Archive of SID

مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۲۳۱-۲۲۱)

بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های گلرنگ از طریق صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی RAPD

صادق شهبازی‌دورباش[1]*، خشنود علیزاده‌دیزج[2]، بهزاد صادق‌زاده[3] و وحید فتحی‌رضائی[4]
۱، کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی بخش دانه‌های روغنی مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه)، ۲، ۳، دانشیار پژوهشی، استادیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه)، ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تبریز و محقق مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه)
(تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۵ - تاریخ تصویب: ۸۹/۹/۳)

چکیده

وجود تنوع ژنتیکی از ضروریات اجرای برنامه‌های اصلاحی بوده و تعیین میزان این تنوع لازمه استفاده بهینه از منابع ژنتیکی می‌باشد. جهت بررسی تنوع ژنتیکی گلرنگ، ۲۰ لاین (۱۴ لاین ایرانی و ۶ لاین خارجی) با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD و نیز صفات زراعی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۸۷-۸۶ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که لاین ها در همه صفات زراعی به جز تعداد طبق در بوته تفاوت معنی‌داری داشتند. صفات ارتفاع بوته، تعداد طبق در بوته و درصد سبز بیشترین همبستگی مثبت را با عملکرد دانه نشان داده و در تجزیه علّیت نیز بیشترین اثر مستقیم و مثبت را بر عملکرد دانه دارا بودند، به طوریکه این صفات در مجموع ۴۳٪ از کل تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمودند. تعداد ۲۰ آغازگر در بررسی تنوع ژنتیکی گلرنگ با استفاده از نشانگر RAPD استفاده شد که ۱۲ آغازگر توانستند نوارهای چند شکلی ایجاد نمایند. در مجموع تعداد ۱۰۴ نوار چند شکل و با میانگین ۸/۷ نوار برای هر آغازگر بدست آمد. در تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات زراعی و داده‌های مولکولی، لاین‌ها به چهار گروه تقسیم‌بندی شدند. مقایسه گروه‌بندی‌ها بر اساس صفات زراعی و مولکولی تشابه اندکی (۷/۷٪) را نشان داد. نتایج این مطالعه بیانگر کارآمدی نشانگرهای RAPD در بررسی تنوع ژنتیکی میان لاین‌های مورد مطالعه گلرنگ می‌باشد که وجود این تنوع ژنتیکی می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گلرنگ در دیم‌زارهای ایران مورد بهره‌برداری قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، خصوصیات زراعی، گلرنگ، RAPD.

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) از جمله گیاهان مهم روغنی با ۲۴ تا ۴۰ درصد روغن در دانه بوده (Karimi, 2004) و جزء گیاهان غیراصلی[1] و بومی مناطق مدیترانه‌ای می‌باشد. توسعه زراعت گیاهان غیراصلی از جمله گلرنگ، یک راه حل منطقی و امکان‌پذیر برای تنوع بخشیدن به نیازهای غذایی بشر و مبارزه با کمبود مواد غذایی در سطح جهانی می‌باشد (Khan et al., 2008).

لاین‌های سازگار شده گیاهان غیراصلی در بسیاری

1. Minor species

* نویسنده مسئول: صادق شهبازی دورباش تلفن: ۰۹۱۴-۸۴۰۶۱۲۴ E-mail: sadeqshahbazy@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

از نقاط جهان به صورت کم و بیش پراکنده وجود دارند. این لاین‌های بومی به دلیل سازگاری که در طی زمان کسب نموده‌اند، حاوی ژن‌های مطلوبی نظیر تحمل به خشکی، شوری و مقاومت به آفات و بیماری‌ها هستند (Vojdany, 1996). لذا جمع‌آوری، حفظ، نگهداری و ارزیابی این منابع غنی ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (Oleson., 1996).

ایران یکی از مراکز اصلی تنوع ژنتیکی گلرنگ بوده که به طور گسترده به صورت وحشی و بومی در نقاط مختلف ایران وجود دارد و در سطح بسیاری از مناطق کشت و کار می‌شود. بررسی چنین ذخایر توارثی قابل توجه، امکان افزایش کمی و کیفی این محصول از طریق به‌نژادی را فراهم می‌سازد، چرا که برای اصلاح‌گران وجود تنوع ژنتیکی پایه و اساس گزینش لاین‌های برتر می‌باشد (Yazdi-Samadi & Abd-Mishani, 1991; Clegg, 1997). تاکنون تحقیقات کمی در زمینه نقش گیاهان غیراصلی از جمله گلرنگ در تامین نیاز غذایی بشر و مخصوصا در دیمزارهای ایران انجام گرفته و یافته‌های تحقیقاتی اندکی در مورد این قبیل گیاهان وجود دارد.

در بررسی تنوع ژنتیکی روش‌های مختلفی در گونه‌های گیاهی وجود دارد که استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی نظیر RAPD[1] از روش‌های متداول در این راستا بوده که توصیف و تفسیر بهتر و جامع‌تری از تنوع بیولوژیکی را فراهم می‌کند (Mohammadi, 2006). از مزایای نشانگر RAPD آن است که نیازی به اطلاعات اولیه در مورد ردیف DNA برای طراحی و ساخت آغازگرها، کاوشگر و مواد پرتوزا نبوده و امکان بررسی همزمان چندین جایگاه در ژنوم نمونه‌ها وجود دارد. در ضمن کم‌هزینه بوده و پیچیدگی کمتری نسبت به سایر نشانگرهای مبتنی بر DNA دارد (Naghavi et al., 2005). نشانگر RAPD با وجود تکرارپذیری کم یکی از روش‌های مهم تعیین تنوع ژنتیکی است (Simmons et al., 2007)، که در تعیین هویت ژنوتیپ‌ها، جوامع، تجزیه و تحلیل شجره‌ای و مطالعات فیلوژنتیک مفید و سودمند می‌باشد (Mackill, 1995; Paran & Michelmore, 1993).

استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD در بررسی تنوع ژنتیکی گیاه گلرنگ توسط محققین گزارش شده است (Ahmadzade, 2007; Amini et al., 2008; Khan et al., 2008).

تحقیق حاضر به منظور بررسی بیشتر تنوع ژنتیکی از طریق صفات زراعی و نیز نشانگر مولکولی RAPD در گلرنگ تحت شرایط دیم انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۰ لاین خالص انتخابی از بین توده‌های داخلی و خارجی گلرنگ دریافتی از بانک ژن ملی ایران (جدول۱)، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به صورت کشت دیم به اجرا درآمد. هر کرت شامل پنج خط چهار متری با فاصله خطوط ۳۰ سانتیمتر و میزان بذر ۲۵ کیلوگرم در هکتار بود که به صورت دستی در بیست فروردین ماه ۱۳۸۷ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه) کشت شد. این ایستگاه در عرض جغرافیایی '۳۷°۱۲ شمالی و طول جغرافیایی '۴۶°۲۰ شرقی قرار دارد و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۷۲۵ متر می‌باشد (Giyasi, 1991). صفات درصد سبز، روز تا شروع گلدهی، روز تا ۵۰٪ گلدهی، روز تا ۱۰۰٪ گلدهی، تعداد شاخه اصلی در بوته، ارتفاع بوته، تعداد طبق در بوته، تعداد بذر در طبق، وزن صددانه و عملکرد دانه (Zeinali, 1999; Pourdad, 2006) این تحقیق ارزیابی شدند.

