار مونومورف بودند. دامنه درصد چندشکلی نیز بین ۳۳/۳ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گشنیز نیز از مجموع ۱۲ پرایمر ISSR، تعداد ۱۳۰ نوار به‌دست آمد که ۱۰۵ نوار (۸۰/۴۷ درصد) چندشکل بودند. دامنه نوارهای چندشکل بین ۷ تا ۱۱ با میانگین ۸/۷۵ نوار چندشکل متغیر بود. درصد نوارهای چندشکل بین ۷۰ تا ۹۰ درصد، میزان EMR برابر با ۷/۰۸ و میانگین هتروزیگوسیتی برای باندهای پلی‌مورف ۰/۳۴۷ به‌دست آمد. همچنین شاخص نشانگری بین ۳/۲۴-۱/۷۵ مشاهده شد (Eghlima et al. 2021).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

در مطالعه‌ای دیگر بر روی ۲۴ ژنوتیپ گشنیز، با استفاده از نشانگر RAPD، ۸۳ نوار و با استفاده از نشانگر ISSR ۳۷ نوار چندشکل حاصل شد. تجزیه خوشه‌ای نیز ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در ۴ گروه قرار داد (Choudhary et al. 2019). نتایج حاصل از تکثیر ژنوم DNA ۹۰ جمعیت گشنیز با استفاده از ۳۹ نشانگر ISSR نشان داد که از مجموع ۳۸۷ نوار، ۳۳۵ نوار (۸۶/۶ درصد) چندشکل با میانگین ۸/۶ مشاهده شد (Shahabzadeh et al. 2019). Parik et al. (2011) تنوع ژنتیکی ۱۰ واریته گشنیز هند را با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد مطالعه قرار دادند. در مجموع ۷۴ باند واضح تولید شد که ۴۳/۲ درصد از آن‌ها چندشکل بودند. تعداد نشانگرها به ازای هر آغازگر از ۶ تا ۱۳ متفاوت بود و میانگین آن ۹/۲۵ به‌دست آمد. آغازگرهای مختلف از ۱ تا ۱۱ عدد نشانگر چندشکل تولید کردند (با میانگین چهار نشانگر چندشکل به ازای هر آغازگر). اندازه باندها تکثیر شده از ۳۷۰ جفت‌باز تا ۴۴۸۶ جفت‌باز متفاوت بود. مقدار PIC در دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۲۲ قرار داشت و میانگین آن ۰/۱۲ محاسبه شد. دامنه ضرایب تشابه جاکارد از ۰/۷ تا ۰/۹۵ متغیر و میانگین آن ۰/۸۱ بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA ۱۰ ژنوتیپ را در دو گروه اصلی قرار داد. در گروه اول فقط یک ژنوتیپ قرار گرفت. گروه دوم به پنج زیرگروه تقسیم شد. در کشور ایران تحقیقات انجام شده در زمینه اصلاح گیاهان دارویی به نسبت اهمیت این گیاهان در صنایع مختلف، محدود می‌باشد. بنابراین انجام تحقیقات بیشتر به‌منظور شناسایی منابع تنوع ژنتیکی و دست‌یابی به ارقام اصلاح شده ضروری به‌نظر می‌رسد، تحقیق حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی در سطح مولکولی در اکوتیپ‌های مختلف گشنیز برای انتخاب نمونه‌های متنوع‌تر جهت دست‌یابی به هتروزیس و افزایش ترکیبات مؤثره انجام شد. همچنین می‌توان از اطلاعات حاصل برای حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه و ایجاد بانک ژرم‌پلاسم و همچنین حفاظت گونه‌ها در رویشگاه نیز استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضرتعداد ۲۰ توده گشنیز که از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده بودند (جدول ۱)، مورد بررسی قرار گرفتند. DNA ژنومی از بافت برگ گیاهچه‌های رشدیافته در مرحله ۴ -۳ برگی با استفاده از روش (Doyle and Doyle 1990) با اندکی تغییرات استخراج شد. نمونه‌های DNA استخراج شده جهت ارزیابی دقیق کمی و کیفی بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند. DNAهای استخراج شده برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تاغلظتی برابر ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. در این پژوهش برای تکثیر قطعات DNA ژنومی از ۱۰ آغازگر ISSR تهیه شده از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران استفاده شد (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای حجم ۲۰ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم DNA الگو، ۲ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۰/۰۵ میلی‌مولار از هر dNTP، ۰/۲ میکرومول آغازگر، یک واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase و بافر واکنش به مقدار 1X) انجام شد.

