

مقاله پژوهشی

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گون سفید (*Astragalus gossypinus* Fisher) در استان اصفهان

زهرا دهدشتیان^۱، محمدرضا وهابی^۱، محمد فضیلتی^۲، کامران قائدی^{۳*}، احمد سلامیان^۴

۱- گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

۲- گروه بیوشیمی، دانشکاه پیام نور، تهران، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

۴- گروه مهندسی ژنتیک، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، اصفهان

چکیده

کشور ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز مهم تنوع گونه‌های گون می باشد. گونه گون سفید (*Astragalus gossypinus*)، که مولد کثیرا است به خانواده پروانه‌آسا (*Papilionaceae*) تعلق دارد و عمدتا در قاره آسیا انتشار دارد. ارتفاعات البرز و زاگرس مهمترین رویشگاه‌های گون‌های مولد کثیرا در ایران هستند. رویشگاه‌های گون در استان اصفهان حدود ۳۱/۳ درصد از سطح این استان را تشکیل می‌دهند. گون سفید از نظر ریخت شناسی و اکولوژیکی بررسی شده است. در این تحقیق خصوصیات ژنتیکی جمعیت‌های گون سفید در گون زارهای غرب استان اصفهان بررسی و مقایسه می‌شود، از این مقایسه می توان در اصلاح نژاد، تولید و افزایش پایه‌های گون با کیفیت کثیرای بالا، احیای رویشگاه‌های تخریب شده یا توسعه رویشگاه‌های گون استفاده کرد. به این منظور نمونه‌های گون سفید از شش مکان در گون زارهای استان اصفهان جمع‌آوری شد و ژنوم گیاهی با روش CTAB استخراج و کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل الکتروفورز بررسی شد. پس از انجام واکنش PCR بر روی قسمتی از ژن CNGC4، محصولات PCR سکانس شد. نتایج حاصل از ترادف بین نوکلئوتیدها و باندهای نوکلئوتیدی بر روی الکتروفورز، تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های گون سفید را نشان داد. با توجه به تشابه ژنتیکی، جمعیت‌های گون سفید به عنوان یک ژنوتیپ معرفی می‌شوند. بنابراین بروز هر گونه تغییر در صفات کمی و کیفی محصول کثیرای گون سفید را می‌توان به تغییرات شرایط زیستی گونه مورد مطالعه نسبت داد. واژگان کلیدی: گون سفید؛ تنوع ژنتیکی؛ واکنش زنجیره پلیمرز؛ ترادف یابی DNA.

مقدمه:

کشور ایران با دارا بودن تنوع آب و هوایی گسترده و ذخایر ژنتیکی گیاهی فراوان به عنوان یکی از غنی‌ترین کشورها از نظر امکانات و استعدادهای طبیعی بشمار می‌رود. به دلیل از دست رفتن بسیاری از ژن‌های مفید و کاهش ذخایر ژنتیکی آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی

* کامران قائدی، PhD

گروه مهندسی ژنتیک، مرکز تحقیقات علوم سلولی، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان،

اصفهان، خیابان سلمان فارسی، خیابان مهر، کوچه شهید علیخانی، شماره ۳۷۱

تلفن: ۰۳۱۱-۲۶۱۳۹۰۰

پست الکترونیک: kamranghaedi@royaninstitute.org

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۹

اهمیت زیادی دارد. تنوع ژنتیکی بیانگر تفاوتها و تنوع ژنها در درون یک گونه است. تنوع در سایر سطوح از تنوع ژنتیکی آغاز می‌شود که از جهش‌های تصادفی که در سطح مولکول‌ها اتفاق می‌افتد، منشأ می‌گیرد و به معنی تنوع در ترکیب ژنتیکی موجود در درون جمعیت‌ها یا گونه‌های گیاهان و جانوران است. بررسی تنوع ژنتیکی نقش مهمی در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود گیاهان ایفا می‌کند و کمک شایانی به پیشبرد برنامه‌های تحقیقاتی خواهد کرد(۱).

از آنجا که ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز مهم تنوع گونه‌های گون می‌باشد، بررسی تنوع ژنتیکی گون نیز امر بسیار مهمی است(۲).