در بررسی مولکولی، DNA از برگ‌های جوان به روش CTAB استخراج گردید (Saghai Maroof et al., 1994). کیفیت و کمیت DNA استخراجی از طریق اسپکتروفتومتری و مطالعه طیف جذبی DNA در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر و نیز الکترفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از ۱۲ آغازگر پلی‌مورفیک (جدول ۲) انتخابی از بین ۲۰ آغازگر در حجم ۲۵ میکرولیتری به شرح جدول ۳ توسط دستگاه ترموسایکلر ساخت کارخانه Biometera انجام گرفت. الگوی دمای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به این شرح بود:

1. Random Amplified Polymorphic DNA

www.SID.ir

Archive of SID

الف) یک چرخه واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه، ب) ۴۰ چرخه شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه به مدت یک دقیقه، ج) اتصال آغازگر به الگو در دمای ۴۰ درجه به مدت ۵۰ ثانیه، د) بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت یک دقیقه، هـ) یک چرخه بسط نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه. محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ ۹۷ ولت طی ۲/۵ ساعت الکتروفورز مورد تفکیک قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. بعد با آب مقطر شسته و توسط دستگاه ترانس لومیناتور تحت نور UV مشاهده نوارها و عکسبرداری از ژل صورت پذیرفت. به منظور نمره‌دهی نوارها، وجود نوار واضح در هر موقعیت به صورت عدد (۱) و عدم وجود نوار به صورت عدد صفر در نظر گرفته شد، و در نهایت ماتریس صفر و یک تشکیل گردید.

تجزیه آماری صفات زراعی شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و تعیین همبستگی بین صفات انجام گرفت. تجزیه علّیت صفات معنی‌دار وارد شده در مدل رگرسیونی پس رونده به عنوان متغیر مستقل بر روی صفت عملکرد دانه به عنوان متغیر وابسته انجام شد. برای گروه‌بندی لاین‌ها از تجزیه خوشه‌ای با روش WARD و معیار فاصله اقلیدسی برای داده های زراعی؛ و روش CLINK با فاصله ژنتیکی (UN1-۱) برای داده‌های مولکولی استفاده شد (Rohlf, 1992):

$$UN1= 2m/(n+m)$$

که در آن $m= a+d$، $u= b+c$ و $n= u+m$.

a: تعداد نوارهایی که در هر دو لاین وجود دارد، b: در لاین j نوار وجود داشته و در لاین i وجود ندارد، c: در لاین i نوار وجود داشته و در لاین j وجود ندارد و d: در هر دو لاین این نوار وجود ندارد.

		j	
		+	-
i	+	a	b
	-	c	d

همچنین معیار آماری ضریب همبستگی کوفنتیک نیز محاسبه گردید که از طریق آن میزان شباهت بین ماتریس حاصل از دارنگاره (ماتریس کوفنتیک) با ماتریس تشابه سنجیده می‌شود. جهت تعیین مناسب‌ترین محل برش در هر گروه‌بندی از تجزیه تابع تشخیص کانونیک استفاده شد. جهت انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای GenStat6، NTSYS-pc 2.02 و SPSS 11 استفاده گردید.

جدول ۱- اسامی ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم

ردیف	لاین
۱	کرمان-۱
۲	یزد-۵
۳	کرمان-۶
۴	یزد-۱۰
۵	چهارمحال بختیاری-۱۱
۶	کردستان-۱۲
۷	اراک-۱۴
۸	اراک-۱۵
۹	اراک-۱۶
۱۰	اراک-۲۱
۱۱	اصفهان-۲۳
۱۲	اصفهان-۲۴
۱۳	اصفهان-۲۵
۱۴	اصفهان-۲۶
۱۵	ترکیه-۳۰
۱۶	قبرس-۳۱
۱۷	پاکستان-۳۲
۱۸	آمریکا-۳۳
۱۹	آمریکا-۳۴
۲۰	آمریکا-۴۰

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات نشان داد که لاین‌ها در همه صفات به جز صفت تعداد طبق در بوته، اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۴). مقایسه میانگین صفات (جدول ۵) نشان داد که در بین لاین‌های مورد مطالعه، لاین اصفهان-۲۵ بیشترین و آمریکا-۴۰ کمترین درصد سبز را داشتند. با توجه به صفات تعداد روز تا شروع ۵۰ درصد و صد درصد گلدهی، لاین‌های کردستان-۱۲ و اراک-۲۱ کوتاه‌ترین و اصفهان-۲۴ بیشترین دوره رویشی را دارا بودند. اراک-۱۴ و کرمان-۶ به ترتیب با ۶۱ و ۳۹ سانتیمتر ارتفاع دارای بیشترین وکمترین ارتفاع بودند. اصفهان-۲۳ در مقایسه با دیگر لاین‌ها از بیشترین تعداد شاخه اصلی و طبق در بوته برخوردار

www.SID.ir

Archive of SID

بود. لاین چهارمحال بختیاری-۱۱ از لحاظ این صفات در کمترین مقدار قرار گرفت ولی بیشترین میانگین تعداد بذر در طبق مربوط به همین لاین بود. این امر دلالت بر رابطه عکس این صفات با یکدیگر داشت یعنی با افزایش تعداد شاخه اصلی و طبق در بوته، تعداد بذر در داخل طبق کاهش یافته بود. لاین‌های کرمان دارای بیشترین وزن دانه و اراک-۱۴ و ۱۵ دارای کمترین وزن دانه بودند. این در حالی بود که اراک-۱۵ با تولید ۱۵۶۰ کیلوگرم دانه در هر هکتار بیشترین عملکرد دانه را دارا بود ولی کرمان-۱ کمترین عملکرد را داشت.

نتایج ارزیابی همبستگی بین صفات در جدول ۶ ارایه شده است. بیشترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تعداد طبق در بوته و تعداد شاخه اصلی در بوته وجود داشت.

