

## Study of genetic diversity in some populations of *Cordia myxa* L. in Iran by using CDDP molecular marker

Elaheh Latifi, Mehdi Yousofi\*, Maryam Haerinasab

Department of Biology, Faculty of Sciences, Payam Noor University, Tehran, Iran

### Abstract

*Cordia myxa* L. (Boraginaceae Juss.) is a valuable medicinal and economic species growing in southern parts of Iran. This plant is resistant to salinity and drought and has an important role in preventing of soil erosion. So far, the amount of genetic variation of this species in Iran was unclear due to the lack of any study. Therefore, this study aims to assessment of genetic diversity of some populations of *Cordia myxa* in Iran by using CDDP molecular marker. Twenty five samples of 7 populations were collected from southern parts of Iran and were evaluated by 20 CDDP primers. GenAlex, Popgen and NTSYS software were used for data analysis. A total number of 222 bands were produced by 20 primers, from which 218 bands, in average 9.01% bands for each primer, were polymorphic. Based on clustering analysis by using Jaccard coefficient and UPGMA method on the resulted data, the samples were categorized in 4 separate groups at the level of 38% similarity. The highest amount of genetic diversity coefficient (0.232) were obtained for Shoosh population. Molecular Variance Analysis (AMOVA) also showed that intra-population diversity is higher (70%) than inter-population diversity (30%). This study proved the potential of CDDP marker to assess the genetic diversity in *Cordia myxa* L. populations.

**Keywords:** Boraginaceae; CDDP Molecular marker; *Cordia myxa*; Genetic diversity; Iran

---

\* Corresponding Author: myousefi@pnu.ac.ir

## تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از گونه سپستان (*Cordia myxa* L.) در ایران با نشانگر مولکولی CDDP

الهه لطیفی، مهدی یوسفی\*، مریم حائری‌نسب  
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

### چکیده

سپستان (*Cordia myxa* L.) از تیره گاوزبانیان (Boraginaceae Juss.)، گونه دارویی و اقتصادی مهمی است که در نواحی جنوبی ایران می‌روید. این گیاه، مقاوم به شوری و خشکی است و نقش مهمی در جلوگیری از فرسایش خاک ایفا می‌کند. تاکنون به دلیل نبود مطالعات، از میزان تنوع ژنتیکی این گونه در ایران اطلاعاتی در دسترس نبوده است؛ بنابراین، هدف پژوهش حاضر ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از این گونه در ایران با نشانگر مولکولی CDDP است. ۲۵ نمونه از هفت جمعیت از نقاط جنوبی کشور جمع‌آوری شدند و تنوع ژنتیکی آنها با ۲۰ آغازگر CDDP ارزیابی شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای NTSYS، Popegen و GenAlex استفاده شد. از ۲۰ آغازگر، در مجموع، ۲۲۲ نوار تکثیر شد که ۲۱۸ نوار به‌طور میانگین ۹/۰۱ درصد برای هر آغازگر، چندشکل (پلی‌مورف) بودند. در تجزیه خوشه‌ای با ضریب تشابه جاکارد با روش UPGMA، نمونه‌ها در سطح تشابه ۳۸ درصد در ۴ گروه مجزا طبقه‌بندی شدند. بیشترین مقدار میانگین تنوع ژنتیکی (۰/۲۳۲) برای جمعیت شوش به دست آمد. تجزیه واریانس مولکولی نیز نشان داد که تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها (۷۰ درصد) بیشتر از بین جمعیت‌ها (۳۰ درصد) است. پژوهش حاضر توان نشانگر CDDP را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه *C. myxa* اثبات کرد.

**واژه‌های کلیدی:** ایران، تنوع ژنتیکی، سپستان، گاوزبانیان، نشانگر مولکولی CDDP

\* نگارنده مسئول: نشانی پست الکترونیک: myousefi@pnu.ac.ir، شماره تماس: ۰۳۱۳۳۳۷۰۳۰۲

## مقدمه

سپستان، با نام علمی *Cordia myxa* L. یکی از گونه‌های مهم و اقتصادی جنس *Cordia* از تیره گاوزبانیان (Boraginaceae) است. اغلب جنس‌های تیره گاوزبانیان علفی‌اند؛ ولی تعداد اندکی از جنس‌های این تیره مانند جنس *Cordia* درختی و درختچه‌ای هستند (Riedl, 1967; Khatamsaz, 2002). یکی از گونه‌های شناخته‌شده این جنس، *C. myxa* است که به شکل درختچه‌ای تا ارتفاع ۳ تا ۵ متر رشد می‌کند. آرایش برگ‌های آن متناوب و گاهی تاحدودی متقابل و شکل برگ‌ها تخم‌مرغی پهن تا دایره‌ای است. سطح رویی آنها بدون کرک و سطح زیرین آنها ابتدا پوشیده از کرک‌های ساده یا منشعب است و با کرک‌های ستاره‌ای همراه هستند که به تدریج پس از رشد برگ از بین می‌روند. گل آذین آن خوشه یا خوشه دیهیمی است. میوه، شفت تخم‌مرغی شکل با طول ۲ سانتی‌متر است که در جهت رأس، باریک‌تر و به رأس تیز منتهی می‌شود. میوه هنگام رسیدن زردرنگ و در آخر متمایل به سیاه است (Khatamsaz, 2002). گونه *C. myxa* بومی شبه‌قاره هند است (Bouby et al., 2011) و در مناطق جنوبی ایران، شامل استان‌های فارس (لار)، هرمزگان (بندرعباس و خارک) و سیستان و بلوچستان (مکران، نیک‌شهر و چابهار) کاشته می‌شود (Riedl, 1967; Khatamsaz, 2002).

گونه *C. myxa* گیاهی دارویی با خواص ضدباکتریایی، ضدالتهاب، ضدحساسیت، ضدویروسی و ضدسرطانی است (Ranjbar et al., 2014) و از برگ آن متابولیت‌های ثانویه از گروه

ترپنوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و لینولئیک اسید و اولئیک اسید جدا و شناسایی شده‌اند (Meghwal et al., 2014; Al-Snafi, 2016).

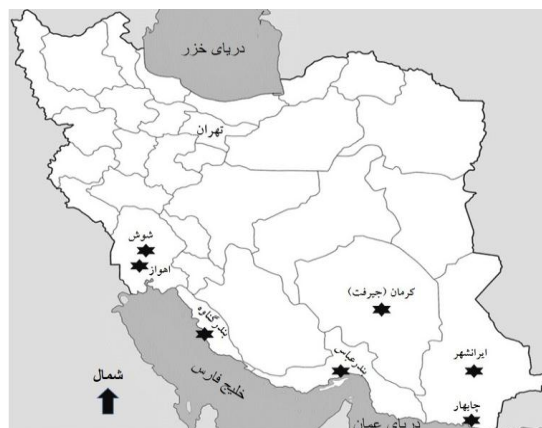
بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی گونه‌های گیاهی، به ویژه گونه‌های زراعی، دارویی و صنعتی اهمیت زیادی دارد و یافته‌های حاصل از آن برای تاکسونومی، کشف روابط تکاملی و بوم‌شناختی این گونه‌ها به کار می‌رود. در حال حاضر، با نشانگرهای مولکولی مبتنی بر واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) امکان بررسی مستقیم تنوع ژنتیکی در سطح DNA فراهم شده و روش‌های مرتبط با آن بسیار توسعه یافته است (Agarwal et al., 2008; Grover and Sharma, 2016). با آغاز استفاده از نشانگرهای اختصاصی متصل‌شونده به ژن‌های خاص، سیستم نشانگری جدیدی موسوم به چندشکلی DNA حفاظت‌شده (Conserved DNA-Derived Polymorphism) یا به اختصار، CDDP برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی مختلف استفاده شده است. نخستین بار Collard و Mackill (۲۰۰۹) نشانگر CDDP را معرفی کردند. از پژوهش‌های انجام‌شده بر گیاهان مختلف با نشانگر CDDP می‌توان به پژوهش Poczai و همکاران (۲۰۱۱) بر *Solanum dulcamara* (تاجریزی پیچ)، مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۳) بر تنوع ژنتیکی *Chrysanthemum mosifolium* (گل داوودی)، پژوهش Wang و همکاران (۲۰۱۴) با هدف تحلیل روابط ژنتیکی در *Paeonia suffruticosa* (گل صدتومانی)، پژوهش Hajibarat و همکاران (۲۰۱۵) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی *Cicer arietinum* (نخود زراعی) و مطالعه