1. <http://hortscience.blogfa.com/8902.aspx>

bibullatus را با استفاده از تکنیک AFLP بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که مارکرهای DNA مورد استفاده برای مطالعات ژنتیکی در گونه های کمیاب جهت آشکار کردن سطوح دست یافتنی زیربنای ژنتیکی آنها با گونه های نسبتاً مشابه مفید هستند (۵). جنس گون^۴ از خانواده پروانه آسا^۵ جزء بزرگترین جنس های گیاهان گلدار با دارا بودن حدود ۲۵۰۰ گونه است (۲). از میان گونه های مختلف گون، گونه گون سفید^۶ که مولد کثیرا است به زیرجنس تراگاکانت^۷ تعلق دارد. گون سفید در کشورهای ایران، عراق، ترکیه، لبنان و سوریه در قاره آسیا انتشار دارد. مهمترین رویشگاه های گونه های گون مولد کثیرا در مناطق کوهستانی منطقه ایران و توران (مثل ارتفاعات البرز و زاگرس) واقع است (۳).

رویشگاه های گون در استان اصفهان حدود ۳۱/۳ درصد از سطح این استان و حدود ۵۱/۳ درصد از سطح مراتع آنرا تشکیل می دهد (۲). گونه های گیاهی دارویی و صنعتی با تولید ترکیبات شیمیایی آلکالوئیدها، اسانسهای فرار، صمغها و مانهای گیاهی بخش مهمی از فلور ایران را تشکیل می دهند که متأسفانه بسیاری از این گونه ها بر اثر چرای بی رویه و مفرط دام و بهره برداری های نامناسب و بیش از حد در معرض انقراض و نابودی قرار گرفته اند (۱).

از آنجا که شرط اصلی در شناسایی و معرفی گیاهان ناشناخته بومی و مفید مرئی، بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت پایه می باشد تا شناس انتخاب افزایش یافته و امکان یافتن صفات مطلوب بیشتر گردد (۲). می توان با توجه به نتایج حاصل از این بررسی، جمعیت های ژنتیکی گون سفید را از نظر خصوصیات شیمیایی کثیرای سفید با هم مقایسه کرد و از نتایج آن در اصلاح نژاد، تولید و افزایش گون هایی با کیفیت کثیرای بالا استفاده کرد. جمعیت های ممتاز شناسایی شده از این روش را می توان برای احیای رویشگاه های تخریب شده و یا توسعه رویشگاه های گون به کار برد.

مواد و روش ها:

۱- جمع آوری نمونه

ابتدا نمونه های گون سفید از شش مکان در غرب استان اصفهان (جدول

1. Isozymes
2. cyclic nucleotide gated channel-like
3. *Astragalus* L.
4. Papilionaceae
5. *Astragalus gossypinus*
6. *Tragacantha* Bunge

مطالعات زیادی در سال های اخیر در ارتباط با خصوصیات ژنتیکی گون ها در ایران و نقاط مختلف دنیا صورت گرفته که به برخی از آنها اشاره می شود:

زارع و همکاران (۲۰۰۴) تنوع ایزوزیم های^۲ آنزیم های مالات دهیدروژناز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز را در بعضی از جمعیت های گونه بومی *Astragalus submitis* در ایران مطالعه کردند. در این بررسی افراد متعلق به ۹ جمعیت این گونه بررسی شد و نتیجه گرفتند که گونه عنوان یک Taxon جداگانه در نظر گرفت که این یافته با داده های مرفولوژیکی نیز مطابقت داشت (۱۱).

الکساندر اندرو (۲۰۰۴) تنوع ژنتیکی گونه *Astragalus oniciformis* را با استفاده از نشانگر ISSR بررسی کرد. نتایج نشان داد که خطرات موجود برای این گونه مثل تغییر الگوی آتش سوزی و کاهش رویشگاه این گونه در اثر چرا، روی تنوع ژنتیکی گونه ها تأثیری ندارد. حفاظت جمعیت های بزرگ و کوچکتر، مداخله کردن و پراکنده کردن لکه های گیاهی، تنوع ژنتیکی و یکپارچگی ژنتیکی را در گونه *Astragalus oniciformis* حفظ خواهد کرد (۴).