جدول ۲- مشخصات آغازگرها و تعداد نوارهای چند شکل مورد استفاده در این تحقیق

آغازگر	توالی	محدوده باز (جفت باز)	تعداد نوار چندشکل
OPA-09	GGGTAACGCC	۱۴۰۰-۶۵۰	۶
OPA-03	AGTCAGCCAC	۵۰۰۰-۴۰۰	۹
OPA-13	CAGCACCCAC	۱۸۵۰-۲۵۰	۱۳
OPA-20	GTTGCGATCC	۸۰۰۰-۶۵۰	۱۱
OPA-01	CAGGCCCTTC	۵۵۰۰-۲۵۰	۸
OPB-13	TTCCCCCGCT	۵۰۰۰-۲۵۰	۹
OPC-04	CCGCATCTAC	۱۲۵۰-۵۰۰	۶
OPC-13	AAGCCTCGTC	۲۲۵۰-۲۵۰	۱۲
OPK-04	CCGCCCAAAC	۱۵۰۰-۲۵۰	۶
OPK-07	AGCGAGCAAG	۸۰۰۰-۲۵۰	۱۰
P-01	CCTGGGCTTT	۱۷۵۰-۲۵۰	۵
P-05	CCTGGGCCTA	۱۰۰۰۰-۲۵۰	۹
جمع کل			۱۰۴

جدول ۳- اجزای واکنش PCR و مقادیر آنها در ۲۵ میکرولیتر

ردیف	اجزای واکنش PCR	غلظت نهایی	مقدار (µ l)
۱	بافر PCR -۱۰ برابر	یک برابر	۲/۵
۲	کلرید منیزیم (۵۰ میلی مولار)	۲ میلی مولار	۱
۳	آغازگر (۵۰ نانوگرم در میکرولیتر)	۳۳ نانوگرم	۰/۶۶
۴	Tag DNA پلیمراز (۵ واحد در میکرولیتر)	۱ واحد	۰/۲
۵	مخلوط نوکلوتیدی (از هر نوکلوتید ۲۵۰ میکرومولار)	۵ میکرومولار از هر نوکلوتید	۰/۵
۶	DNA (۲۵ نانوگرم در میکرولیتر)	۵۰ نانو گرم	۲
۷	آب مقطر دیونیزه		۱۸/۱۴
	جمع		۲۵

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات ۲۰ لاین مورد مطالعه گلرنگ بهاره تحت شرایط دیم

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد سبز	روز تا شروع گلدهی	روز تا ۵۰ ٪ گلدهی	روز تا ۱۰۰ ٪ گلدهی	تعداد شاخه اصلی	تعداد طبق در بوته	تعداد بذر در طبق	وزن صددانه	عملکرد دانه
بلوک	۲	۲۰/۴	۶	۸/۵	۶	۹/۸	۱۵۶/۲	۳۹۲/۲	۰/۱۶	۵۶۱۲۶۳
توده	۱۹	۳۰۱**	۱۲/۱**	۲۱**	۱۸/۵**	۲/۱*	۱۰/۳^{ns}	۲۵۳/۲**	۱/۶**	۱۸۸۳۲۴**
خطا	۳۸	۱۰۲/۴	۶/۱	۴/۸	۲/۸	۱/۰۶	۱۵/۲	۶۱/۱	۰/۱۵	۵۹۵۸۰
ضریب تغییرات (CV٪)		۱۸	۲/۵	۲	۱/۴	۱۴/۵	۳۴/۴	۱۸/۷	۱۰/۷	۲۷

ns، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

www.SID.ir

Archive of SID

با کاهش تراکم بوته در واحد سطح، گیاه گلرنگ بر تعداد شاخه‌های خود افزوده و فضاهای خالی اطراف خود را اشغال می‌نماید. به دنبال افزایش تعداد شاخه در هر بوته، تعداد طبق‌ها نیز در واحد سطح آزمایش افزایش می‌یابد که مطابق با مطالعات Lajeverdy (1980) می‌باشد. صفات ارتفاع بوته، تعداد طبق در بوته، درصد سبز و تعداد شاخه اصلی در بوته بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد دانه داشتند. وجود رابطه مثبت و معنی‌دار بین ارتفاع بوته و تعداد طبق در بوته با عملکرد دانه توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Tuncturk & Vahdettin, 2004; Akbari et al., 2006; Pasban Eslam & Taher Ghasemi, 2006). همچنین Alizadeh & Carapetian (2005) رابطه مستقیمی بین ارتفاع بوته و عملکرد دانه در شرایط دیم مشاهده نمودند. مشابه نتایج این تحقیق، Pascual-Villalobos & Albuquerque (1996) نیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین تعداد شاخه اصلی در بوته با عملکرد دانه گزارش نموده‌اند. همبستگی منفی بین عملکرد دانه با وزن صد دانه ($r=-۰/۳۲^{*}$) مطابق با گزارش‌ها Steer & Harrigan (1986) بود. با توجه به افزایش تعداد دانه در بوته در لاین‌های با عملکرد بالا به دلیل افزایش تعداد طبق و همزمان با افزایش دمای هوا در خرداد ماه در شرایط دیم، گیاه توانایی لازم برای پرکردن دانه‌ها را از دست داده و بذور ریز باقی می‌مانند. زیرا وقوع تنش رطوبتی پس از ورود گیاه به دوره زایشی، موجب کاهش رشد و عملکرد گیاه گلرنگ می‌شود (Khajepour, 2004).

صفات ارتفاع بوته، تعداد طبق در بوته و درصد سبز به مدل رگرسیونی پس رونده وارد شدند که این صفات ۴۳ درصد از کل تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمودند (جدول ۷). بیشترین تأثیر این صفات از طریق اثرات مستقیم بر روی عملکرد دانه بوده است و بخش عمده‌ای از همبستگی این صفات با عملکرد از طریق همین اثرات توجیه‌پذیر است. اثرات غیرمستقیم صفات وارد شده در مدل چندان بر عملکرد مؤثر نبودند. مقدار اثر باقیمانده نشان داد که صفات دیگری نیز وجود داشتند که در مدل وارد نشده ولی بر عملکرد مؤثر بودند. با توجه به نتایج ارایه شده، صفات ارتفاع بوته و تعداد طبق در بوته

