Archive of SID

بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های تره ایرانی (*Allium ampeloprasum*) با استفاده از نشانگر رپید (RAPD)

فرشاد دشتی[۱]، عبدالکریم کاشی[۲]، علی وزوایی[۳]، امیر موسوی[۴] و احمد ارشادی[۱]

چکیده

نشانگر رپید به‌دلیل سرعت بالا و هزینه نسبتاً کم به‌طور وسیعی در بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان مختلف بکار برده شده است. در این تحقیق از نشانگر رپید جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۸ توده تره ایرانی و مقایسه آنها با کورات (*Allium ampeloprasum* Kurrat Group) و تره‌فرنگی (*Allium ampeloprasum* Leek Group)، استفاده شد. از ۳۲۰ آغازگر ده‌تایی مورد آزمایش ۹ عدد باندهای مناسب و دارای پلی مورفیسم نشان دادند که در دسته‌بندی گیاهان مورد استفاده قرار گرفت. بر این مبنا فاصله ژنتیکی بین گیاهان محاسبه شده و آنالیز خوشه‌ای برای تعیین روابط خویشاوندی صورت پذیرفت. دو گیاه تره‌فرنگی و کورات در دو دسته جداگانه و مجزا از توده‌های تره ایرانی قرار گرفتند. توده‌های تره ایرانی نیز در ۶ دسته مجزا قرار گرفتند. اکثر توده‌ها (۱۹ عدد) جزء دسته ششم بودند که نشان دهنده فاصله ژنتیکی کم بین توده‌های تره ایرانی می‌باشد. سه توده اهواز ۱۹، زابل ۲۶ و اراک ۵۸ در سه دسته جداگانه و مجزا از سایر توده‌ها قرار گرفتند که شباهت ژنتیکی کمتر این توده‌ها با سایر توده‌ها را نشان می‌داد. با توجه به همخوانی نتایج به‌دست آمده در این آزمایش با تحقیقات قبلی، کارایی تکنیک رپید در بررسی تنوع ژنتیکی در این آزمایش مشخص شد.

واژه‌های کلیدی: تره ایرانی، تنوع ژنتیکی، رپید، آلیوم

۱. استادیاران گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا
۲ و ۳. به‌ترتیب استاد و دانشیار (سابق) گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
۴. عضو هیأت علمی و پژوهشگر مرکز ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در کشور ایران به دلیل عدم شناخت ذخایر ژنتیکی و ژن‌های مطلوب، برنامه اصلاحی درخور توجهی روی گیاهان باغبانی خصوصاً سبزی‌ها صورت نگرفته است. لذا می‌توان با شناسایی خصوصیات گونه‌های مختلف و ارقام آن‌ها، ژن‌های مطلوب و مورد نیاز محققین را در دسترس آنها قرار داد. تره ایرانی به عنوان یک سبزی برگی پر مصرف از خانواده آلیاسه[1] و جنس آلیوم[2] از سابقه کشت و کار طولانی در ایران برخوردار است. با نگاهی به منابع علمی می‌توان دریافت که تحقیقات بسیار محدودی روی این گیاه صورت گرفته است.

طاهباز (۱۹۷۶) تره ایرانی را از نظر رده‌بندی تا مجاورت گیاه زیرگونه ایرانیکوم[3] مشخص کرد. صرفاً بر مبنای همین تحقیق وان‌درمیر[4] (۱۹۹۷) تره ایرانی را به عنوان گروهی مستقل[5] (البته به طور مشکوک) به حساب آورده است و بر مبنای آن مقاله، این گروه به صورت مستقل در جدیدترین رده‌بندی آلیوم‌ها آورده شده است (فریش و فریزن[6]، ۲۰۰۲). طاهباز همچنین کاریوتایپ[7] دو گیاه تره ایرانی و تره‌فرنگی را مقایسه نمود. وی در نهایت نتیجه‌گیری کرد که هر دو گیاه الوپلی پلوپید[8] بوده و تفاوت بین آنها مؤید این مطلب است که از دو زیرگونه متفاوت می‌باشند.