میکائیل ساندرسون و همکاران (۲۰۰۵) فیلوژنی گون های جهان جدید (آمریکا و کانادا) را بررسی کردند. در این مطالعه روش هایی را برای استفاده از اطلاعات جمع آوری شده از تکنولوژی های ژنتیکی برای درک ارتباط تکاملی در لگومها به خصوص گون های جدید کشف کردند. برای اینکار مکان های ژنی جدید را برای نوسازی فیلوژنی در سطوح تاگزونومی آزمایش کردند و پی بردند که از بین ۱۰ مکان ژنی آزمایش شده یکی از آنها به نام CNGC^۴ تنها یکبار کپی می شود و می تواند به طور مستقیم برای آنالیزهای فیلوژنتیک استفاده شود (۷).

زارع و همکاران (۲۰۰۷) با توجه به تنوع ایزوآنزیم های آنزیم های پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز در دو گونه *Astragalus gossypinus* و *Astragalus persicus* در ایران بر اساس روش خوشه بندی UPGMA، دو خوشه جداگانه را برای هر دو گونه در نظر گرفتند که نشان دهنده جمعیت های موجود این دو گونه در دو رشته کوه البرز و زاگرس بود. هم چنین نتیجه گرفتند که این دو گونه تنوع بالایی را در بین گونه های گون (بر اساس شاخص تنوع شانون و ویور یا H^۲) نشان می دهند (۱۰).

کارول و همکاران (۲۰۰۹) ژنتیک جمعیت های *Astragalus*

جدول ۱ - آمار مشخصات جغرافیایی و محیطی مکان‌های مورد مطالعه گون سفید در غرب استان اصفهان

شماره مکان	مکان	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (m)	بارش سالیانه (mm)	متوسط درجه حرارت حداقل و حداکثر سالیانه (C°)	اقلیم (طبقه‌بندی دومارتن)	اقلیم (طبقه‌بندی پاپو)
۱	رحمت آباد (خوانسار)	۵۰° ۱۹' E	۳۳° ۱۳' N	۲۲۵۰	۳۵۴	-۱۲, +۲۴	نیمه خشک	نیمه استپی
۲	قلعه جمال (گلپایگان)	۵۰° ۱۷' ۵۵/۸" E	۳۲° ۲۷' ۵۳/۸" N	۱۸۱۸	۳۰۰	-۲۱, +۳۷	نیمه خشک	نیمه استپی
۳	بتلیجه (فریدن)	۵۰° ۲۵' E	۳۲° ۵۸' ۴۵" N	۲۳۹۰	۳۵۰	-۱۸, +۲۵	نیمه خشک	نیمه استپی
۴	هندوکش (فریدن)	۵۰° ۵' ۲۷" E	۳۳° ۱۵' ۵۵" N	۲۲۱۰	۳۵۱/۵	۰, +۱۱	نیمه خشک	نیمه استپی
۵	موسی آباد (تبران و کرون)	۵۱° ۹' ۶/۸" E	۳۲° ۴۲' ۱۳" N	۱۸۶۰	۲۳۰	-۴/۵, +۳۵/۲	نیمه خشک	استپی سرد
۶	لنجان	۵۱° ۱۹' ۱۳" E	۳۲° ۲۳' N	۱۶۸۵	۱۵۰	-۱۰, +۳۸	خشک	استپی سرد

۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ الکل را خارج کرده و نمونه‌ها زیر هود قرار گرفتند تا الکل موجود در آنها خارج شود. وقتی نمونه‌ها کاملاً خشک شدند آب مقطر تزریقی به آن‌ها اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا حل شده و سپس در دمای ۲۰- درجه نگهداری گردیدند.

جهت مشاهده DNA، ۲ میکرولیتر از بافر Loading dye و ۳ میکرولیتر از نمونه DNAهای استخراج شده با هم مخلوط شده و پس از انتقال و جدا شدن نمونه‌ها بر روی ژل، در دستگاه Gel documentation عکس‌برداری از آن انجام گرفت. از Ladder ۱۰۰bp نیز به عنوان شاهد استفاده شد.

۳- طراحی آغازگر اختصاصی و واکنش PCR
تکثیر قسمتی از DNA مرتبط با ژن (AW126067) (CNGC4(cyclic nucleotide gated channel-like)) با استفاده از دو آغازگر رفت و برگشت طراحی شده با نرم افزار Oligo6 صورت پذیرفت. این قسمت از DNA بر اساس توالی Expressed Sequence Tag (EST)(AW126067) (Medicago truncatula) انتخاب شد (۷).