هندوستان، خاستگاه اصلی این گونه، و براساس صفات ریخت‌شناختی انجام شده‌اند (Saini *et al.*, 2002; Malik *et al.*, 2010; Nagar *et al.*, 2013; Nagar *et al.*, 2015) و همکاران (۲۰۱۲) در راجستان هند برای نخستین بار با نشانگر RAPD به بررسی ۱۷ ویژگی ریخت‌شناختی گونه *C. myxa* در ۲۲ نمونه پرداختند و تنوع ژنتیکی زیادی بین نمونه‌ها نشان دادند. در ایران تاکنون پژوهشی بر تنوع ریخت‌شناختی و ژنتیکی جمعیت‌های گونه *C. myxa* انجام نشده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از گونه *C. myxa* در ایران با نشانگر CDDP و تعیین میزان تنوعات درون و بین جمعیتی در این گونه بود. در پژوهش حاضر کوشش شده است ضمن بررسی تنوع ژنتیکی، کارایی نشانگر مولکولی در گونه *C. myxa* اثبات شود. بررسی تنوع ژنتیکی گونه *C. myxa* با نشانگر مولکولی CDDP، نخستین گزارش در جهان برای این گونه و نیز جنس *Cordia* است.

### مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر ۲۵ فرد از ۷ جمعیت گونه *C. myxa* در ماه‌های فروردین تا خرداد جمع‌آوری شدند (شکل ۱ و جدول ۱). نمونه‌ها با منابع فلور ایران (Riedl, 1967) و فلور ترکیه (Davis, 1978) و مقایسه با تصویر نمونه تیب آن (JSTOR Global Plants, 2017) شناسایی و در هر بار یوم دانشگاه پیام نور اصفهان نگهداری شدند.

Eghbalneghad و همکاران (۲۰۱۷) بر تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های *Rosa hybrid* (گل رز) اشاره کرد. نشانگر CDDP مبتنی بر مناطق حفاظت‌شده است که در آن از یک آغازگر واحد، برای آغازگرهای پیشرو و پسرو استفاده می‌شود. همچنین این نشانگر، آغازگرهای با طول بیشتر دارد و با دماهای اتصال ۵۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد طراحی شده است که افزایش تکرارپذیری آن را باعث می‌شود (Collard and Mackill, 2009). در این روش مانند روش‌های RAPD و ISSR، طراحی آغازگرها براساس توالی ابتدا و انتهای قطعات DNA انجام می‌شود. با این تفاوت که در این روش، ناحیه محافظت‌شده، یک ژن خاص است (Poczai *et al.*, 2011). این نشانگر به راحتی می‌تواند نشانگرهای کاربردی (FM) مربوط به یک فنوتیپ گیاهی را تولید کند که در بسیاری از بررسی‌های ژنتیکی سودمند هستند (Williams *et al.*, 1990). این روش بر مناطق ژنی متمرکز است و اطلاعات کاملی از ژنوم در مقایسه با نشانگر RAPD که نشانگر تصادفی است به ما می‌دهد (Hajibarat *et al.*, 2015). از مزایای روش CDDP می‌توان به ساده‌بودن، تکرارپذیری زیاد، نیاز به امکانات آزمایشگاهی کم و نیاز به الگوی بسیار کمتر نسبت به سایر روش‌ها اشاره کرد. معمولاً محدوده اندازه این نشانگر بین ۲۰۰ تا ۱۵۰۰ جفت باز (bp) است (Poczai *et al.*, 2011). چندین پژوهشگر، تنوع ژنتیکی را درون و بین جمعیت‌های مختلف گونه *C. myxa* گزارش کرده‌اند. بیشتر این بررسی‌ها بر جمعیت‌های کشور



شکل ۱- موقعیت ۷ جمعیت از گونه *C. myxa* در نوار جنوبی ایران

جدول ۱- نمونه‌های بررسی‌شده، محل جمع‌آوری و مختصات جغرافیایی ۷ جمعیت مختلف گونه *C. myxa* در نوار جنوبی ایران

کد هرباریوم	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	محل جمع‌آوری	جمعیت	نمونه	ردیف
۱۶۰۶۰	۳۲° ۱۲' E	۴۸° ۱۵' N	۸۹/۲	خیابان ادیب	شوش	S1	۱
۱۶۰۶۱	۳۲° ۱۲' E	۴۸° ۱۵' N	۸۹/۲	خیابان ادیب	شوش	S2	۲
۱۶۰۶۳	۳۲° ۱۲' E	۴۸° ۱۵' N	۸۹/۲	خیابان ادیب	شوش	S3	۳
۱۶۰۶۲	۳۲° ۱۱' E	۴۸° ۱۴' N	۷۱/۷	خیابان دستغیب	شوش	S4	۴
۱۶۰۶۴	۳۲° ۱۱' E	۴۸° ۱۴' N	۷۲/۱	خیابان مصطفی خمینی	شوش	S5	۵
۱۶۰۶۵	۳۲° ۱۱' E	۴۸° ۱۴' N	۷۱/۶	خیابان امام خمینی	شوش	S6	۶
۱۶۰۷۴	۲۹° ۳۴' E	۵۰° ۳۰' N	۱/۷	بلوار امام حسین	بندر گناوه	G1	۷
۱۶۰۶۷	۲۹° ۳۴' E	۵۰° ۳۰' N	۱/۷	خیابان چمران	بندر گناوه	G2	۸
۱۶۰۷۰	۲۹° ۳۴' E	۵۰° ۳۰' N	۱/۷	روستای قلعه حیدر	بندر گناوه	G3	۹
۱۶۰۷۱	۲۹° ۳۴' E	۵۰° ۳۰' N	۱/۷	روستای قلعه حیدر	بندر گناوه	G4	۱۰
۱۶۰۷۲	۳۱° ۱۸' E	۴۸° ۳۸' N	۱۷/۱	خیابان گلستان	اهواز	A1	۱۱
۱۶۰۷۳	۳۱° ۱۶' E	۴۸° ۳۷' N	۱۴	خیابان بهارستان	اهواز	A2	۱۲
۱۷۰۷۷	۳۱° ۲۱' E	۴۸° ۴۳' N	۲۳	خیابان سعدی	اهواز	A3	۱۳
۱۷۰۷۸	۳۱° ۱۷' E	۴۸° ۳۹' N	۱۸	فرهنگ شهر	اهواز	A4	۱۴
۱۷۰۷۹	۳۱° ۱۷' E	۴۸° ۳۸' N	۱۶/۳	شهرک برق	اهواز	A5	۱۵
۱۶۰۶۹	۲۵° ۱۸' E	۶۰° ۳۷' N	۱۵/۸	بلوار فردوسی	چابهار	C1	۱۶
۱۶۰۵۹	۲۵° ۱۸' E	۶۰° ۳۷' N	۱۶	خیابان حرننگ	چابهار	C2	۱۷
۱۶۰۶۸	۲۵° ۱۸' E	۶۰° ۳۸' N	۲۰/۹	خیابان توحید	چابهار	C3	۱۸
۱۶۰۷۵	۲۵° ۱۸' E	۶۰° ۳۷' N	۲۱/۱	خیابان شهید نوروزی	چابهار	C4	۱۹
۱۷۰۷۶	۲۵° ۱۷' E	۶۰° ۳۸' N	۲۳	دانشگاه دریانوردی	چابهار	C5	۲۰
۱۷۰۸۰	۲۵° ۱۰' E	۶۰° ۱۸' N	۱/۵	کنار گذر غدیر	بندرعباس	B1	۲۱
۱۷۰۸۱	۲۵° ۱۰' E	۶۰° ۱۸' N	۱/۵	کنار گذر غدیر	بندرعباس	B2	۲۲
۱۷۰۸۲	۲۸° ۴۲' E	۵۷° ۴۴' N	۷۱۱/۷	جیرفت	کرمان	K	۲۳
۱۶۰۶۶	۲۷° ۱۲' E	۶۰° ۴۱' N	۵۶۹/۱	خیابان آزادی	ایرانشهر	I1	۲۴
۱۶۰۶۷	۲۷° ۱۲' E	۶۰° ۴۱' N	۵۶۹/۱	خیابان آزادی	ایرانشهر	I2	۲۵