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی محل جمع‌آوری جمعیت‌های مختلف گشنیز مورد بررسی

شهرستان	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	شهرستان	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
اردبیل	۳۸° ۱۵′ ۴۷″	۴۸° ۱۷′ ۵۵″	زنجان	۳۶° ۴۱′ ۰۸″	۴۸° ۱۷′ ۴۷″
اصفهان	۳۲° ۳۸′ ۴۰″	۵۱° ۴۰′ ۳۵″	شاهرود	۳۶° ۲۴′ ۲۵″	۵۴° ۵۹′ ۵۸″
اهواز	۳۱° ۱۹′ ۳۰″	۴۸° ۴۱′ ۶۵″	قزوین	۳۶° ۱۵′ ۱۶″	۵۰° ۰۰′ ۰۰″
بیرجند	۳۲° ۵۳′ ۵۳″	۵۹° ۰۳′ ۱۳″	قزوین	۳۶° ۱۵′ ۱۵″	۵۰° ۰۱′ ۰۱″
تاکستان	۳۶° ۰۴′ ۴۲″	۴۹° ۴۲′ ۳۶″	کرج	۳۵° ۴۸′ ۴۸″	۵۰° ۵۷′ ۵۷″
حمیدیه	۳۱° ۱۶′ ۲۹″	۴۸° ۲۹′ ۳۱″	کرمانشاه	۳۴° ۲۳′ ۲۳″	۴۷° ۰۰′ ۰۰″
خرم‌دره	۳۶° ۲۵′ ۲۵″	۴۹° ۲۵′ ۳۶″	گیلان غرب	۳۴° ۱۳′ ۱۳″	۴۵° ۹۱′ ۴۵″
رامهرمز	۳۱° ۱۶′ ۱۶″	۴۹° ۳۷′ ۳۱″	مشهد	۳۶° ۱۹′ ۱۹″	۵۹° ۳۷′ ۵۹″
زرین‌شهر	۳۲° ۲۳′ ۲۳″	۵۱° ۲۳′ ۳۲″	نهاوند	۳۴° ۱۰′ ۱۰″	۴۸° ۲۲′ ۴۸″
زنجان	۳۶° ۶۷′ ۳۶″	۴۸° ۴۸′ ۴۸″	همدان	۳۴° ۵۲′ ۳۴″	۴۸° ۳۲′ ۴۸″

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۲- لیست آغازگرهای مورد استفاده به‌همراه توالی و دمای اتصال (R=A/T, Y=G/C)

نام آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
P2	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52
P9	GTGTGTGTGTGTGTGTR	58
P12	ACACACACACACACACYA	58
P16	CCCGTGTGTGTGTGT	57
P18	SSWNGACAGACAGACA	54
P19	BDBCACACACACACA	54
P20	VHVGTGTGTGTGTGTGT	57
P24	HVHTCCTCCTCCTCCTCC	59
P25	DBDACACACACACACACA	57
P35	YTGTGTGTGTGTGTG	52

چرخه حرارتی به‌صورت ۵ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۷ چرخه هر کدام شامل۳۰ ثانیه واسرشته‌سازی در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۵۲ تا ۵۹ ثانیه مرحله اتصال آغازگر بسته به دمای اتصال آغازگر، ۹۰ ثانیه مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک چرخه نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، سپس نگه‌داری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. به‌منظور آشکارسازی چندشکلی بین نمونه‌ها از روش الکتروفورز و ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد، همچنین رنگ‌آمیزی ژل با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید و آشکارسازی بندها زیر نور UV انجام گرفت.