توالی آغازگرهای استفاده شده در جدول ۲ نشان داده شده است. برای مشخص شدن دمای اتصال بهینه ابتدا یک Gradient PCR طراحی شد و دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد بعنوان بهترین دمای اتصال بدست آمد.

واکنش PCR با ۱ میکرولیتر از DNA ژنومی استخراج شده، ۵ پیکومول پرایمرهای رفت و برگشت (شرکت مبین آزما طب) و با برنامه

(۱) در اواسط تیرماه و در مرحله رشد رویشی گیاه جمع‌آوری شد. نمونه‌های برداشت شده شامل برگهای گون سفید بودند. برگهای جمع‌آوری شده در مرتع در فویل‌های آلومینیومی قرار گرفت و روی یخ قرار داده شدند؛ نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا زمانی که DNA آنها استخراج گردید.

۲- استخراج DNA

استخراج DNA از برگ گون با روش CTAB انجام شد (۶). بدین شرح که ابتدا حدود ۲-۱ گرم از برگهای گون جدا و قطعه قطعه شدند، سپس برگهای خرد شده در ازت مایع منجمد و داخل هاون ساییده تا به پودر تبدیل شدند.

سپس پودر حاصله داخل میکروتیوب ریخته شد و ۸۰۰ میکرولیتر محلول استخراج DNA (شامل NaCl ۱/۴ میلی مولار، EDTA، ۲۰ میلی مولار، Tris ۱۰۰ میلی مولار، pH=۸، ۳٪ w/v CTAB) به آن اضافه شد. به ازای ۸۰۰ میکرولیتر محلول استخراج DNA، ۲ میکرولیتر مرکاپتو اتانول اضافه شد. پس از سانتریفیوژ محتویات میکروتیوب در ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه و انتقال مایع رویی به تیوب جدید، به آن محلول کلروفرم-ایزوامیل الکل اضافه و به مدت ۱ دقیقه به آرامی مخلوط شد.

پس از سانتریفیوژ مجدد تیوب‌ها در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه، مایع رویی جدا و به آن ایزوپروپانول سرد اضافه شد تا کلاف DNA تشکیل شود. نمونه‌ها در تیوب تا یک ساعت در یخ نگهداری شده، سپس در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی را جدا کرده و الکل ۷۰٪ به آن اضافه شد و مجدداً به مدت ۱ دقیقه در

۵ CLC Main Workbench استفاده گردید.

۵- تجزیه و تحلیل آماری:

برای نشان دادن تشابه و گروه‌بندی جمعیت‌های مورد مطالعه با گونه‌های رفرانس از روش طبقه‌بندی خوشه‌ای (Clustering) استفاده شد و نتایج به صورت نمودار درختی (Dendrogram) ارائه گردید. آنالیز خوشه‌ای با استفاده از نرم افزار CLC Main Workbench 5 انجام گردید

نتایج:

۱) خصوصیات رویشگاهی گون سفید:

همان‌طور که از شکل ۱ مشخص است خصوصیات رویشگاهی گون‌های

واسرشت سازی اولیه ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سانتیگراد، و سپس ۳۵ سیکل به ترتیب ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و سرانجام مرحله پایانی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (دستگاه Thermal cycler Eppendorf).

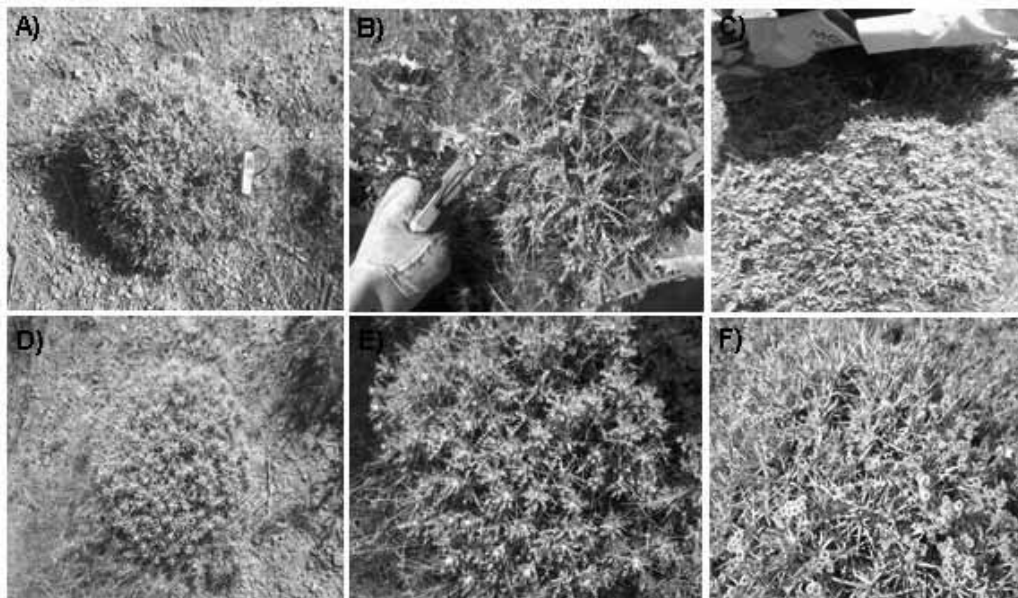
برای مشاهده DNA تکثیر شده از ژل آگاروز ۱/۵٪ استفاده و پس از الکتروفورز در دستگاه Gel documentation از ژل عکس‌برداری شد.