۵ دقیقه. الکتروفورز محصولات تکثیرشده روی ژل آگارز ۲ درصد و بافر TAE با ولتاژ ۸۰ ولت، به مدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه انجام و با دستگاه ژل داگ (مدل Universal Hood II، شرکت Bio Rad، آمریکا) عکس برداری شد.

**تحلیل آماری:** اطلاعات به دست آمده از ژل‌ها در الکتروفورز در قالب ماتریسی از صفر و یک تنظیم شدند. بدین صورت که برای نوارهایی که وضوح بهتری داشتند، حضور نوار با کد ۱، وجود نداشتن نوار با کد صفر و وجود نداشتن نوار در همه نمونه‌ها با کد ۹۹۹ نشان داده شد. برای رسم دندروگرام، آزمون متل برای ضرایب تشابه SM (Simple Matching)، Jacard و Dice انجام شد. بیشترین مقدار به دست آمده مربوط به ضریب تشابه جاکارد بود و بر این اساس برای رسم دندروگرام و تجزیه به مختصات اصلی از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA با نرم افزار NTSYS نسخه ۲/۰۲ استفاده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها (PIC=Polymorphism Information Content) با رابطه ۱ محاسبه شد.

$$PIC = 1 - \sum p_i^2$$

رابطه ۱ (محتوای اطلاعات چندشکلی آغازگرها)

در این رابطه،  $P_i$  برابر با آلل  $i$ ام هر جایگاه ژنی برای همه ژنوتیپ‌ها است.

همچنین شاخص نشانگر (MI= Marker Index) برای همه آغازگرها از رابطه ۲ محاسبه شد.

$$MI = PIC \times N \times \beta$$

رابطه ۲ (شاخص نشانگر)

که PIC، محتوای اطلاعات چندشکلی؛  $N$ ، تعداد کل نوارها و  $\beta$ ، درصد چندشکلی برای هر آغازگر است.

**استخراج DNA:** DNA ژنومی از برگ‌های کامل و سالم ۷ جمعیت مختلف گونه *C. myxa* استخراج شد. استخراج DNA از این جمعیت‌ها با روش Doyle و Doyle (۱۹۸۷) با (Cethyl CTAB (Trimethyl Ammonium Bromide با فرمول ۲۰ میکرومول هیدروکلریک اسید Tris با pH برابر با ۸، ۰/۱ مول EDTA، ۱/۴ مول سدیم کلرید و ۲٪ CTAB درصد انجام شد. کیفیت DNA ژنومی استخراج شده با الکتروفورز (مدل SH503، شرکت اختریان، ایران) روی ژل آگارز (کد ۱۱۶۸۰۱، Merck، آلمان) ۰/۸ درصد ارزیابی شد. در پژوهش حاضر به پیروی از روش Mackill و Collard (۲۰۰۹)، از ۲۰ آغازگر CDDP (شرکت Metabion International، آلمان) استفاده شد (جدول ۲).

اجزاء واکنش (Polymerase Chain Reaction) در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر ماستر میکس (شرکت Ampliqon، دانمارک) حاوی آنزیم Taq polymerase، dntp و منیزیم کلرید؛ ۵/۳ میکرولیتر آب مقطر؛ ۱ میکرولیتر DNA و ۱/۲ میکرولیتر آغازگر است. واکنش PCR با دستگاه ترموسایکلر (مدل MyCycler، شرکت Biorad، آمریکا) انجام شد و مراحل چرخه PCR عبارتند از: یک چرخه واسرشت کردن به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد؛ مرحله اتصال آغازگر با ۳۵ بار تکرار در دماهای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و در نهایت، یک چرخه بسط آغازگر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت

مشاهده‌شده (Na)، تعداد آلل‌های موثر (Ne)، شاخص تنوع ژنتیکی نی (H) و شاخص شانون (I: Shannon's Information Index) برای هر یک از جمعیت‌ها با نرم‌افزار GenAlex نسخه ۶/۳ محاسبه شد. تجزیه به مختصات اصلی (PCO: Principal Coordinate Analysis) و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) با نرم‌افزار GenAlex نسخه ۶/۳ انجام شد.

مقدار RP (Resolving Power) نیز برای هر آغازگر از رابطه ۳ محاسبه شد.

$$RP = \sum I_b \quad \text{رابطه ۳}$$

میزان  $I_b$  در رابطه ۳ نیز از رابطه ۴ محاسبه شد.

$$I_b = 1 - (2|0.5 - P_i|) \quad \text{رابطه ۴}$$

در این رابطه،  $P_i$  درصد فراوانی یک آلل از هر نوار است (Pawell *et al.*, 1996).

همچنین ماتریس فاصله براساس تحلیل نی انجام شد (Nei, 1973). در این ارزیابی تعداد آلل‌های

جدول ۲- اطلاعات مربوط به آغازگرهای استفاده‌شده در بررسی تنوع ژنتیکی ۷ جمعیت مختلف گونه *C. myxa* از نواحی جنوبی