جدول ۵- میانگین صفات ۲۰ لاین مورد مطالعه گلرنگ بهاره تحت شرایط دیم

لاین	درصد سبز	روز تا شروع گلدهی	روز تا ۵۰ درصد گلدهی	روز تا صد درصد گلدهی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه اصلی در بوته	تعداد طبق در بوته	تعداد بذر در طبق	وزن صددانه (gr)	عملکرد دانه (Kg)
کرمان-۱	۳۸ de	۱۰۱ abcd	۱۰۶ e	۱۱۴ fgh	۴۱ gh	۷ abc	۱۱ abcde	۳۱ cd	۵ a	۵۰۱ f
یزد-۵	۶۰ abc	۱۰۱ abcd	۱۰۷ cde	۱۱۵ defgh	۴۷ bcdefgh	۸ abc	۱۴ abcde	۴۶ bc	۴ cde	۱۰۵۱ bcd
کرمان-۶	۵۲ bcd	۹۸ cd	۱۰۵ e	۱۱۴ gh	۳۹ h	۷ abc	۱۲ abc	۳۸ bcd	۵ ab	۶۰۲ def
یزد-۱۰	۶۳ abc	۹۹ bcd	۱۰۵ e	۱۱۵ efgh	۵۱ bcde	۷ abc	۱۱ abcde	۵۲ ab	۴ cdef	۸۶۹ bcdef
چهارمحال بختیاری-۱۱	۶۵ abc	۱۰۰ abcd	۱۰۷ de	۱۱۴ fgh	۴۴ efgh	۶ bc	۷ e	۶۳ a	۴ cdef	۸۰۵ bcdef
کردستان-۱۲	۵۷ abcd	۹۷ d	۱۰۵ e	۱۱۷ cdefg	۴۸ bcdefg	۷ abc	۱۰ bcde	۴۱ bcd	۴ cde	۱۰۰۳ bcde
اراک-۱۴	۵۵ bcd	۱۰۳ ab	۱۱۱ abc	۱۲۱ a	۶۱ a	۸ abc	۱۶ ab	۵۱ ab	۳ h	۱۰۹۳ bc
اراک-۱۵	۶۰ abc	۱۰۱ abcd	۱۱۱ abcd	۱۱۹ abc	۵۱ bcdef	۸ abc	۱۵ abcd	۴۲ bc	۳ gh	۱۵۶۰ a
اراک-۱۶	۵۳ bcd	۹۹ bcd	۱۰۸ bcde	۱۱۵ defgh	۵۵ abc	۸ ab	۱۲ abcde	۳۲ cd	۴ bcd	۹۴۱ bcdef
اراک-۲۱	۶۰ abc	۹۹ bcd	۱۰۴ e	۱۱۳ h	۴۸ bcdefg	۸ ab	۱۱ bcde	۴۵ bc	۴ cde	۹۷۷ bcdef
اصفهان-۲۳	۴۷ cde	۱۰۲ abcd	۱۰۷ e	۱۱۵ defgh	۵۰ bcdefg	۹ a	۱۸ a	۳۲ cd	۴ cde	۱۰۶۴ bcd
اصفهان-۲۴	۵۵ bcd	۱۰۴ a	۱۱۳ a	۱۲۰ ab	۴۹ bcdefg	۷ abc	۱۲ abcde	۴۰ bcd	۳ fgh	۷۰۶ cdef
اصفهان-۲۵	۷۵ a	۱۰۱ abcd	۱۱۲ ab	۱۲۰ abc	۵۳ bcd	۷ abc	۷ de	۲۷ d	۳ efgh	۱۱۱۳ bc
اصفهان-۲۶	۶۸ ab	۱۰۴ a	۱۱۱ abc	۱۱۸ abcd	۵۶ ab	۶ c	۱۱ bcde	۵۲ ab	۳ gh	۱۳۳۸ ab
ترکیه-۳۰	۶۵ abc	۱۰۰ abcd	۱۰۸ bcde	۱۱۷ cdefg	۴۲ fgh	۷ abc	۸ cde	۳۵ cd	۳ gh	۷۷۷ bcdef
قبرس-۳۱	۵۷ abcd	۱۰۳ abc	۱۰۸ bcde	۱۲۰ ab	۴۶ cdefgh	۶ c	۱۰ bcde	۵۲ ab	۳ defg	۸۱۱ bcdef
پاکستان-۳۲	۵۲ bcd	۱۰۳ abc	۱۰۶ e	۱۱۸ bcde	۴۴ defgh	۷ abc	۸ cde	۴۶ bc	۴ bc	۸۴۷ bcdef
آمریکا-۳۳	۵۸ abc	۹۹ bcd	۱۰۶ e	۱۱۹ abc	۴۲ fgh	۶ c	۸ cde	۴۱ bcd	۴ cdef	۶۷۹ CDEF
آمریکا-۳۴	۵۳ bcd	۱۰۰ abcd	۱۰۵ e	۱۱۴ gh	۴۵ defgh	۸ abc	۱۰ bcde	۳۳ cd	۴ bc	۹۲۳ BCDEF
آمریکا-۴۰	۳۰ e	۹۸ cd	۱۰۷ cde	۱۱۷ bcdef	۴۹ bcdefg	۸ a	۱۴ abcde	۳۸ bcd	۳ fgh	۵۵۱ EF

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده بین صفات در ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم

صفات	درصد سبز	روز تا شروع گلدهی	روز تا ۵۰٪ گلدهی	روز تا ۱۰۰٪ گلدهی	تعداد شاخه در بوته اصلی	ارتفاع بوته	تعداد طبق در بوته	تعداد بذر در طبق	وزن صد دانه
روز تا شروع گلدهی	۰/۱۱^{ns}								
روز تا گلدهی ۵۰٪	۰/۲۶*	۰/۵۷**							
روز تا گلدهی ۱۰۰٪	۰/۱۰^{ns}	۰/۴۰**	۰/۵۸**						
تعداد شاخه اصلی در بوته	-۰/۴۲**	-۰/۲۹*	-۰/۱۶^{ns}	-۰/۱۹^{ns}					
ارتفاع بوته	۰/۱۶^{ns}	۰/۰۸^{ns}	۰/۳۲*	۰/۲۹*	۰/۲۹*				
تعداد طبق در بوته	-۰/۳۵**	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۳^{ns}	-۰/۰۱^{ns}	۰/۶۷**	۰/۲۶*			
تعداد بذر در طبق	۰/۱۴^{ns}	۰/۱۴^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۰/۰۴^{ns}	-۰/۳۹**	۰/۱۰^{ns}	۰/۲۸*		
وزن صد دانه	۰/۲۲^{ns}	-۰/۳۱*	-۰/۵۵**	-۰/۵۴**	۰/۰۴^{ns}	-۰/۳۶**	-۰/۰۶^{ns}	-۰/۲۲^{ns}	
عملکرد دانه	۰/۳۰*	۰/۱۷^{ns}	۰/۱۸^{ns}	۰/۱۳^{ns}	۰/۲۷*	۰/۵۶**	۰/۳۵**	۰/۱۰^{ns}	-۰/۳۲*

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

که خود متأثر از درصد سبز بودند در تعیین میزان عملکرد دانه بیشترین اثر را داشتند. این نتایج در مطالعات Tuncturk & Vahdettin (2004)، Kumar et al. (1982)، Abel & Driscoll (1976) و Khidir (1974) نیز گزارش شده‌اند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات زراعی ارزیابی شده لاین‌های مورد بررسی را در چهار گروه قرار داد (شکل۱). شاخص‌ترین ویژگی گروه یک داشتن کمترین تعداد شاخه اصلی در بوته و تعداد طبق در بوته و بیشترین تعداد بذر در طبق بود. گروه دو دارای کمترین عملکرد دانه، درصد سبز، ارتفاع بوته و تعداد بذر در طبق بود ولی دارای بیشترین تعداد شاخه اصلی‌در بوته و تعداد طبق در بوته و وزن صد دانه بوده و شامل لاین‌هایی بود که کوتاه‌ترین دوره رویشی را داشتند. بر اساس صفات زراعی، گروه سه با تنها عضو خود (اراک-۱۵) دارای بیشترین درصد سبز، تعداد شاخه اصلی در بوته و عملکرد دانه بوده همچنین دارای میانگین بالاتری از میانگین کل در صفات ارتفاع بوته و تعداد طبق در بوته بود. از صفات نامطلوب این گروه داشتن دوره رشد طولانی نسبت به سایر گروه‌ها و حداقل میانگین وزن صد دانه بود. بارزترین ویژگی گروه چهار داشتن حداکثر میانگین ارتفاع و رتبه دوم عملکرد دانه در بین گروه‌ها بود ولی در صفات دیگر در حد متوسط قرار می‌گرفت (جدول ۹). طبق این گروه‌بندی دو گروه سوم و چهارم شامل مطلوب‌ترین لاین‌های مورد ارزیابی بودند.