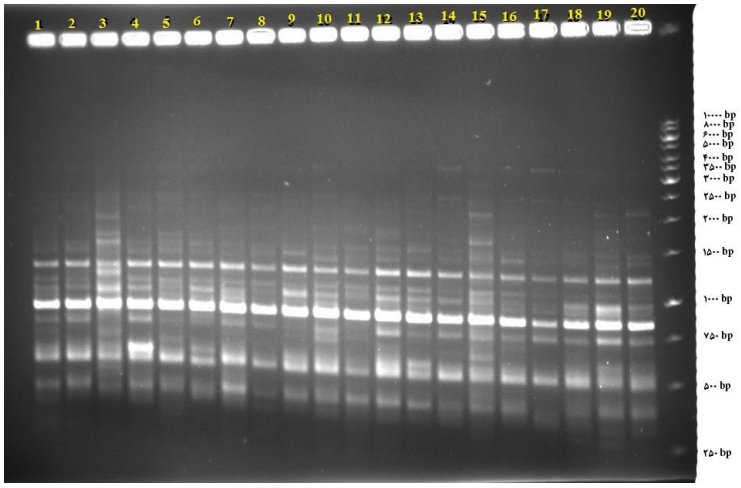
برای بررسی چندشکلی بین جمعیت‌ها، حضور و عدم حضور هر بند با اعداد یک و صفر مشخص شدند. برای بررسی محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها از پارامتر (Polymorphism Information Content) PIC استفاده شد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی براساس رابطه $PIC_i = 2f_i (1 - f_i)$, محاسبه شد که در این رابطه f_i برابر فراوانی وجود بند و $(1 - f_i)$ فراوانی عدم جود بند است (Choudhary et al. 2019). شاخص نشانگری (Marker Index) MI که بیانگر میزان چندشکلی بوده و می‌تواند به‌عنوان شاخصی جهت برآورد کارایی یک نشانگر در یک ژرم‌پلاسم ناشناخته استفاده شود، با استفاده از رابطه $MI = PIC \times n_p \times \beta$ محاسبه که در این رابطه n_p تعداد کل بندهای چندشکل و β نسبت تعداد بند چندشکل به تعداد کل بندها می‌باشد (Powell et al. 1996). شاخص نسبت چندگانه مؤثر (Effective multiplex ratio=EMR) از رابطه $EMR = N_P \times \beta$ به‌دست آمد (Kumar and Kumar Gupta 2008). گروه‌بندی جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و معیار تشابه جاکارد انجام گرفت. مناسب بودن روش تجزیه خوشه‌ای با محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک تعیین شد، به‌طوری که مقدار چشمگیر و معنی‌دار این همبستگی برای انتخاب روش مناسب مورد توجه قرار گرفت. برای مشخص شدن روابط میان جمعیت‌های مورد بررسی، تشابه میان جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS23 به روش دایس محاسبه شده و سپس با استفاده از روش مقیاس بندی چندبعدی روابط میان جمعیت‌ها بر روی بای‌پلات دو بعدی نشان داده شد. برای محاسبات یاد شده از نرم‌افزارهای NTSYS-pc 2.0 (Rohlf 1987)، EXCEL و SPSS.23 استفاده شد.

نتایج و بحث

در این بررسی از مجموع ۱۰ آغازگر ISSR به‌کار رفته، ۸ عدد از آن‌ها بندهای واضح و چندشکل تولید کردند. در مجموع ۱۱۱ بند امتیازدهی شدند که ۸۰ بند چندشکل بودند. تعداد بندها از یک بند برای آغازگر P19 تا ۱۶ بند برای آغازگر P24 متغیر بود که بیانگر قدرت این آغازگرها در تفکیک جمعیت‌ها بود (جدول ۳). الگوی بندبندی ISSR با استفاده از آغازگر P24 در شکل ۱ ارائه شده است.

درصد چندشکلی برای هر آغازگر از ۸/۳۳ درصد برای آغازگر P19 تا ۱۰۰ درصد برای آغازگر P18 متغیر بود. متوسط تعداد کل بندها و متوسط تعداد بندهای چندشکل برای هر آغازگر به‌ترتیب ۱۳/۶۳ و ۱۰ بند بود. میانگین درصد چندشکلی به‌دست آمده در این تحقیق (۷۲/۱۸ درصد)، تنوع ژنتیکی بالای ژنوتیپ‌ها را توجیه می‌کند (جدول۳). در این پژوهش، بیشترین میزان شاخص نسبت چندگانه مؤثر (EMR) برای آغازگر P24 بود که بیانگر تعداد بیشتر بندهای چند شکل در این آغازگر است (Varshney et al. 2007) (جدول ۳).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۱- آغازگر شماره P24 با ایجاد ۱۶ باند بیشترین تعداد باند را در جمعیت های گشنیز مورد بررسی نشان داد.