۴- مرحله توالی‌یابی

در این مرحله محصولات PCR جهت تعیین توالی به شرکت Alfa sequencing فرستاده شدند و توالی نوکلئوتیدها برای مقایسه کردن با هم آماده شدند. جهت مقایسه ترادف‌های مربوطه نیز از نرم افزار

جدول ۲- توالی پرایمرهای رفت و برگشت

نام ژن	Sequence 5'→3' (توالی پرایمر)	دمای TM (C°)
CNGC4.F	GCTACCTGATTACTTAAAACAAAGAATC	66/7
CNGC4.R	AAGAGCATTTCGTCCACTGG	68/7



شکل ۱: شمایی از ریخت‌شناسی گون‌های رشد یافته در رویشگاه‌های گون سفید در غرب استان اصفهان:

(A): رحمت آباد (خوانسار)، (B): قلعه جمال (گلپایگان)، (C): بتلیجه (فریدن)، (D): هندوکش (فریدن)، (E): موسی‌آباد (تیران)، (F): لنجان



عکس ۲- DNA استخراج شده از نمونه های برگ های جمع آوری شده گون: ۱- رحمت آباد خوانسار، ۲- قلعه جمال گلپایگان، ۳- هندوکش (فریدن) و ۴- موسی آباد (فریدن)

۳) بررسی ترادف های قطعه ژنی CNGC4 در نمونه های جمع آوری شده با دیگر گونه های گون:

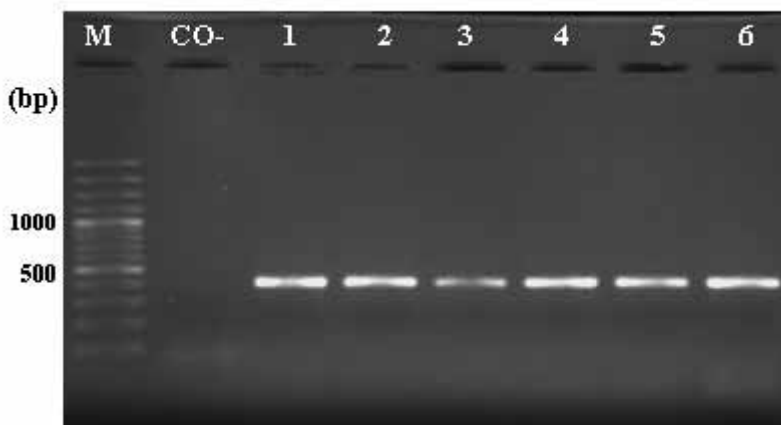
با توجه به اشکال مربوط به ژل الکتروفورز دیده شد که قطعات تکثیر یافته ژنی به دلیل یکنواختی از نظر توالی و تناوب بر روی ژل به صورت یکنواخت و با طول یکسان قرار گرفتند (شکل شماره ۳). همچنین ترادف یابی نمونه های مورد بررسی نشان داد که سکانس

رشد یافته در ۶ مکان مرتعی تقریباً با یکدیگر مشابهت دارند به طوری که این رویشگاهها تماماً در غرب استان اصفهان قرار گرفته اند و از لحاظ شرایط اقلیمی (میزان بارندگی و درجه حرارت) و فیزیوگرافی در محدوده مشابهی قرار دارند (جدول ۱).