از مجموع ۲۰ آغازگر مورد استفاده، ۱۲ آغازگر چند شکلی قابل توجهی نشان دادند. نوارهای ایجاد شده توسط این آغازگرها در محدوده ۲۵۰ تا ۱۰ هزار جفت باز قرار داشتند (شکل ۲). برای مجموع لاین‌ها ۱۰۴ نوار چند شکل با میانگین ۸/۷ نوار به ازای هر آغازگر تشکیل گردید. آغازگرهای OPA-13 و P-01 به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد نوار چند شکل را داشتند (جدول ۲). به ازای هر آغازگر، Mahasi et al. (2009)، ۴/۴ نوار چند شکل، Ahmadzade (2007) ۸/۷ نوار چند شکل و Vilatersana et al. (2005) ۱۷ نوار چند شکل را گزارش نموده‌اند. از این رو میانگین ۸/۷ نوار چند شکل به ازای هر آغازگر وضعیت مطلوبی داشت و منطقه وسیعی از نواحی ژنومی را پوشش داده بود. میانگین کل فاصله ژنتیکی بین لاین‌ها ۰/۱۹ بود که بیشترین فاصله بین اصفهان-۲۶ و یزد-۵ در حدود ۰/۴۰ و کمترین فاصله بین کرمان-۱ و اراک-۲۱ در حدود ۰/۰۰۵ بود (جدول ۸).

جدول ۷- جدول تجزیه علّیت صفات در ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم

صفت	همبستگی با عملکرد دانه	اثر مستقیم	اثر غیرمستقیم از طریق		
			ارتفاع بوته	تعداد طبق در بوته	درصد سبز
ارتفاع بوته	۰/۵۶**	۰/۴۱**	-	۰/۱۰	۰/۰۶
تعداد طبق در بوته	۰/۳۵**	۰/۳۶**	۰/۱۱	-	-۰/۱۲
درصد سبز	۰/۳۰**	۰/۳۵**	۰/۰۷	-۰/۱۲	-

R^2_a =۰/۴۳ R^2 =۰/۴۶ R =۰/۶۸ e =۰/۲۳

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

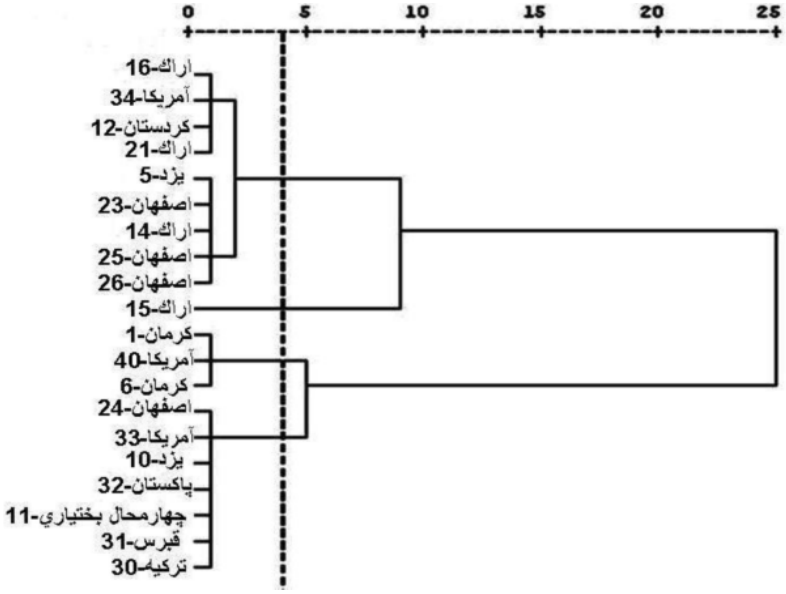
www.SID.ir

Archive of SID

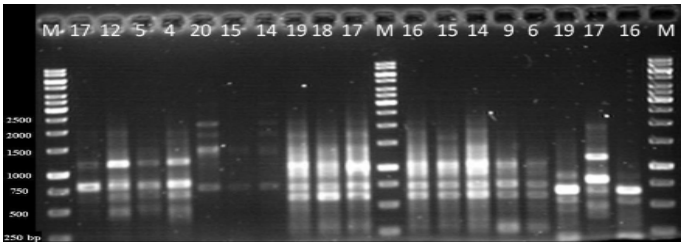
تجزیه خوشه‌ای بر اساس نوارهای چند شکل نیز لاین‌های مورد بررسی را در چهار گروه قرار داد (شکل۳). ضریب کوفنتیک این تجزیه برابر ۰/۷۸ بود. در بین گروه‌ها، گروه یک دارای بیشترین میانگین عملکرد دانه، وزن صد دانه، تعداد شاخه اصلی در بوته و تعداد طبق در بوته بود و نسبت به سایر گروه‌ها دوره رویشی کوتاه‌تری داشت. گروه دوم با بیشترین میانگین ارتفاع بوته، جزو گروه‌های با طولانی‌ترین دوره رویشی بود. گروه سوم دارای صفت مطلوب برتری نبود و کمترین درصد سبز و وزن صد دانه را داشت. گروه چهارم هر چند دارای صفات برتری مانند درصد سبز و تعداد بذر در طبق بالایی بود ولی داشتن دوره گلدهی طولانی، ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی و تعداد طبق در بوته کم و مهم‌تر از همه عملکرد دانه پایین از اهمیت آن کاسته بود (جدول ۱۰).

با در نظر گرفتن گروه‌بندی بر اساس صفات زراعی و نوارهای باندی حاصل از RAPD، همچنین پراکندگی لاین‌های ایرانی در دو نوع گروه‌بندی در چهار گروه و با توجه به فاصله ژنتیکی بین لاین‌های ایرانی، می‌توان گفت که تنوع ژنتیکی بالایی در بین لاین‌های ایرانی مورد مطالعه در این تحقیق وجود داشت. که می‌توان از این لاین‌ها (اصفهان-۲۶ و اراک-۱۵) در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد (جدول ۸).

با مقایسه گروه‌بندی‌های زراعی و مولکولی مشاهده شد که بعضی لاین‌ها در هر دو نوع گروه‌بندی در گروه‌های همسان قرار داشتند ولی ضریب همبستگی



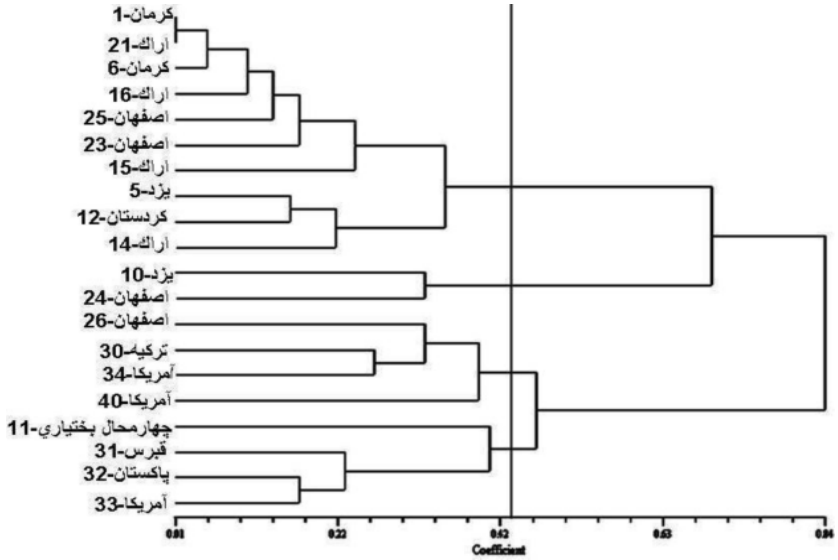
شکل ۱- دارنگاره حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات زراعی در ۲۰ لاین گلرنگ