همچنین بیشترین میزان شاخص نشانگر (MI) در آغازگر P18 مشاهده شد که کارایی خوب این آغازگر را نسبت به سایر آغازگرها نشان می‌دهد که زیاد بودن میزان آن نشان‌دهنده تعداد بیشتری باند چندشکل و فراهم کردن اطلاعات بیشتری از ژنوم است (Spooner et al. 2005) (جدول ۳). برای بررسی قدرت تفکیک نشانگرها در نمایش چندشکلی در یک جمعیت، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای هر نشانگر محاسبه شد. بیشترین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) را آغازگر P2 با ۰/۳۵و کمترین آن را آغازگرهای P12 با مقدار ۰/۲ به خود اختصاص دادند که بیانگر آن است که آغازگر P2 دارای اطلاعات مفید بیشتری نسبت به سایر آغازگرهای مورد بررسی بود و پراکندگی مناسبی در کل ژنوم ارقام مورد بررسی داشته است (جدول ۳). میزان اطلاعات چندشکلی، یکی از شاخص‌های مهم جهت مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز آن‌ها به‌شمار می‌رود. مقادیر بالای این شاخص بیانگر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری است که در تفکیک و تمایز افراد نقش مهمی دارد. بنابراین، نشانگرهایی با محتوای اطلاعات چندشکلی بالا برای تمایز ژنوتیپ‌های با خویشاوندی نزدیک مفید هستند (Shazdehahmadi and Kharrazi 2016). لذا می‌توان آغازگر P2 را برای بررسی‌های آتی تنوع ژنتیکی در گشنیز توصیه نمود. در پژوهشی بر روی ۲۵ جمعیت گشنیز با استفاده از ۲۸ آغازگر ISSR، از مجموع ۱۹۳ باند، تعداد ۱۴۲ باند چندشکلی نشان دادند، و بیشترین و کمترین میزان درصد چندشکلی به‌ترتیب ۱۰۰ و ۳۳/۳ درصد با متوسط ۷۳/۵۷ درصد مشاهده شد (Tomar et al. 2014). همچنین در بررسی تنوع ژنتیکی ۲۴ جمعیت گشنیز با استفاده از ۹ آغازگر ISSR، بیشترین، کمترین و همچنین میانگین PIC به‌ترتیب، ۰/۶۷، ۰/۱۵ و ۰/۴۵ مشاهده شد. مقدار پایین PIC به‌دست آمده توسط برخی از نشانگرهای ISSR ممکن است به‌دلیل تعداد کم جایگاه ISSR مورد مطالعه باشد. نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است (Pirseyedi et al. 2010; Soriano et al. 2011). میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی بیانگر کارایی بالای نشانگرهای مورد استفاده در بین افراد بود. همچنین در بررسی دیگر تنوع ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ گشنیز با استفاده از ۱۴ جفت پرایمر RAPD بررسی شد که در مجموع ۴۸ مکان نشانگری چندشکل مشاهده شد که تعداد کل بندهای چندشکل بین ۳ و ۱۱ با میانگین ۷ نشانگر به ازای هر آغازگر بود (Sharma et al. 2019).

بالا بودن میزان PIC در بعضی از آغازگرهای مورد استفاده نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌باشد که نشان‌دهنده سودمندی این آغازگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی گشنیز می‌باشد و به‌دلیل میزان بالای PIC برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گشنیز مفید خواهند بود. مقادیر شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) از صفر تا نیم در نشانگرهای غالب متغیر است و میزان بیشتر این شاخص نشان‌دهنده قابلیت بالای آغازگر مورد استفاده در غربالگری ژنوتیپ‌ها می‌باشد (Serrote et al. 2019).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