ایران

ردیف	نام آغازگر	توالی آغازگر	Tm °C*	CG**
۱	WRKY-R1	5'- GTG GTT GTG CTT GCC -3'	۴۹	۶۰/۰
۲	WRKY-R2	5'- GCC GTC GTA SGT SGT -3'	۵۲	۶۶/۷
۳	WRKY-R3	5'- GCA SGT GTG CTC GCC -3'	۵۴	۷۳/۳
۴	MADS-4	5'- CTS TGC GAC CGS GAG GTG -3'	۶۳	۷۲/۲
۵	ABP1-1	5'- ACS CCS ATC CAC CGC -3'	۵۴	۷۳/۳
۶	ABP1-2	5'- ACS CCS ATC CAC CGG -3'	۵۴	۷۳/۳
۷	ABP1-3	5'- CAC GAG GAC CTS CAGG -3'	۵۶	۶۸/۸
۸	WRKY-F1	5'- TGG CGS AAG TAC GGC CAG -3'	۶۱	۶۶/۷
۹	ERF2	5'- GCS GAG ATC CGS GAC CC -3'	۶۲	۷۶/۵
۱۰	ERF3	5'- TGG CTS GGC ACS TTC GA -3'	۵۷	۶۴/۷
۱۱	KNOX-1	5'- AAG GGS AAG CTS CCS AAG -3'	۵۸	۶۱/۱
۱۲	WRKY-R2B	5'- TGS TGS ATG CTC CCG -3'	۵۲	۶۶/۷
۱۳	WRKY-R3B	5'- CCG CTC GTG TGS ACG -3'	۵۴	۷۳/۳
۱۴	MYB1	5'- GGC AAG GGC TGC CGC -3'	۵۷	۸۰/۰
۱۵	MYB2	5'- GGC AAG GGC TGC CGG -3'	۵۷	۸۰/۰
۱۶	ERF1	5'- CAC TAC CGC GGS CTS CG -3'	۶۲	۷۶/۵
۱۷	KNOX-2	5'- CAC TGG TGG GAG CTS CAC -3'	۶۱	۶۶/۷
۱۸	KNOX-3	5'- AAG CGS CAC TGG AAG CC -3'	۵۷	۶۴/۷
۱۹	MADS-1	5'- ATG GGC CGS GGC AAG GTG C -3'	۶۶	۷۳/۷
۲۰	MADS-2	5'- ATG GGC CGS GGC AAG GTG G -3'	۶۶	۷۳/۷

CG\*\* و Tm°C\* به ترتیب نشان‌دهنده محتوای سیتوزین - گوانین بر حسب درصد و دمای اتصال بر حسب درجه سانتی‌گراد هستند.

## نتایج و بحث

این شاخص، دلیل بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه دارد که در تفکیک و تمایز افراد نقش بسزایی دارد (Thimmappaiah *et al.*, 2009). مقادیر اطلاعات چندشکلی از صفر تا یک متغیر هستند و هرچه اعداد به دست آمده بزرگ‌تر باشند، بیان‌کننده فراوانی بیشتر چندشکلی برای آن جایگاه در نمونه‌های بررسی شده است (Wei *et al.*, 2005). Botstein و همکاران (۱۹۸۰) بیان کردند شاخص محتوای چندشکلی بزرگتر از ۰/۵ ( $PIC > 0.5$ ) نشان‌دهنده نشانگری بسیار کارآمد، شاخص محتوای چندشکلی بین ۰/۲۵ تا ۰/۵ نشان‌دهنده نشانگری کارا و شاخص محتوای چندشکلی کمتر از ۰/۲۵ ( $PIC < 0.25$ ) نشان‌دهنده نشانگری با کارایی کم است؛ بنابراین می‌توان از آغازگر ۲ (WRKY-R2) با بیشترین مقدار شاخص محتوای چندشکلی برای تجزیه مجموعه ژرم پلاسم دیگر تاکسون‌های *C. myxa* در پژوهش‌های بعدی استفاده کرد؛ اما آغازگر ۱۹ (MADS-1) با کمترین میزان شاخص محتوای چندشکلی توانایی پذیرفتنی در جدا کردن تاکسون‌ها ندارد.

بهترین شاخص برای انتخاب آغازگر مناسب، شاخص قدرت تفکیک (Rp) است؛ زیرا هم از تعداد افراد دارای نوار و هم از تعداد آلل تأثیر می‌پذیرد. قدرت تفکیک، شاخصی است که توانایی تفکیک آغازگرهای انتخابی را نشان می‌دهد (Kayis *et al.*, 2010). شاخص قدرت تفکیک (Rp) در آغازگر ۷ با ۱۰/۵۴، بیشترین مقدار و در آغازگر ۶ با ۱/۶۹، کمترین مقدار را داشت و به‌طور میانگین برابر با  $5/24 \pm 1/61$  بود (جدول ۳)؛ بنابراین آغازگر ۷ نسبت به سایر

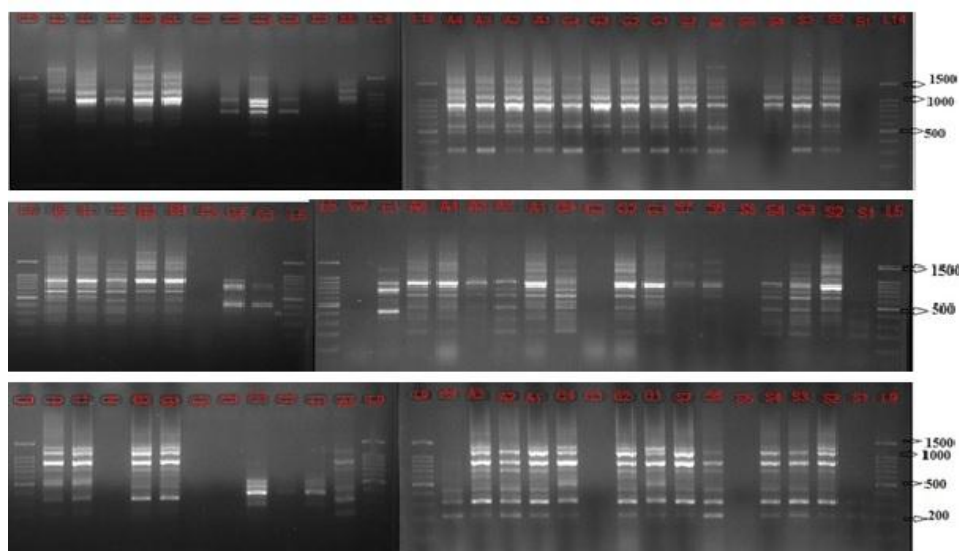
آغازگرهای CDDP در مجموع، ۲۲۲ نوار مناسب امتیازدهی را تولید کردند (شکل ۲ و جدول ۳). از این تعداد، ۲۱۸ نوار (۹۷/۶۳ درصد) به‌صورت چندشکل بودند. آغازگر ۱۲ با تولید ۷ نوار و آغازگرهای ۳، ۶ و ۱۸ هر یک با تولید ۸ نوار، کمترین تعداد نوار را ایجاد کردند. آغازگر ۷ با تولید ۱۹ نوار، مکان‌های ژنی بیشتری را نسبت به سایر آغازگرها شناسایی کرده است. کمترین میزان چندشکلی مربوط به آغازگر ۳ و ۱۸ با ۸۷/۵ درصد بود و ۱۶ آغازگر چندشکلی ۱۰۰ درصد داشتند. به‌طور متوسط هر آغازگر ۹/۰۱ درصد نوار چندشکل تولید کرده است. در بررسی تنوع ژنتیکی گونه *C. myxa* با نشانگر CDDP، دامنه نوارهای چندشکل ایجاد شده بین ۳۰۰ تا ۱۶۰۰ جفت باز است که بیشترین تعداد نوارها مربوط به آغازگر ۷ با ۲۰۰۰ bp و کمترین نوار مربوط به آغازگر ۱۳ با ۱۵۰ bp است (جدول ۴). در مجموع، ۱۷ آغازگر، هر یک بین ۱ تا ۳ نوار منحصر به فرد (اختصاصی) تولید کردند. در واقع هر یک از این ۱۷ آغازگر  $0/85 \pm 0/76$  یا به‌طور میانگین  $4/47 \pm 4/02$  درصد نوار منحصر به فرد تولید کرده است. از این نوارهای اختصاصی می‌توان در شناسایی این جنس و برای طراحی آغازگرهای نشانگر CDDP استفاده کرد.