شکل ۲- نوارهای مربوط به آغازگرها و لاین‌های مختلف گلرنگ بهاره بر روی ژل آگارز، M=لدر (1Kb) و به ترتیب از چپ به راست، لاین‌های ۱۷، ۱۲، ۵، ۴ که بوسیله آغازگر (OPC-04) سپس لاین‌های ۲۰، ۱۵، ۱۴ بوسیله آغازگر (OPA-20) و لاین‌های ۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۴، ۹، ۶ با آغازگر (OPA-13) و لاین‌های ۱۹، ۱۷، ۱۶ با آغازگر (OPK-04) فراوانی نوارها را در لاین‌ها و آغازگرهای گوناگون نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- دارنگاره حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر مولکولی RAPD در ۲۰ لاین گلرنگ

جدول ۸- فاصله ژنتیکی (1-UN1) ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم

لاین	کرمان ۱	یزد ۵	کرمان ۶	یزد ۱۰	چهارمحال بختیاری ۱۱	کردستان ۱۲	اراک ۱۴	اراک ۱۵	اراک ۱۶	اراک ۲۱	اصفهان ۲۳	اصفهان ۲۴	اصفهان ۲۵	اصفهان ۲۶	ترکیه ۳۰	قبرس ۳۱	پاکستان ۳۲	آمریکا ۳۳	آمریکا ۳۴
یزد ۵	۰/۱۰۱																		
کرمان ۶	۰/۰۲۰	۰/۱۱۲																	
یزد ۱۰	۰/۳۰۰	۰/۲۰۲	۰/۳۳۲																
چهارمحال بختیاری۱۱	۰/۲۷۶	۰/۲۲۴	۰/۲۶۱	۰/۲۶۱															
کردستان ۱۲	۰/۱۰۶	۰/۰۷۸	۰/۱۰۶	۰/۲۲۴	۰/۱۷۵														
اراک ۱۴	۰/۱۶۲	۰/۱۰۶	۰/۱۷۵	۰/۱۸۹	۰/۲۰۹	۰/۱۰۱													
اراک ۱۵	۰/۱۱۸	۰/۱۲۴	۰/۱۱۸	۰/۳۱۶	۰/۲۴۶	۰/۱۳۰	۰/۱۲۴												
اراک ۱۶	۰/۰۴۵	۰/۱۱۸	۰/۰۴۵	۰/۳۲۵	۰/۲۳۸	۰/۰۸۹	۰/۱۶۹	۰/۱۱۲											
اراک ۲۱	۰/۰۰۵	۰/۱۰۶	۰/۰۲۵	۰/۳۰۸	۰/۲۶۸	۰/۱۱۲	۰/۱۶۹	۰/۱۱۲	۰/۰۵۱										
اصفهان ۲۳	۰/۰۶۱	۰/۰۷۸	۰/۰۷۲	۰/۲۶۸	۰/۲۳۱	۰/۰۸۳	۰/۱۱۲	۰/۰۹۵	۰/۰۵۶	۰/۰۶۷									
اصفهان ۲۴	۰/۲۳۱	۰/۲۰۹	۰/۲۴۶	۰/۱۶۲	۰/۱۸۲	۰/۲۰۲	۰/۱۳۰	۰/۲۶۱	۰/۲۲۴	۰/۲۳۸	۰/۱۴۹								
اصفهان ۲۵	۰/۰۵۱	۰/۱۲۴	۰/۰۶۱	۰/۳۳۳	۰/۲۶۱	۰/۱۰۶	۰/۱۷۵	۰/۱۱۸	۰/۰۶۷	۰/۰۴۵	۰/۰۸۳	۰/۲۴۶							
اصفهان ۲۶	۰/۳۵۱	۰/۳۹۶	۰/۳۳۳	۰/۳۱۶	۰/۲۳۱	۰/۲۶۸	۰/۲۷۶	۰/۳۳۳	۰/۲۹۲	۰/۳۴۲	۰/۲۸۴	۰/۲۶۱	۰/۳۳۳						
ترکیه ۳۰	۰/۳۰۸	۰/۳۰۰	۰/۲۹۲	۰/۲۷۶	۰/۱۵۶	۰/۲۱۶	۰/۲۳۸	۰/۳۲۵	۰/۲۸۴	۰/۳۰۰	۰/۲۷۶	۰/۲۳۸	۰/۳۲۵	۰/۱۳۷					
قبرس ۳۱	۰/۱۷۵	۰/۱۶۹	۰/۱۶۲	۰/۲۶۱	۰/۱۵۶	۰/۱۱۲	۰/۱۰۶	۰/۱۶۲	۰/۱۵۶	۰/۱۶۹	۰/۱۴۹	۰/۱۹۵	۰/۱۸۹	۰/۲۳۱	۰/۱۴۳				
پاکستان ۳۲	۰/۲۰۹	۰/۲۴۶	۰/۱۹۵	۰/۲۵۳	۰/۲۰۲	۰/۱۶۹	۰/۱۶۲	۰/۲۲۴	۰/۱۷۵	۰/۲۱۶	۰/۱۵۶	۰/۱۴۹	۰/۲۳۸	۰/۱۳۰	۰/۱۶۲	۰/۱۱۲			
آمریکا ۳۳	۰/۲۲۴	۰/۲۳۱	۰/۲۰۹	۰/۳۳۳	۰/۱۸۹	۰/۱۶۹	۰/۱۸۹	۰/۲۲۴	۱۸۹	۰/۲۱۶	۰/۱۶۹	۰/۲۰۲	۰/۲۳۸	۰/۱۵۶	۰/۱۴۹	۰/۱۰۱	۰/۰۸۳		
آمریکا ۳۴	۰/۲۶۱	۰/۳۰۰	۰/۲۴۶	۰/۲۶۱	۰/۲۲۴	۰/۲۱۶	۰/۲۳۸	۰/۳۰۸	۰/۲۲۴	۰/۲۶۸	۰/۲۱۶	۰/۱۹۵	۰/۲۹۲	۰/۱۶۲	۰/۱۳۰	۰/۱۶۹	۰/۱۳۷	۰/۱۷۵	
آمریکا ۴۰	۰/۲۲۴	۰/۲۶۱	۰/۲۰۹	۰/۳۰۰	۰/۲۳۱	۰/۱۹۵	۰/۲۷۶	۰/۲۶۸	۰/۲۰۲	۰/۲۳۱	۰/۱۶۹	۰/۱۷۵	۰/۲۵۳	۰/۱۹۵	۰/۱۷۵	۰/۲۱۶	۰/۱۰۶	۰/۱۵۶	۰/۱۵۰

کوفنتیک گروه‌بندی زراعی و مولکولی تشابه اندکی (۷/۷ درصد) نشان داد. عدم تشابه بین نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی در مطالعات مختلف گزارش و دلایل مختلفی برای آن بیان شده است (Amini et al., 2008; Khan et al., 2008; Mahasi et al., 2009). در نشانگر مولکولی RAPD، آغازگرها، چند شکلی را در نواحی غیر کد شونده همانند نواحی کد شونده در ژنوم پیدا می‌کنند. همچنین تشابهات مورفولوژیکی در گیاهان نیازی به تشابهات ژنتیکی ندارند، زیرا منابع ژنی می‌توانند فنوتیپ‌های مشابهی را برای ژنهای متفاوت آشکار کنند (Rolda´n-Ruiz et al., 2001; Archak et al., 2003).