برای بررسی ساختار جمعیت‌های گشنیز و روابط میان آن‌ها، تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به شکل ۲، اغلب جمعیت‌های مختلف گشنیز به‌صورت پراکنده کنار هم در یک گروه قرار گرفتند که این امر نشان‌دهنده عدم مطابقت فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های مختلف گشنیز با منشأ جغرافیایی بود. نتایج مشابه مبنی بر عدم تطبیق منشأ جغرافیایی با تنوع ژنتیکی پیش از این نیز در پژوهش Suresh et al. (2012) در ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های شوید با استفاده از نشانگر RAPD، مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی توده‌های ریحان با استفاده از نشانگر ISSR (Aghaei et al. 2012) و بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های کدوی کاغذی با استفاده از نشانگرهای ISSR (Amiri et al. 2017) به‌دست آمده است. در گونه‌های دگرگشن به‌دلیل وجود جریان ژنی بالا میان زیرجمعیت‌ها، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها کم‌تر بوده و در عوض تنوع درون جمعیت بیشتر است. تفاوت مشاهده شده ممکن است در اثر انتخاب، سازگاری، مهاجرت، رانش ژنتیکی و روش‌های گرده‌افشانی باشد (Bahari et al. 2015). همچنین ارتباط بین نشانگرهای ISSR و نواحی رمزکننده و غیر رمزکننده ژنوم در این امر بی‌تأثیر نیست؛ از آن‌جایی که نشانگرهای ISSR جز نشانگرهای نیمه تصادفی بوده و بر نواحی غیر رمز کننده متکی هستند، این عدم مطابقت الگوی گروه‌بندی با منشأ جغرافیایی، شاید به‌دلیل تکثیر مناطق غیررمزکننده توسط آغازگرهای ISSR باشد (Roldan Ruiz et al. 2011).

در این ارزیابی، تشابه ژنتیکی جمعیت‌ها با استفاده از نشانگر ISSR و بر اساس ضریب تشابه جاکارد از ۰/۳۹ تا ۰/۹۵ در نوسان بود. بیشترین شباهت بین جمعیت‌های همدان و زنجان ۱ و کمترین شباهت بین جمعیت حمیدیه با سایر جمعیت‌ها مشاهده شد. در برنامه‌های به‌نژادی، برای دست‌یابی به هتروزیس بالا، استفاده از موادی که دارای کمترین خویشاوندی و بیشترین فاصله ژنتیکی باشند، توصیه شده است.

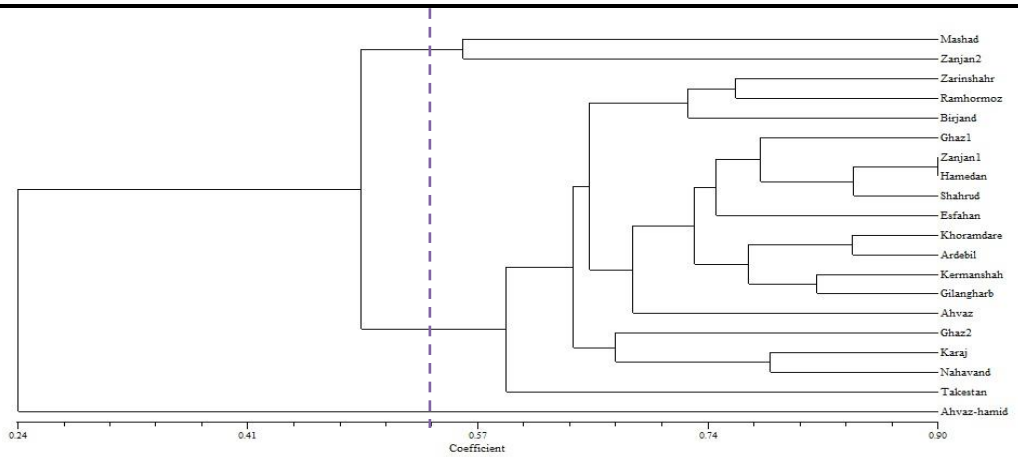
استفاده از چنین والدینی موجب بروز تنوع بیشتر می‌شود و امکان تجمیع صفات مطلوب از منابع مختلف در نتاج فراهم شده آسیب‌پذیری ژنتیکی افراد حاصل از تلاقی کاهش می‌یابد (Yang et al. 2005). بنابراین می‌توان با تلاقی بین جمعیت‌هایی که در گروه‌های دور از هم قرار گرفته‌اند، نتاج نوترکیب متجاوز جهت انتخاب در برنامه‌های به‌نژادی تولید کرد.