مقدار شاخص محتوای چندشکلی (PIC) به‌طور میانگین برابر با  $0/45 \pm 0/04$  بود که آغازگر ۱۹ با ۰/۲۵، کمترین مقدار و آغازگر ۲ با ۰/۵۳، بیشترین مقدار آن را دارد. شاخص محتوای چندشکلی (PIC)، یکی از شاخص‌های مهم مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز آنها است. مقادیر زیاد



نشانگر، بیان‌کننده فراهم کردن اطلاعات بیشتر، از ژنوم با توجه به تولید تعداد بیشتر نوار چندشکلی است. در پژوهش حاضر، شاخص نشانگر در آغازگر ۷ با ۹/۵۰، بیشترین مقدار بود که نشان‌دهنده قدرت تفکیک بسیار خوب این آغازگر است و به‌طور میانگین میزان شاخص نشانگر برابر با  $4/96 \pm 1/51$  بود. مقادیر Rp و MI نشان می‌دهد آغازگر ۷ بهترین عملکرد را بین آغازگرهای استفاده‌شده در پژوهش حاضر دارد (جدول ۳).

آغازگرها قدرت تفکیک بهتری دارد. همسویی زیاد مقادیر Rp و تعداد نوارهای چندشکلی نشان داد آغازگر ۷ (ABP1-3) از سایر آغازگرها کارآمدتر است. شاخص نشانگر (MI) در آغازگر ۷ با ۹/۵۰، بیشترین مقدار و به‌طور میانگین برابر با  $4/96 \pm 1/51$  بود (جدول ۳). شاخص نشانگر (MI) برآوردی مناسب از کارایی آغازگرها است که به تعداد نوارهای چندشکلی به‌دست آمده و به پوشش زیاد ژنوم با نشانگر نسبت داده می‌شود (Milbourne *et al.*, 1997). زیادبودن شاخص



شکل ۲- الگوی نوارهای تکثیرشده با آغازگرهای ۵، ۹ و ۱۴ نشانگر CDDP در ۲۵ فرد از ۷ جمعیت *C. myxa*

Mulani (۲۰۱۶) در بررسی تنوع ژنتیکی گونه *C. dichotoma* با ۵ آغازگر نشانگر RAPD، درصد نوارهای چندشکلی را  $67/86$  درصد بیان کردند. Abdelrahim و همکاران (۲۰۱۵) در ۴ نمونه از گونه *C. africana* با نشانگر RAPD نیز از ۶۴ نوار امتیازدهی شده ۴۵ نوار، چندشکلی (به‌طور میانگین  $14/5$  نوار چندشکل در هر آغازگر) نشان دادند. Sivalingam و همکاران (۲۰۱۲) در

ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاهان با اطلاعات ریخت‌شناختی همواره با محدودیت‌هایی همراه بوده است. پژوهشگران برای رفع این محدودیت‌ها استفاده از نشانگرهای مولکولی را توصیه کرده‌اند (Mohammadzadeh Jalali *et al.*, 2013). به‌همین دلیل برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌هایی از جنس *Cordia*، پژوهش‌های دیگری با نشانگرهای مولکولی انجام شده‌اند. Nandedkar و

این نمونه‌ها ۰/۷۳ است (شکل ۳).  
 باتوجه به موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی منطقه چابهار که گرمای شدید مهم‌ترین پدیده مشهود اقلیمی آن است و نیز میزان تبخیر زیاد آن (به‌طور متوسط ۴ میلی‌متر در روز) به علت زیادبودن متوسط دما و وزش بادهای موسمی (IMO, 2017)، می‌توان تفاوت ژنتیکی ایجادشده در افراد این جمعیت را از تنش‌های محیطی و اقلیم ناشی دانست. بخش‌هایی از خوشه‌بندی حاصل از دندروگرام، بیان‌کننده آن است که تنوع ژنتیکی نمونه‌های *C. myxa* بررسی شده، با منشأ جغرافیایی آنها گاهی مطابقت دارد؛ اما در بیشتر مواقع مطابقت ندارد. نمونه‌های چابهار متعلق به شرقی‌ترین بخش جنوبی کشور، خوشه مجزایی تشکیل داده‌اند. نمونه‌های جمعیت‌های بندرعباس، ایرانشهر و کرمان نیز قرابت بیشتری نشان دادند. نمونه‌های جمعیت‌های شوش، اهواز و گناوه نیز که موقعیت غربی‌تری نسبت به سایر جمعیت‌ها دارند در یک خوشه قرار گرفته‌اند. قرارگیری نمونه‌های با منشأ جغرافیایی متفاوت، در دندروگرام در کنار یکدیگر نشان می‌دهد آلل‌های مشترکی بین آنها وجود دارند. انطباق‌نداشتن داده‌های مولکولی و مناطق جغرافیایی ممکن است از پدیده جریان ژنی بین جمعیت‌ها یا تفاوت شرایط اقلیمی بین این مناطق ناشی باشد. ساختار ژنتیکی هر گونه، متأثر از تعدادی عوامل تکاملی مانند سیستم گرده‌افشانی، جریان ژنی، پراکندگی دانه، نوع تولیدمثل و انتخاب طبیعی است (Lin et al., 2010; Seyedimoradi et al., 2016).  
 به این ترتیب، نتایج حاصل از گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای تا حد زیادی نبود ارتباط را بین تنوع

پژوهش انجام‌شده بر ۲۲ نمونه از گونه *C. myxa* با نشانگر RAPD، نوارهای چندشکل ایجادشده را به‌طور میانگین ۶۹/۸ درصد اعلام کردند. Abayneh (۲۰۱۱) در بررسی ۲۲ فرد از گونه *C. africana* درصد نوارهای چندشکلی را ۸۵/۷ درصد با نشانگر AFLP گزارش کرد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج پژوهش‌های انجام‌شده بر تنوع ژنتیکی جنس *Cordia* باتوجه به تعداد نمونه‌های استفاده‌شده و تفاوت در نوع نشانگر و تعداد آغازگرهای استفاده‌شده مطابقت دارند.

دندروگرام حاصل از تحلیل خوشه‌ای با ضریب تشابه جاکارد براساس روش UPGMA در شکل ۳ نشان داده شده است. برای رسم دندروگرام تجزیه خوشه‌ای از آزمون منتل برای انتخاب بهترین ضریب تشابه استفاده شد. ضریب تشابه جاکارد با  $r = 0/894$  بهترین بود. کم‌بودن ضریب تشابه ۳۸ درصد نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی زیاد در پژوهش حاضر است. نمونه‌ها سه خوشه اصلی را تشکیل داده‌اند. خوشه الف متشکل از نمونه‌هایی از جمعیت‌های شوش (S1-S6)، اهواز (A1-A5) و گناوه (G1-G4) است. یک نمونه از جمعیت چابهار (C5) نیز در این گروه قرار گرفته است. کمترین ضریب همبستگی این نمونه‌ها ۰/۶۶ است؛ بنابراین سه جمعیت شوش، اهواز و گناوه شباهت ژنتیکی زیادی به هم دارند. گروه ب متشکل از نمونه‌های جمعیت‌های بندرعباس (B1-B2)، ایرانشهر و کرمان (K) است. کمترین ضریب همبستگی این نمونه‌ها ۰/۷۹ است. نمونه کرمان همبستگی کمتری با نمونه‌های دو جمعیت دیگر دارد. خوشه ج دربردارنده نمونه‌های جمعیت چابهار (C1-C4) است. کمترین ضریب همبستگی

جریان ژنی بین جمعیت‌های مجاور از دو روش مهاجرت دانه‌گرده و انتقال بذر انجام می‌شود. در واقع این دو سازوکار بر میزان تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی تأثیر بسزایی دارند. باتوجه به زراعی و کاشته شده بودن گونه *C. myxa*، می‌توان گفت جریان ژنی با انتقال بذر انجام می‌شود و به این ترتیب در مجموع، سهم تنوع درون جمعیت‌ها از تنوع بین آنها بیشتر است و تنوع ژنتیکی زیادی درون جمعیت‌ها مشاهده شد.