نتایج این مطالعه بیانگر کارآمدی نشانگرهای RAPD در بررسی تنوع ژنتیکی میان لاین‌های مورد

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه گلرنگ می‌باشد که وجود این تنوع ژنتیکی می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گلرنگ به منظور بهبود کمی و کیفی ارقام زراعی جهت کشت پیشنهاد شود. به منظور ارزیابی دقیق و جامع تنوع ژنتیکی مطالعات مقایسه‌هایی در سطوح مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی در ژنوتیپ‌های مختلف از نواحی مختلف کشور انجام گیرد و بسته به اهداف اصلاحی محقق در جهت بهبود کمی و کیفی از نمونه‌های موجود بهره جست.

جدول ۹- میانگین و انحراف از میانگین‌کل گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم بر اساس صفات زراعی

گروه	لاین		درصد سبز	روز تا شروع گلدهی	روز تا ۵۰٪ گلدهی	روز تا ۱۰۰٪ گلدهی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه اصلی در بوته	تعداد طبق در بوته	تعداد بذر در طبق	وزن صددانه (gr)	عملکرد دانه (Kg)
۱	اصفهان-۲۴، آمریکا-۳۳، یزد-۱۰، پاکستان-۳۲، چهارمحال بختیاری-۱۱، قبرس-۳۱، ترکیه-۳۰	میانگین	۵۹	۱۰۱/۱	۱۰۷/۶	۱۱۷/۵	۴۵/۴	۶/۴	۹/۲	۴۶/۹	۳/۵	۷۸۵
		انحراف از کل	۳	۰/۴	۰/۰	۰/۸	-۲/۶	-۰/۷	-۲/۳	۵/۱	-۰/۲	-۱۲۱
۲	کرمان-۱، آمریکا-۴۰، کرمان-۶	میانگین	۴۰	۹۸/۹	۱۰۵/۹	۱۱۵/۲	۴۲/۹	۷/۶	۲۱/۶	۳۵/۶	۴/۴	۵۵۱
		انحراف از کل	-۱۶	-۱/۸	-۱/۷	-۱/۵	-۵/۱	۰/۵	۱۰/۱	-۶/۲	۰/۷	-۳۵۴
۳	اراک-۱۵	میانگین	۶۰	۱۰۱/۴	۱۱۱/۰	۱۱۹/۰	۵۱/۰	۷/۶	۱۵/۰	۴۲/۰	۲/۷	۱۵۶۰
		انحراف از کل	۴	۰/۶	۳/۴	۲/۳	۳/۰	۰/۵	۳/۴	۰/۳	-۱/۰	۶۵۵
۴	اراک-۱۶، آمریکا-۳۴، کردستان-۱۲، اراک-۲۱، یزد-۵، اصفهان-۲۳، اراک-۱۴، اصفهان-۲۵، اصفهان-۲۶	میانگین	۵۹	۱۰۰/۹	۱۰۷/۸	۱۱۶/۴	۵۱/۳	۷/۴	۱۲/۲	۳۹/۸	۳/۶	۱۰۴۵
		انحراف از کل	-۳	۰/۲	۰/۲	-۰/۳	۳/۴	۰/۳	۰/۷	-۲/۰	-۰/۱	۱۳۹
		میانگین کل	۵۶	۱۰۰/۷	۱۰۷/۶	۱۱۶/۷	۴۸/۰	۷/۱	۱۱/۵	۴۱/۸	۳/۷	۹۰۶

جدول ۱۰- میانگین و انحراف از میانگین‌کل گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ لاین گلرنگ بهاره دیم بر اساس نشانگر مولکولی RAPD

گروه	لاین		درصد سبز	روز تا شروع گلدهی	روز تا ۵۰٪ گلدهی	روز تا ۱۰۰٪ گلدهی	ارتفاع بوته (cm)	تعداد شاخه اصلی	تعداد طبق در بوته	تعداد بذر در طبق	وزن صد دانه (gr)	عملکرد دانه (Kg)
۱	کرمان۱، اراک-۲۱، کرمان-۶، اراک-۱۶، اصفهان-۲۳، اراک-۱۵، یزد-۵، کردستان-۱۲، و اراک-۱۴	میانگین	۵۵/۷	۱۰۰/۳	۱۰۷/۵	۱۱۶/۳	۴۹/۲	۷/۶	۱۲/۷	۳۸/۵	۳/۹	۹۹۱
		انحراف از کل	-۰/۵	-۰/۴	-۰/۱	-۰/۵	۱/۲	۰/۵	۱/۳	-۳/۲	۰/۳	۸۵
۲	یزد-۱۰ و اصفهان-۲۴	میانگین	۵۶/۲	۱۰۱/۷	۱۰۸/۸	۱۱۷/۳	۴۹/۹	۶/۹	۱۱/۸	۴۵/۹	۳/۳	۷۸۸
		انحراف از کل	۰/۰	۱/۰	۱/۲	۰/۶	۱/۹	-۰/۲	۰/۵	۴/۱	-۰/۴	-۱۱۸
۳	اصفهان-۲۶، آمریکا-۳۴ و آمریکا-۴۰	میانگین	۵۴/۲	۱۰۰/۷	۱۰۷/۸	۱۱۶/۵	۴۷/۹	۷/۱	۱۰/۸	۳۹/۱	۳/۲	۸۷۲
		انحراف از کل	-۲/۰	۰/۰	۰/۲	-۰/۲	-۰/۱	۰/۰	-۰/۵	-۲/۶	-۰/۵	-۳۴
۴	چهارمحال بختیاری-۱۱، قبرس-۳۱، پاکستان-۳۲، آمریکا-۳۳،	میانگین	۵۷/۹	۱۰۱/۱	۱۰۶/۹	۱۱۷/۸	۴۴/۰	۶/۱	۸/۱	۵۰/۴	۳/۷	۷۸۶
		انحراف از کل	۱/۷	۰/۵	-۰/۷	۱/۱	-۴/۰	۱/۰	-۳/۳	۸/۶	۰/۱	-۱۲۰
		میانگین کل	۵۶/۲	۱۰۰/۷	۱۰۷/۶	۱۱۶/۷	۴۸/۰	۷/۱	۱۱/۴	۴۱/۸	۳/۶	۹۰۶

سپاسگزاری

از ریاست مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور (مراغه)، آقای دکتر عبدالعلی غفاری و ریاست محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمالغرب و غرب کشور (تبریز)، آقای دکتر حجازی و نیز آقای مهندس برزگری از پژوهشکده بیوتکنولوژی و نیز محققین مؤسسه تحقسقات کشاورزی دیم کشور به خاطر کمک در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