جدول ۳- آغازگرهای ISSR مورد استفاده و جزئیات مربوط به شاخص‌های تنوع الگوهای بندی به‌دست آمده از هر آغازگر

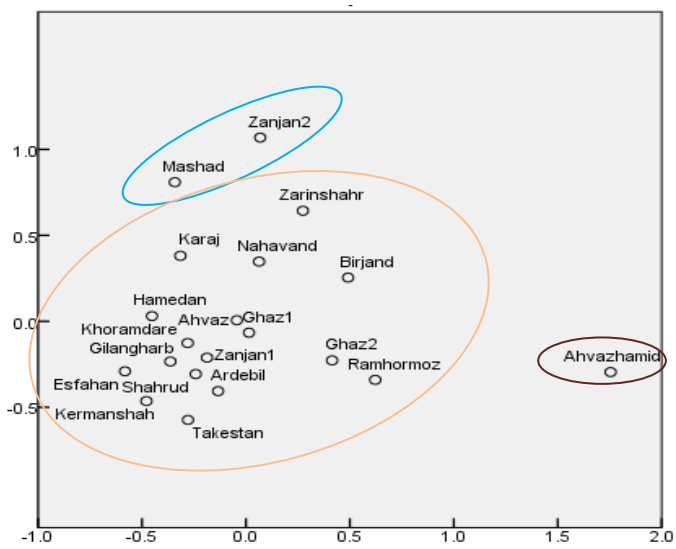
نام آغازگر	NPB	TNB	% Polymorphism	PIC	MI	EMR
ISSR-P2	۸	۱۰	۸۰	۰/۳۵	۲/۷۹	۶/۴۰
ISSR-P12	۱۰	۱۳	۷۶/۹۲	۰/۲۰	۲/۰۱	۷/۶۹
ISSR-P16	۱۱	۱۵	۷۳/۳۳	۰/۲۴	۲/۶۰	۸/۰۷
ISSR-P18	۱۴	۱۴	۱۰۰	۰/۲۴	۳/۳۵	۱۴
ISSR-P19	۱	۱۲	۸/۳۳	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۰۸
ISSR-P20	۱۰	۱۵	۶۶/۶۷	۰/۲۱	۲/۱۳	۶/۶۷
ISSR-P25	۱۰	۱۲	۸۳/۳۳	۰/۳۰	۲/۹۵	۸/۳۳
ISSR-P24	۱۶	۱۸	۸۸/۸۹	۰/۲۹	۴/۶۵	۱۴/۲۲
میانگین	۱۰	۱۳/۶۳	۷۲/۱۸	۰/۲۶	۲/۵۹	۸/۱۸

تعداد بندهای چندشکل NPB:Number of polymorphic bands، تعداد کل بندها TNB: Total number of bands، درصد چندشکلی %Polymorphism، محتوای اطلاعات چندشکلی PIC: Polymorphic information content، شاخص نشانگر MI: Marker Index، شاخص نسبت چندگانه مؤثر EMR: Effective Multiplex Ratio

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل ۲- دندروگرام مربوط به گروه‌بندی ۲۰ جمعیت گشنیز با استفاده از نشانگرهای ISSR



شکل ۳- نمودار پراکنش دوبعدی جمعیت‌های گشنیز مورد بررسی با استفاده از ماتریس تشابه

به‌منظور تعیین روابط ژنتیکی بین جمعیت‌ها، میزان تشابه ژنتیکی در بین جمعیت‌ها توسط ماتریس تشابه به روش دایس صورت گرفت. نمایش پراکنش جمعیت‌ها در شکل ۲ با نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای منطبق بوده به‌طوری که تجمع جمعیت‌های مربوط به گروه دوم در یک ناحیه مشخص از پلات کاملاً مشخص و گویاست. همچنین جمعیت حمیدیه به‌صورت مجزا از سایر جمعیت‌ها قرار گرفته و بیشترین فاصله را با سایر جمعیت‌ها دارد که با بررسی لوکوس‌ها مشخص شد که در بین ۸۰ لوکوس، این جمعیت در ۱۴ مورد با سایر جمعیت‌ها متفاوت هست و همین تفاوت باعث قرار گرفتن جمعیت حمیدیه در یک گروه مجزا شده است.