با توجه به آمار جدول ۱ چنین استنباط می شود که رویشگاه های گون در غرب استان اصفهان در محدوده بارش سالیانه ۱۵۰ تا ۳۵۴ میلی متر، متوسط حداکثر درجه حرارت ۱۱ تا ۳۸ درجه سانتیگراد، متوسط حداقل درجه حرارت سالیانه ۲۱- تا ۴/۵- درجه سانتیگراد و در محدوده ارتفاعی ۱۶۸۵ تا ۲۳۹۰ متر از سطح دریا واقع هستند. این رویشگاهها به طور عمده از نظر طبقه بندی اقلیمی دوارتن در منطقه نیمه خشک و از نظر طبقه بندی پابو در منطقه نیمه استپی قرار دارند و به طور کلی دو رویشگاه تیران و کرون و رویشگاه لنجان دارای شرایط اکولوژیک گرمتر و خشک تر یا ارتفاع کمتر از سطح دریا در مقایسه با چهار رویشگاه دیگر هستند.

۲) بررسی DNA استخراج شده و تکثیر قطعه ژنی: CNGC4

شکل شماره ۲، DNA استخراج شده به روش CTAB را نشان می دهد. غلظتها به صورت میانگین ۲۴۷ نانو گرم بر میکرولیتر بود. با توجه به شکل از لحاظ میزان تحرک، همه نمونه های DNA با هم برابر هستند. بنابراین جهت بررسی بیشتر، نمونه های استخراج شده تکثیر و ترادف یابی گردید. طول محصول PCR بدست آمده ۴۰۰ bp بود.



1000500

شکل ۳- محصول PCR حامل قطعه ای از ژن CNGC4 (AW1۲۶۰۶۷)

M: نشانگر ۱۰۰bp DNA (Fermentas), CO⁻: نمونه کنترل منفی فاقد DNA، ۱ تا ۶: محصول PCR مربوط به نمونه های مورد مطالعه که محصول PCR آنها به ترتیب از گیاهان استخراج شده از مناطق جمع آوری شده بودند. (ژل آگاروز مورد استفاده ۱/۵٪)

بحث و نتیجه گیری:

مراتع ایران با وسعت ۸۶ میلیون هکتار، وسیع‌ترین عرصه حیاتی کشور را شامل می‌شوند. گون‌زارهای بالشتکی که پیکره ریختار پوششی ایران را تشکیل می‌دهند، حدود ۱۷ میلیون هکتار وسعت دارند و ۱۹٪ از سطح مراتع و ۱۰٪ از مساحت کل کشور را در بر می‌گیرند. با توجه به این که حدود ۸۰۰ گونه از جنس گون در ایران موجود است، بنابراین تنوع گون‌ها در ایران از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد.

گون‌ها علاوه بر فواید شناخته شده‌ای مانند پوشش بسیار مناسب جهت حفاظت خاک و جلوگیری از فرسایش، تولید صمغ کتیرا از گون‌های مولد آن، زنبورداری، تلطیف هوا، تنوع زیستی، ذخایر توارثی و سایر اثرات اجتماعی، اقتصادی بر مناطق رویش، از جنبه‌های زیست محیطی هم نظیر ترسیب مقادیر متناهی از کربن اتمسفر، حائز اهمیت فراوان می‌باشند. در این مطالعه همانند ساندرسون و همکاران (۲۰۰۵) جهت بررسی تنوع ژنتیکی گون سفید از ژن CNGC4 استفاده شد. ساندرسون ژن‌های مختلف را آزمایش کرده و دریافت که ژن CNGC4 فقط یک بار کپی شده و می‌تواند در آزمایشات فیلوژنتیک استفاده شود (۷).