REFERENCES

1. Abel, G. H. & Driscoll, M. F. (1976). Sequential traits development and breeding for high yield. *Crop Science*, 16, 213-216.
2. Ahmadzade, A. R. (2007). *Analysis of genetic diversity in spring safflower (Carthamus tinctorius L.) cultivars using morphological characters and RAPD markers*. Ph. D. thesis, Tehran Azad Islamic University. 113. (In Farsi).
3. Akbari, Gh. A., Sadatnori, S. A., Omidi Tabrizi, A. H., Hosinzadeh, K. & Dadresan, M. (2006). Survey physiological and Agronomical properties various type of winter safflower. In: Proceeding of *9th Iranian congress of crop production and plant breeding.* Tehran University, Aboureihan, 27- 29 August, 256. (In Farsi).
4. Alizadeh, Kh. & Carapetian, J. (2005). Genetic variation in a safflower collection grown in rainfed cold drylands. *Journal of Agronomy*, 7(3). 389-391.
5. Amini, F., Saeidi, G. & Arzani, A. (2008). Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. *Euphytica*, 163, 21-30.
6. Archak, S., Gaikwad, B., Gautam, D., Rao, E., Swamy, K. & Karihaloo, J. (2003). DNA fingerprinting of Indian cashew (*Anacardium occidentale* L.) varieties using RAPD and ISSR techniques. *Euphytica*, 230, 397–404.
7. Clegg, M. T. (1997). Plant genetic diversity and the struggle to measure*, J. Heredity*, 88, 1-7.
8. Giyasi, M. F. (1991). *Soil survey report of Maragheh Agricultural Research Station* (Ed.), Tabriz Agricultural Research Center, 27. (In Farsi).
9. Khajepour, M. (2004). *Industrial Plant* (Ed.). Jahade Daneshgahi-Vahed Sanati Isfahan, Markaze Entasharat, 2-114, 564. (In Farsi).
10. Khan, M. A., Von Witzke-Ehbrecht, S., Maass, B. L. & Becker, H. C. (2009). Relationships among different geographical groups, agro-morphology, fatty acid composition and RAPD marker diversity in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Genet Resource Crop Evol*, 56, 19-30, 2009.
11. Khidir, M. O. (1974). Genetic variability and interrelation of quantitative characters in safflower. *Journal of Agriculture Science*, 83, 197-202.
12. Karimi, H. (2004). *Crop Plants* (Ed.). University of Tehran Press (1688), (5)714.
13. Kumar, H., Agrawal, R. K., Singh, R. B. & Singh, R. M. (1982). Correlation and path analysis of oil in safflower. *Malayr Appi Biol*, 11, 19-25.
14. Mackill, D. J. (1995). Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. *Crop Science*, 35, 889-894.
15. Mahasi, M. J. L., Wachira, F. N. 2., Pathak, R. S. 2. & Riungu, T. C. (2009). Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using RAPD markers. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(1), 008-012.
16. Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235–1248.
17. Mohammadi, S. A. (2006). Analysis of molecular data in terms of genetics variation. In: Proceeding of *9th Agronomy and plant breeding congress*. Tehran University. 27-29 Aug. 96-117. (In Farsi).
18. Naghavi, M. R., Ghareyazie, B. & Hosseini Salekadeh, Gh. (2005). *Molecular Markers* (Ed.), University of Tehran Press. 2716. 334. (In Farsi).
19. Yazdi-Samadi, B. & Abd-Mishani, C. (1991). Cluster analysis in safflower. In: Proceedings of *Indian Society of oil seed Research*, 119-126.
20. Oleson, B. T. (1996). World wheat production. Utilization and trade. In: Bushuk, W. and Rasper, V. F. (Ed.), *wheat production properties and quality*. Chapman & Hall, 1-11.
21. Paran, J. & Michelmore, R. W. (1993). Development of reliable PCR based markers linked to downy mildew resistance gene in lettuce. *Theoritical and Applied Genetics*, 85, 985-993.
22. Pasban Eslam, B. & Taher Ghasemi, M. (2006). Evaluation of yield and yield components in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 37-1(2), 358-362. (In Farsi).
23. Pascual-Villalobos, M. J. & Albuquerque, N. (1996). Genetic variation of a safflower germplasm collection grown as a winter crop in southern Spain. *Euphytica*, 92, 327–332.
24. Persson, H. A. & Gustavsson, B. A. (2001). The extent of clonality and genetic diversity in lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) revealed by RAPDs and leaf-shape analysis. *Mol Ecol*, 10, 1385–1397.
25. Pourdad, S. S. (2006). *Safflower* (*Carthamus tinctorius* L.) (Ed.), Markaze Nashre Sepehr Publication. 123. (In Farsi).
26. Rolda´n-Ruiz, I., Van Eeuwijk, F. A., Gilliland, T. J., Dubreuil, P., Dillmann, C., Lallemand, J., De Loose, M. & Baril, C. P. (2001). A comparative study of molecular and morphological methods of

www.SID.ir

Archive of SID

describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied*. *Genetics*, 103, 1138–1150.
27. Rohlf, F. J. (1992). *Program Numerical taxonomy and multivariate analysis system (NTSYS-pc)*. Version 2.02e, New York.
28. Saadat lajeverdy, N. (1980). *Oil seed crops* (Ed.). Tehran University. Pub. 134. (In Farsi).
29. Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. & Allard, R. W. (1994). Extraordinarily polymorphic micro satellite DNA in barley: species diversity, chromosomal Locations, and population dynamics. *Proc Natl Acad Science USA*, 7, 5466-5470.
30. Simmons, M. P., Zhang, L. B., Webb, C. T. & Muller, K. (2007). A penalty of using anonymous dominant markers (AFLP, ISSRs & RAPDs) for phylogenetic inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution,* 42(2), 528-542.
31. Steer, B. T. & Harrigan, E. K. S. (1986). Rates of nitrogen supply during different developmental stages affect yield components of safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Field Crops Res*, 14, 221-231.
32. Tuncturk, M. & Vahdettin, V. C. (2004). Relationship among traits using correlation and path coefficient analysis in safflower. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(6), 683-686.
33. Vilatersana, R., Garnatje, T., Susanna, A. & Garcia-Jacas, N. (2005). Taxonomic problems in Carthamus (Asteraceae): RAPD markers and sectional classification. *Botanical Journal of the Linnean Society,* 147(3), 375-383.
34. Vojdany, P. (1996). Importance of in-situ conservation of genetic resources. In: Proceedings of *4th Agronomy and plant breeding congress*. Iran, Esfahan Industrial University, 554-573. (In Farsi).
35. Vollmann, J., Grausgruber, H., Stift, G., Dryzhyruk, V. & Lelley, T. (2005). Genetic diversity in Camelina germplasm as revealed by seed quality characteristics and RAPD polymorphism. *Plant Breeding,* 124, 446–453.
36. Zeinali, E. (1999). *Safflower (Characteristics, Production & Utilization)* (Ed.). Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (1)144.

www.SID.ir