به‌طور کلی، با استفاده از نشانگر ISSR تنوع قابل ملاحظه‌ای در بین جمعیت‌های مورد بررسی مشاهده شد و چندشکلی مطلوبی براساس این نشانگر مشاهده شد. آغازگرهای P2 با دارا بودن بیشترین PIC به‌عنوان بهترین آغازگر جهت بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گشنیز معرفی شد، و استفاده از این آغازگر در مطالعات آتی تنوع ژنتیکی گشنیز توصیه می‌شود.

منابع

Aghaei M, Darvishzadeh R, Hassani A (2012) Molecular characterization and similarity relationships among Iranian basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions using inter simple sequence repeat markers. Revista Ciencia Agronomica 432:312-320.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Amiri P, Ismaili A, Hadian J (2017) Evaluation of Genetic Diversity of Styrian Pumpkin (*Cucurbita pepo* var. styriaca) Populations , Using ISSR Molecular Markers. Plant Genetic Researches 4:17-28.

Akcali Giachino RR (2019) Investigation of the genetic variation of anise (*Pimpinella anisum* L.) using RAPD and ISSR markers. Genetic Resources and Crop Evolution 67:1-18.

Bahari Z, Shojaeiyan A, RashidiMonfared S, Mirshekari A, Nasiri KH, Amirian M (2015) Investigation of Genetic Diversity Among Some Iranian Dill (*Anethum graveolens* L.) Landraces, Using ISSR Markers. Plant Genetic Researches 2:11-22.

Bornet B, Branchard M (2001) Nonanchored inter simple sequence repeat (ISSR) marker: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Molecular Biology Reporter 19:209- 215.

Choudhary S, Sharma R, Jethra G, Vishal MK, Tripathi A (2019) Molecular diversity in coriander (*Coriandrum sativum*) using RAPD and ISSR markers. Indian Journal of Agricultural Sciences 89:193-198.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. Focus 12:13-15.

Farajpour M, Ebrahimi M, Amiri R, Golzari R, Sanjari S (2012) Assessment of genetic diversity in *Achillea millefolium* accessions from Iran using ISSR marker. Biochemical Systematics and Ecology 43:73-79.

Eghlima G, Kheiry A, Sanikhani M, Hadian J, Aelaei M (2021) Study of Genetic Diversity of *Glycyrrizha glabra* L. Populations Using ISSR Molecular Markers. Plant Genetic Researches 8:81-94.

Emamghoreishi M, Khasaki M, Aazam MF (2005) Evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. Journal Ethno Pharmacology 96:365-370.

Kumar J, Kumar Gupta P (2008) Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. Plant Biotechnology Reporats Journal 2:93-112.

Ma JK, Drake PM, Christou P (2003) The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. Nature Reviews Genetics 4:794-805.

Msaada K, Hosni K, Taarit MB, Chahed T, Kchiuk M, Marzouk B (2007) Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. Food Chemistry 102:1131-1134.

Micića D, Ostojića S, Pezoa L, Blagojevića S, Pavlićb B, Zekovićb Z, Đurovića S (2019) Essential oils of coriander and sage: investigation of chemical profile, thermal properties and QSRR analysis. Industrial Crops and Products 138:111438.

Obaleye OE, Adeyemo OA, Osibote EA, Micheal O (2023) Ibrahim.Chemical Analysis of Essential Oil and Genetic Diversity Using ISSR and SSR Markers in Cultivated Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Accessions. African Scientist 24.

Pirseyedi SM, Valizadehghan S, Mardi M, Ghaffari MH, Mahmoodi P, Zahravi M, Zeinalabedini M, Khayam Nekoui SM (2010) Isolation and Characterization of novel pir markers in pomgranate (*Punica granatum* L.) International Journal of Molecular Science 11:2010-6.

Powell W, Margenta M, Andre C, Hanfrey M, Vogel J, Tingey S, Rafalsky A (1996) The utility of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.