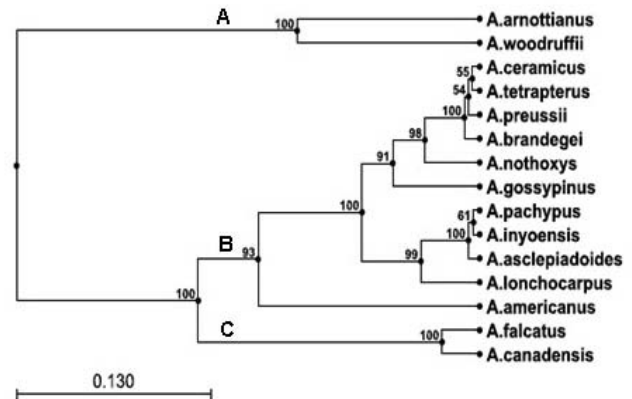
از آنجا که یکی از مراکز مهم رویش گون سفید در کشور در غرب استان اصفهان قرار دارد، مطالعه حاضر به بررسی جمعیت‌های گون سفید در غرب اصفهان محدود شد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که جمعیت‌های مختلف گون در غرب استان اصفهان از لحاظ ژنتیکی مشابهت دارد و هیچ گونه تنوع ژنتیکی در نمونه‌های گون موجود نیست. پژوهش‌های انجام گرفته توسط زارع و همکاران (۲۰۰۷) در دو منطقه البرز و زاگرس بر روی ایزوآنزیم گون سفید نیز نشان داد که گون سفید در این دو منطقه با هم متفاوتند (۱۰).

از طرفی نتایج گروه‌بندی ۱۵ گونه گون نشان داد که گون‌های مورد مطالعه در سه گروه A، B و C قرار گرفتند. گونه گون سفید نیز به همراه ۱۰ گونه گون در گروه B قرار داشت.

میکابیل ساندرسون و همکاران (۲۰۰۵) فیلوژنی گون‌های جهان جدید را بررسی کردند. این گون‌ها در بیابان‌ها و کوه‌های شمال و جنوب آمریکا به وفور یافت می‌شوند. در مطالعه انجام گرفته مکان‌های ژنی جدید آزمایش شدند و با استفاده از آنالیزهای غیر پارامتریک Bootstrap گون‌ها به دو گروه کلی تقسیم شدند (۷).

هم چنین ساندرسون و همکارانش مطالعه دیگری را در سال ۲۰۰۸



عکس ۴- نمودار درختی بدست آمده از آزمون بیشترین تشابه *Astragalus gossypinus* (Maximum likelihood) بین توالی‌های دیگر. اعداد نشان دهنده ارزش Bootstrap هستند. نمودار سه گروه A، B و C را نشان می‌دهد.

نوکلئوتیدهای قطعات تکثیر یافته ژنی (CNGC4(AW126067) در نمونه‌های مورد مطالعه با هم کاملاً مشابه بود ولی بررسی‌های انفورماتیک، اختلاف بارزی را بین توالی نمونه‌های مورد مطالعه با توالی نوکلئوتیدی نمونه‌های دیگر گون نشان داد. بر همین اساس نمودار درختی رسم شده نشان داد که شش نمونه جمع‌آوری شده *Astragalus gossypinus* توالی نوکلئوتیدی یکسانی داشته و بنابراین از نظر ژنتیکی مشابه هستند.

هم‌چنین در یک نمودار درختی گون‌های جمع‌آوری شده (A. *gossypinus*) با ۱۴ گونه گون دیگر از نظر ژنتیکی مقایسه شدند (شکل شماره ۴). نتایج حاصل نشان داد که با آنالیز غیر پارامتریک Bootstrap با معیار آستانه ۰/۱۳۰ سه گروه جداگانه از گون‌ها (A, B, C) مشاهده می‌شود.

گروه A شامل:

Astragalus arnottianus, *A. woodruffii*

گروه B شامل:

A. ceramicus, *A. tetrapterus*, *A. preussii*, *A. brandegei*, *A. nothoxys*, *A. gossypinus*,
A. pachypus, *A. inyoensis*, *A. asclepiadoides*, *A. lonchocarpus*, *A. americanus*

و گروه C شامل:

A. falcatus, *A. canadensis*

زاگرس می‌تواند به عنوان عامل تنوع ژنتیکی نقش ایفا کند یا خیر؟ با توجه به بررسی‌های انجام گرفته چنین استنباط می‌شود که شیب تغییرات محیطی به دلیل نسبتا یکنواختی و دامنه محدود اکولوژیک نتوانسته است باعث تمایز ژنتیکی و استقرار جمعیت‌های متفاوت گون سفید در ریشگاه‌های مورد مطالعه در منطقه زاگرس مرکزی ایران شود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که گون سفید دارای میدان اکولوژیک محدود بوده و هر گونه تغییر در صفات کمی و کیفی صمغ کتیرای گون سفید ناشی از تاثیر عوامل زیست محیطی بر فیزیولوژی و عملکرد گیاه گون است و ارتباطی به صفات ژنتیکی و مدیریت ژن گون‌ها ندارد.