شاخص‌های تنوع ژنتیکی محاسبه شدند. میانگین آلل‌های مشاهده شده (Na) برابر با  $0/938 \pm 0/524$  بود که بیشترین تعداد آن در جمعیت بندر گناوه (G) با  $1/964$  آلل و کمترین مقدار آن در نمونه جمعیت کرمان (K) با  $0/266$  آلل مشاهده شد. میانگین آلل‌های مؤثر (Ne) یعنی آلل‌هایی که فراوانی برابر و توزیع خوبی دارند برابر با  $1/188 \pm 0/135$  بود و در جمعیت شوش (S) با  $1/414$  آلل، بیشترین و در نمونه جمعیت کرمان (K) با مقدار ۱ کمترین بود. میزان تنوع در جمعیت شوش (S) با شاخص شانون و شاخص نی به ترتیب  $H=0/232$  و  $I=0/340$  بود که بیش از سایر جمعیت‌ها است. این جمعیت، تنوع‌پذیری و همچنین میزان پراکندگی بیشتری نسبت به سایر جمعیت‌ها دارد و نمونه جمعیت کرمان کمترین تنوع‌پذیری و میزان پراکندگی را دارد (جدول ۵). بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها پیچیدگی‌هایی دارد. این پژوهش‌ها به تعداد افراد بررسی شده در هر جمعیت، تعداد مکان‌های آللی در هر جمعیت، موقعیت آللی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه جمعیت بستگی دارد (Weir, 1990).

ژنتیکی و تنوع جغرافیایی نشان می‌دهند. گرده‌افشانی در گاوزبانان بیشتر به صورت دگرگشتی رایج است؛ اما خودگشتی نیز وجود دارد (Weigend *et al.*, 2016). Meghwal و همکاران (۲۰۱۴) گونه *C. myxa* را گونه‌ای دگرگشتی معرفی کرده‌اند. در گونه‌های دگرگشتی، به علت جریان ژنی زیاد، فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها کم می‌شود و در عوض، تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها افزایش می‌یابد. در جمعیت دگرگشتی، فرصت برای سازگاری و تکامل در آن جمعیت ایجاد می‌شود (Bussell, 1999).

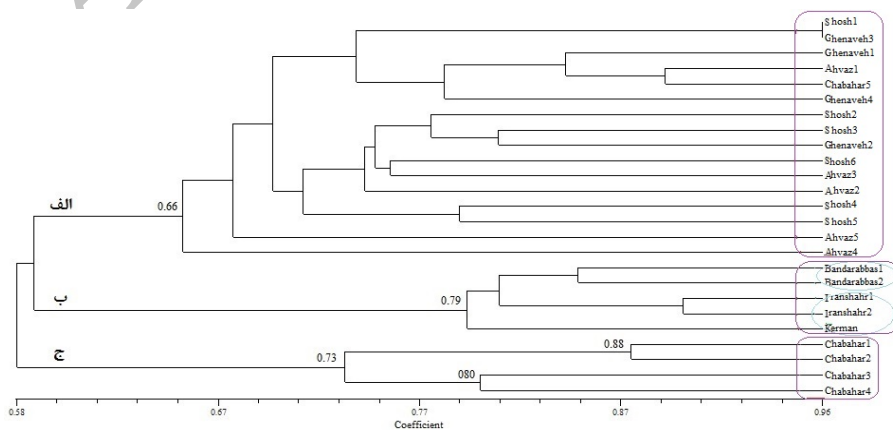
تجزیه براساس مختصات اصلی (PCA) پراکنش و توزیع نمونه‌ها را براساس ۲ محور اول و دوم ارائه می‌کند. نتایج این آزمون، نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تأیید می‌کنند و تاکسون‌هایی که در تجزیه خوشه‌ای در یک گروه قرار گرفتند در نمودار حاصل از تجزیه براساس محورهای مختصات اصلی (PCA) نیز در کنار هم قرار می‌گیرند.

نتایج تحلیل واریانس (جدول ۴) نشان دادند از میزان کل واریانس مشاهده شده، در مجموع، ۳۰ درصد مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها و ۷۰ درصد مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها است (جدول ۵). Godt و Hamrick (۱۹۹۶) بیان کردند در گیاهان چوبی تنوع ژنتیکی تا حدودی بیشتر و اختلافات درون جمعیتی، کمتر از گونه‌های غیرچوبی هستند. همچنین گونه‌هایی که میزان جریان ژنی در آنها محدودتر است، تمایز بیشتری بین جمعیت‌های آنها اتفاق می‌افتد و در مقابل هر قدر میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها بیشتر باشد، همگن‌تر شدن جمعیت‌ها و نبود تمایز ژنتیکی را بین آنها باعث می‌شود.

جدول ۳- شاخص‌های مولکولی اندازه‌گیری شده در آغازگرهای نشانگر CDDP در بررسی ۷ جمعیت از گونه *C. myxa*

آغاز گر	TNB	NPB	PPB	NSB	PSB	Rp	PIC	MI	دامنه تولید باند (bp)
۱	۹	۹	۱۰۰	۰	۰	۴/۶۷	۰/۴۵	۴/۰۵	۴۰۰-۱۸۰۰
۲	۱۱	۱۱	۱۰۰	۲	۱۰/۵۲	۶/۲۴	۰/۵۳	۵/۸۳	۲۰۰-۱۷۰۰
۳	۸	۷	۸۷/۵	۲	۱۰/۵۲	۲/۶۰	۰/۴۲	۲/۵۷	۳۰۰-۱۵۰۰
۴	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰	۰	۶/۶۶	۰/۵۱	۵/۱۰	۲۰۰-۱۶۰۰
۵	۱۳	۱۳	۱۰۰	۰	۰	۷/۷۷	۰/۴۳	۵/۵۹	۲۰۰-۱۶۰۰
۶	۸	۸	۱۰۰	۳	۱۵/۷۸	۱/۶۹	۰/۴۶	۳/۶۸	۹۰۰-۱۶۰۰
۷	۱۹	۱۹	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۱۰/۵۴	۰/۵۰	۹/۵۰	۲۰۰-۲۰۰۰
۸	۱۸	۱۸	۱۰۰	۳	۱۵/۷۸	۸/۹۵	۰/۴۸	۸/۶۴	۲۰۰-۱۶۰۰
۹	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰	۰	۵/۱۱	۰/۴۵	۴/۵۰	۲۰۰-۱۵۰۰
۱۰	۱۱	۱۱	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۵/۱۸	۰/۴۹	۵/۳۹	۲۵۰-۱۷۰۰
۱۱	۱۵	۱۵	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۷/۳۱	۰/۴۷	۷/۰۵	۲۰۰-۱۵۰۰
۱۲	۷	۷	۱۰۰	۰	۰	۴/۵۵	۰/۵۲	۳/۶۴	۳۰۰-۱۵۰۰
۱۳	۱۴	۱۴	۱۰۰	۰	۰	۵/۱۳	۰/۴۰	۵/۶۰	۱۵۰-۱۶۰۰
۱۴	۹	۸	۸۸/۸	۰	۰	۴/۶۷	۰/۴۰	۲/۸۴	۳۰۰-۱۵۰۰
۱۵	۱۴	۱۴	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۴/۳۰	۰/۵۱	۷/۱۱	۳۰۰-۱۶۰۰
۱۶	۹	۹	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۵/۳۵	۰/۴۷	۴/۲۳	۲۰۰-۱۵۰۰
۱۷	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۵/۳۲	۰/۴۳	۴/۳۰	۲۰۰-۱۶۰۰
۱۸	۸	۷	۸۷/۵	۰	۰	۳/۵۸	۰/۵۱	۳/۱۲	۵۰۰-۱۵۰۰
۱۹	۹	۸	۸۸/۸	۰	۰	۲/۱۰	۰/۲۵	۱/۷۷	۳۰۰-۱۵۰۰
۲۰	۱۰	۱۰	۱۰۰	۱	۵/۲۶	۳/۲۳	۰/۴۷	۴/۷۰	۳۰۰-۱۵۰۰
مجموع	۲۲۲	۲۱۸	۹۷/۶۳	۱۷	-	-	-	-	-
میانگین	۱۱/۱	۱۰/۹	۹/۰۱	۰/۸۵	۴/۴۷	۵/۲۴	۰/۴۵	۴/۹۶	۱۵۰-۲۰۰۰
SD	±۲/۶	±۲/۸		±۰/۷۶	±۴/۰۲	±۱/۶۱	±۰/۰۴	±۱/۵۱	