Rahimmalek M, Bahreininejad B, Khorrami M, Tabatabaes BES (2009) Genetic Variability and Geographic Differentiation in *Thymus daenensis* subsp. daenensis, an Endangered Medicinal Plant, as Revealed by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. Biochemical Genetics 47:831-842.

Roldan Ruiz FA, Gilliland TJ, Dubreuil P, Dillmann C, Lallemand J (2001) A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. Theoritical and Applied Genetics 103:1138-1150.

Rohlf FJ (1998) NTSYSpc .Numerical Taxonomy and Multivariate AnalysisSystem (Version 2.0) User Guide. Applied Biostatistics Inc.,3 Heritage Lane, Setauket, New York.

Salami M, Rahimmalek M, Ehtemam MH (2017) Genetic variability of outcross and selfed fennel based on morphological and ISSR markers, Journal of Agricultural Science and Technology 19:157-172.

Serrote C, Reiniger L, Silva KB, Rabaiolli S, Stefanel CM (2020) Determining the Polymorphism Information Content of a Molecular Marker. Gene 726:144175.

Shahabzadeh Z, Mohammadi R, Darvishzadeh R, Jaffari M (2019) Genetic structure and diversity analysis of tall fescue populationsby EST-SSR and ISSR markers. Molecular Biology Reports.

Sharma A, Rajpurohit D, Jain D, Verma P, Joshi A (2019) Molecular characterization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) genotypes using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 8:4770-4775.

Shazdehahmadi M, Kharrazi M (2016) Application of ISSR molecular markers for genetic diversity study of some tobacco genotypes. Plant Genetic Researches 2:33-46. (In Farsi)

Soriano JM, Zuriaga E, Rubio P, Llacer G, Infante R, Badenes ML (2011) Development and characterization of microsatelite markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). Molecular Breeding 27:19-128.

Spooner D, van Treuren R, de Vicente MC (2005) Molecular markers for genebank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. International Plant Genetic Resources Institute (now Bioversity International, Inc.), Rome, Italy.

Suresh S, Chung JW, Sung JS, Cho GT, Park JH, Yoon MS, Kim CK, Baek HJ (2012) Analysis of genetic diversity and population structure of 135 dill (*Anethum graveolens* L.) accessions using RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 60:893-903.

Terzopoulos PJ, Bebeli PJ (2008) Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba* L.) with ISSR markers. Field Crops Research 108:39-44.

Tomar RS, Parakhia MV, Rathod VM, Thakkar JR, Golakiya BA (2014) A Comparative analysis of ISSR and RAPD markers for studying genetic diversity in Trigonella

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

foenum-graecum genotypes. Research Journal of Biotechnology 9:89-95.
Tomar Rukam S, Kulkarni GU, Parakhia MV, Thakkar JR, Rathod VM, Solanki RK, Golakiya BA (2014) Genetic diversity analysis in coriander (*Coriandrum sativum)* genotypes through morphological and molecular characterization. Research Journal Biotechnologi 9:1-11.
Tulsani NJ, Hamid R, Jacob F, Umretiya NG, Nandha AK, Tomar RS, Golakiya BA (2020) Transcriptome landscaping for gene mining and SSR marker development in Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Genomics 112:1545-1553.
Varshney RK, Chabane K, Hendre PS, Aggarwal RK, Graner A (2007) Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. Plant Science 173:638-649.
Yadav C, Malik CP (2018) Genetic Variation among Fennel (*Foeniculum vulgare Mill*.) Varieties on the basis of Essential Oil Composition and Molecular Markers (ISSR, SCoT, CDDP and CBDP). Journal of Plant Science and Research 34:45-50.
Yang BC, Xiao BG, Chen XJ, Shi CH (2005) Genetic diversity of flue-cured tobacco varieties based on ISSR markers. Yi Chuan-Hereditas 27:753-758.
Yang YX, Wu W, Zheng YL, Chen L, Liu RJ, Huang CY (2007) Genetic diversity and relationships among safflower (*Carthamus tinctorius* L.) analyzed by inter simple sequence repeats (ISSRs), Genetic Resources and Crop Evolution 54:1043-1051.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]