تقدیر و تشکر:

نتایج حاضر از مطالعات پایان نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا دهدشتیان اقتباس گردید که با حمایت‌های مالی دانشگاه صنعتی اصفهان و کمک‌های تکنیکی پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری رویان صورت پذیرفت.

References

۱. جابر الانصار، ز، ۱۳۸۴. تنوع ژنتیکی کرفس کوهی با استفاده از خصوصیات کروموزومی و صفات جوانه زنی بذر. دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. معظم، ف، ۱۳۸۸. بررسی خصوصیات کروموزومی دو گونه مرعی *Astragalus cyclophyllus* و *Rheum ribes*. دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه صنعتی اصفهان.
۳. وهابی، م. ر، ۱۳۸۴. تعیین شاخص‌های موثر برای بهره‌برداری از دو گونه گون کتیرایی سفید و زرد در استان اصفهان. دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه تهران.
4. Andrew, A.J., Liston, A. and Popovich, S. J., 2004. Genetic diversity of the narrow endemic *Astragalus oniciformis* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 91(12):2004-2012.
5. Baskauf, C. J. and Burke, J. M., 2009. Population Genetics of *Astragalus bibullatus* (Fabaceae) Using AFLPs. *Journal of Heredity*, 100(4):424-431.
6. Ehsanpour, A. A., Tavassoli, M. and Arab, L., 2008. Sex determination of *Pistacia vera* using ISSR markers. *J Malays. Appl. Biol*, 37: 25-28.
7. Scherson, R. A., Choi, H., Cook, D. R. and Sanderson, M. J., 2005. Phylogenetics of New World *Astragalus*: Screening of novel nuclear loci for the reconstruction of phylogenies at low taxonomic levels. *Brittonia*, 57(4): 354-366.
8. Scherson, R. A., Vidal, R. and Sanderson, M. J., 2008. Phylogeny, Biogeography, And rates of divergence of New World *Astragalus* (Leguminosae) with an emphasis on south American radiation. *American Journal of Botany*, 95(8): 1030-1039.
9. Wojciechowski, M. F., 2005. *Astragalus* (Fabaceae): A molecular phylogenetic perspective. *Brittonia*, 57(4): 382-396.
10. Zarre, Sh., Khodaei, Z., Karamali, Z., Niknam, V. and Mirmasoumi, M., 2007. Isolation variation pattern and species concept in *Astragalus gossypinus* and *Astragalus persicus* complexes (Fabaceae) in Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35:757-763
11. Zarre, Sh., Rajaiy, M., Ebrahimzadeh, H., Habibi, M. and Niknam, V., 2004. Isozyme variation in some population of a rare endemic species *Astragalus submissus* (Fabaceae) in Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, 32:675-684

انجام دادند. آنها فیلوژنی و درصد تنوع گون‌های جهان جدید را با استفاده از آنالیزهای فیلوژنی بیشترین تشابه و Bayesian انجام دادند. این آزمایش‌ها گون‌های جهان جدید را به دو گروه تقسیم بندی کرد: گونه‌های آمریکای شمالی و گونه‌های آمریکای جنوبی (۸).
مارتین (۲۰۰۵) فیلوژنی مولکولی گون‌ها را مطالعه کرد. او در این مطالعه از توالی نوکلئوتیدی ژن *MatK* (Nucleotide sequences of the plastid *matK* gene and of the nuclear rDNA internal transcribed spacer region) برای بدست آوردن روابط فیلوژنتیکی و تخمین مقدار تنوع استفاده کرد.

نتایج نشان داد که توالی *matK* گروه‌بندی بهتری را برای نشان دادن ارتباط بین گون‌ها ارائه می‌دهد. سرعت جانشینی نوکلئوتیدی برای گون‌ها و گونه‌های نزدیک به آن مثل *Oxytropis* از ۸/۹ تا $10^{-10} \times 10^{-10}$ جانشینی در هر سایت در هر سال تخمین زده شد (۹).
لازم به ذکر است مطالعه جامع‌تری باید صورت گیرد تا جمعیت‌های گون سفید در منطقه زاگرس مرکزی با جمعیت‌های گون در مناطق زاگرس شمالی و جنوبی نیز از نظر ژنتیکی مقایسه شود تا مشخص گردد که آیا