TNB (تعداد کل نوارها)، NPB (تعداد نوارهای چندشکلی)، PPB (درصد نوارهای چندشکلی)، NSB (تعداد نوارهای اختصاصی)، PSB (درصد نوارهای اختصاصی)، Rp (قدرت تفکیک)، PIC (محتوای اطلاعات چندشکلی)، MI (شاخص نشانگر) و SD (انحراف معیار)



شکل ۳- دندروگرام حاصل از نرم‌افزار NTSYS و ضریب تشابه جاکارد مربوط به خوشه‌بندی ۲۵ فرد از ۷ جمعیت *C. myxa*

جدول ۴- تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های حاصل از نشانگر CDDP مربوط به ۷ جمعیت گونه *C. myxa*

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	انحراف معیار	درصد
درون جمعیتی	۱۸	۸۱۷/۲۳	۴۵/۴۰	۷۰
بین جمعیتی	۵	۵۹۸/۰۱۷	۱۹/۱۰۸	۳۰
کل	۲۳	۱۴۱۵/۲۵	۶۴/۵۱۰	۱۰۰

جدول ۵- شاخص‌های تنوع ژنتیکی مربوط به ۷ جمعیت از گونه *C. myxa*

جمعیت‌ها	تعداد افراد	Na	Ne	I	He
شوش (S)	۶	۱/۳۴۷	۱/۴۱۴	۰/۳۴۰	۰/۲۳۲
گناوه (G)	۴	۱/۹۶۴	۱/۲۳۸	۰/۱۳۳	۰/۱۵۸
اهواز (A)	۵	۱/۳۳۸	۱/۳۸۷	۰/۳۲۳	۰/۲۲۰
چابهار (C)	۵	۰/۳۶۵	۱/۱۰۹	۰/۱۰۸	۰/۰۵۳
بندرعباس (B)	۲	۰/۷۲۱	۱/۱۰۸	۰/۰۹۳	۰/۰۶۳
کرمان (K)	۱	۰/۲۶۶	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
ایرانشهر (K)	۲	۰/۵۶۸	۱/۰۶۴	۰/۰۵۴	۰/۰۳۷
میانگین و انحراف معیار	۳/۵۷±۱/۶۳	۰/۹۳۸±۰/۵۲۴	۱/۱۸۸±۰/۱۳۵	۰/۱۴۶±۰/۱۰۵	۰/۱۰۹±۰/۰۸۰

در ارزیابی ماتریس فاصله ۷ جمعیت از گونه *C. myxa* بیشترین شباهت با فاصله ۰/۶۰۸ بین جمعیت‌های بندرعباس (B) و چابهار (C) دیده می‌شود و جمعیت‌های شوش (S) و اهواز (A) با میزان فاصله ۰/۹۱۷ بیشترین تفاوت را بین جمعیت‌های بررسی شده نشان دادند (جدول ۶).

جدول ۶- ماتریس فاصله بین ۷ جمعیت بررسی شده *C. myxa*

جمعیت	شوش	بندرگناوه	اهواز	چابهار	بندرعباس	کرمان	ایرانشهر
شوش (S)	۱						
بندرگناوه (G)	۰/۸۸۳	۱					
اهواز (A)	۰/۹۱۷	۰/۸۵۷	۱				
چابهار (C)	۰/۷۵۴	۰/۶۵۱	۰/۷۲۰	۱			
بندرعباس (B)	۰/۶۹۶	۰/۶۶۱	۰/۷۰۵	۰/۶۰۸	۱		
کرمان (k)	۰/۶۹۷	۰/۶۴۰	۰/۶۹۹	۰/۷۵۵	۰/۷۹۸	۱	
ایرانشهر (I)	۰/۶۷۷	۰/۶۵۹	۰/۶۷۶	۰/۶۳۷	۰/۸۵۳	۰/۷۷۴	۱

آغازگر از نشانگر CDDP، میانگین نوارهای چندشکل، ۹۷/۶۳ درصد به دست آمد. تاکنون از نشانگر مولکولی CDDP برای ارزیابی تنوع ژنتیکی تاکسون‌های زیادی استفاده شده است (Tomar and Malik, 2015; Seyedimoradi et al.,

پژوهش حاضر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت‌های گونه *C. myxa* با نشانگر مولکولی CDDP انجام شد. این پژوهش برای نخستین بار در ایران و جهان به توصیف تنوع ژنتیکی گونه *C. myxa* با نشانگر CDDP پرداخته است. با ۲۰

- Academy of Sciences Journal 10: 33-72.
- Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports* 27(4): 617-631.
- Al-Snafi, A. E. (2016) The Pharmacological and therapeutic importance of *Cordia myxa*- A review. *International Organization of Scientific Research Journal of Pharmacy* 6(93): 47-57.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. and Davis, R.W. (1980) Construction of genetic linkage map in man using restriction length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32: 314-331.
- Bouby, L., Bouchette, A. and Figuerial, I. (2011) Sebesten fruits (*Cordia myxa* L.) in Gallia Narbonensis (Southern France): a trade item from the Eastern Mediterranean? *Vegetation History and Archaeobotany* 20(5): 397-404.
- Bussell, J. D. (1999) The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotom petraea* (Lobeliaceae). *Molecular Ecology* 8: 775-789.
- Collard, B. C. Y. and Mackill, D. J. (2009) Conserved DNA-derived polymorphism (CDDP): A simple and novel method for generating DNA markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 27(4): 558-562.
- Davis, P. H. (Ed.) (1978) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. vol. 6. Edinburgh.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Eghbaltheghad, Y., Saidi, A. and Beiramizadeh, E. (2017) Evaluation of genetic diversity Rose genotypes (*Rosa hybrid* Vill) using CDDP and RAPD markers. *Journal of Agricultural Biotechnology* 9(2): 1-14 (in Persian).
- 2016). نتایج این بررسی‌ها نشان دادند نشانگر CDDP نوارهای چندشکلی بیشتری ایجاد می‌کند و در مقایسه با روش‌های مشابه، تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی را بهتر ارزیابی می‌کند. نتایج ما درباره گونه *C. myxa* نیز مؤید این مطلب هستند.
- اطلاعات دقیقی از تاریخچه کشت گونه *C. myxa* در مناطق جنوب کشور وجود ندارند. باتوجه به اهمیت و ارزش دارویی این گونه که از زمان قدیم شناخته شده بوده است، احتمالاً پایه‌هایی از آن در شهرهای دارای شرایط مناسب توسط افراد محلی کاشته شده باشد. منشأ احتمالی این پایه‌ها (یا بذر آنها) نامشخص است. براساس نتایج پژوهش حاضر مبنی بر وجود تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها، بیشتر جمعیت‌های بررسی شده نمی‌توانند منشأ یکسانی داشته باشند. با انجام پژوهش‌های دیرینه‌شناختی، به‌ویژه لایه‌نگاری دانه گرده می‌توان پی‌برد این جمعیت‌ها، خودرو یا انسان کاشت هستند.

### سپاسگزاری

نگارندگان از همکاری آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی دانشگاه پیام نور اصفهان بابت در اختیار قرار دادن امکانات آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌کنند.

### References

- Abayneh, D. O. G. R. F. (2011) Maintenance of genetic diversity in *Cordia africana* Lam., a declining forest tree species in Ethiopia. *Tree Genetics and Genomes* 7: 1-9.
- Abdelrahim, Y. M., Babiker, H. A., Abdelgader, M. A., Abdelrahman, E. E. and El Gaali, E. E. (2015) Assessment of genetic variations in *Cordia africana* Lam. in Sudan using random amplified polymorphic DNA marker. *Sudan*

- Grover, A. and Sharma, P. (2016) Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology* 36(2): 290-302.
- Hajibarat, Z., Saidi, A. and Talebi, R. (2015) Characterization of genetic diversity in chickpea using SSR markers, Start Codon Targeted Polymorphism (SCOT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP). *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 21(3): 365-373.
- Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W. (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 351: 1291-1298.
- IMO, Islamic Republic of Iran Meteorological Organization (2017) The climate of Sistan and Baluchestan province. Retrieved from <http://www.irimo.ir/far/services/climate/806>. On: 27 April 2017 (in Persian).
- JSTOR Global Plants. Retrieved from <http://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.a.p.specimen.s-g-10028>. On: 27 April 2017.
- Kayis, S. A., Hakki, E. E. and Pinarkara, E. (2010) Comparison of effectiveness of ISSR and RAPD markers in genetic characterization of seized marijuana (*Cannabis sativa* L.) in Turkey. *African Journal of Agricultural Research* 5(21): 2925-2933.
- Khatamsaz, M. (2002) Boraginaceae. In: *Flora of Iran* (Eds. Assadi, M., Khatamsaz, M. and Maassoumi, A. A.) vol. 39. Tehran, Iran (in Persian).
- Li, T., Guo, J. E., Li, Y., Ning, H., Sun, X. and Zheng, C. (2013) Genetic diversity assessment of *chrysanthemum* germplasm using conserved DNA-derived polymorphism markers. *Scientia Horticulturae* 162: 271-277.
- Lin, X. C., You, Y. F., Liu, J., Peng, J. S., Liao, G. L. and Fang, W. (2010) Crossbreeding of *Phyllostachys* species (Poaceae) and identification of their hybrids using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research* 9(3): 1398-1404.
- Malik, S. K., Chaudhury, R., Dhariwal, O. P. and Bhandari, D. C. (2010) Genetic resources of tropical underutilized fruits in India. NBPGR, New Delhi.
- Meghwal, P. R., Singh, A., Kumar, P. and Morwal, B. R. (2014) Diversity, distribution and horticultural potential of *Cordia myxa* L.: a promising underutilized fruit species of arid and semi arid regions of India. *Genetic Resources and Crop Evolution* 61(80): 1633-1643.
- Milbourne, D., Meyer, R., Bradshaw, J. E., Baird, E., Bonar, N., Provan, J., Powell, W. and Waugh, R. (1997) Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Molecular Breeding* 3: 127-136.
- Mohammadzadeh Jalaly, H., Valizadeh, M., Moghaddam, M. and Ahmadi, M. (2013) Interrelationships of quantitative traits and isozymic markers in alfalfa half-sib families. *Iranian Journal of Plant Biology* 5(18): 133-141 (in Persian).
- Nagar, B. L., Fagerra, M. S. and Pareek, S. (2013) Genetic variation for physicochemical characteristics in Lehsua (*Cordia myxa* L.). *African Journal of Agricultural Research* 8(40): 5047-5050.
- Nagar, B. L., Fagerra, M. S. and Sarolia, D. K. (2015) Correlation and path analysis in Lehsua (*Cordia myxa* L.) in Thar Desert. *Periodic Research* 4(1): 25-27.
- Nandedkar, P. H. and Mulani, R. M. (2016) Morphological and molecular diversity of *Cordia dichotoma* G. Frost populations from Nanded district in Maharashtra, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(6): 135-143.
- Nei, M. (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70(12): 3321-3323.

- Pawell, W., Morganet, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalaski, A. (1996) The comparison of RFLP, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2: 225-238.
- Poczai, P., Varga, I., Bell, N. E. and Hyvönen, J. (2011) Genetic diversity assessment of bittersweet (*Solanum dulcamara*, Solanaceae) germplasm using conserved DNA-derived polymorphism and intron-targeting markers. *Annals of Applied Biology* 159: 141-153.
- Ranjbar, M., Najafzadeh Vaziry, H., Sabbagh, A., Blooki, A. and Sazmand, A. (2014) Study on analgesic and anti-inflammatory properties of *Cordia myxa* fruit hydro-alcoholic extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 16(24): 2066-2069.
- Riedl, H. (1967) Boraginaceae Juss. In: *Flora Iranica* (Ed. Rechinger, K. H.) vol. 48. Akademisch Druck-und Verlagsanstalt, Graz, Austria.
- Rohlf, F. J. (1998) NTSYS-PC numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.02. Exeter software, Setauket, New York.
- Saini, R. S., Kaushik, R. A. and Singh, S. (2002) Research note on the evaluation of lasora (*Cordia myxa* L.) germplasm for vegetative growth characters under semi-arid conditions. *Haryana Journal of Horticulture Sciences* 31(1/2): 62-63.
- Seyedimoradi, H., Talebi, R. and Fayaz, F. (2016) Geographical diversity pattern in Iranian landrace durum wheat (*Triticum turgidum*) accessions using start codon targeted polymorphism and conserved DNA-derived polymorphism markers. *Environmental and Experimental Biology* 14: 63-68.
- Sivalingam, P., Singh, D. and Chauhan, S. (2012) Morphological and molecular diversity of an underutilized fruit crop-*Cordia myxa* L. germplasm from the arid region of Rajasthan, India. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59(2): 305-316.
- Thimmappaiah, W., Santhosh, G., Shobha, D. and Melwyn, G. S. (2009) Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR markers. *Scientia Horticulturae* 120(3): 411-417.
- Tomar, P. and Malik, C. (2015) CDDP and CBDP as novel markers. *International Journal of Life Sciences* 4(2): 85-89.
- Wang, X., Fan, H., Li, Y., Sun, X., Sun, X., Wang, W. and Zheng, C. (2014) Analysis of genetic relationships in tree peony of different colors using conserved DNA-derived polymorphism markers. *Scientia Horticulturae* 175: 68-73.
- Wei, Y. M., Hou, Y. C., Yan, Z. H., Wu, W., Zhang, Z. Q., Liu, D. C. and Zhang, Y. L. (2005) Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat landraces highly resistant to *Fusarium* head blight. *Theoretical and Applied Genetics* 46: 3-9.
- Weigend, M., Selvi, F., Thomas, D. C. and Hilger, H. H. (2016) Boraginaceae. In: *The families and genera of vascular plants* (Eds. Kadereit, J. W. and Bittrich, V.) 41-102. Springer International Publishing, Switzerland.
- Weir, B. S. (1990) Genetic data analysis. Methods for discrete population genetic data. Sinauer Associates, Inc., Sanderland.
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. C. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.