موسوی (۱۳۷۳)، به منظور ثبت خصوصیات و تنوع صفات موجود در تره ایرانی، تعیین فرم‌ها و تیپ‌های موجود در آن و در نهایت مقایسه آن با سایر گروه‌های گونه امپلوپرازوم[9]، مطالعات مورفولوژی و سیتولوژی روی نمونه‌های مختلف از تره ایرانی (ارومیه، اصفهان، شادگان، سمنان، کرج، کرمانشاه، لرستان، مازندارن و یزد) و گیاه وحشی زیرگونه ایرانیکوم انجام داد. از مجموع ۴۵ صفت کمی و کیفی مورد مطالعه در بین نمونه‌های مختلف ۲۵ صفت تفاوت نشان دادند. نمونه‌های اصفهان و شادگان ظاهراً دو اکوتیپ متفاوت را در داخل نمونه‌های مورد بررسی تشکیل می‌دادند. این محقق همچنین مطالعات سیتولوژیک روی ۴ نمونه اصفهان، شادگان، لرستان و یزد که دارای حداکثر اختلاف مورفولوژی بودند، انجام داد و مکان سانترومر و طول بازوهای کروموزوم‌های آن‌ها را تعیین کرد. علاوه بر این در مقایسه انجام شده بین تره ایرانی و زیرگونه ایرانیکوم، وجود اختلاف‌های مورفولوژی نشان داد که تره ایرانی دارای هویتی مستقل از زیرگونه مجاور و خویشاوند خود بوده و لذا موسوی، نتایج حاصل از ارزیابی نمونه‌های مختلف را در قالب یک شرح مستقل[10] ارائه نمود. وی در نهایت نام علمی *Allium ampeloprasum* ssp. *persicum* Mousavi Kashi را برای تره ایرانی پیشنهاد کرد.

پناهنده و آقایف (۱۳۷۹) در بررسی کاریولوژی تره ایرانی به این نتیجه رسیدند که تره ایرانی گیاهی تتراپلویید با تعداد کروموزوم ۳۲ می‌باشد.

کوهپایگانی (۱۹۹۹) جهت تعیین تنوع ژنتیکی مطالعات مورفولوژی روی ۷۱ توده تره ایرانی انجام داده و توده‌ها را بر اساس فاصله ژنتیکی آن‌ها دسته‌بندی نمود. وی همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده را بررسی نمود و همبستگی معنی‌داری بین رنگ برگ و شاخص‌های رشدی نظیر تعداد، طول و عرض برگ و همچنین بین اندازه چتر گل با تعداد گل‌ها در هر چتر بدست آورد.

اتو[11] و همکاران (۱۹۹۲) ایزوزایم پروکسیداز[12] را بر روی برگ ۵۹ رقم و یا استرین[13] تره‌فرنگی و کورات[14] و از جمله تره ایرانی با استفاده از الکتروفورز،

1. *Alliaceae*
2. *Allium*
3. *Allium ampeloprasum* ssp. *iranicum*
4. Van der Meer
5. Taree group
6. Fritsch and Freisen
7. Karyotype
8. Allopolypliod
9. *A. ampeloprsum*
10. Descriptoion
11. Etoh
12. Proxidase Isozymes
13. Strain
14. Kurrat

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی نمودند. اگرچه ایشان در ابتدا تره ایرانی را نوعی تره‌فرنگی در نظر گرفته بودند. ولی در نهایت تره ایرانی از نظر الگوی باندی در دسته‌ای جداگانه در کنار کورات قرار گرفت که نزدیکی بیشتر تره ایرانی به کورات را نسبت به تره‌فرنگی ثابت می‌کند. ایشان در نهایت اینچنین نتیجه‌گیری کردند که سیر و تره‌فرنگی احتمالاً اجداد یکسانی دارند و کورات از تره‌فرنگی مشتق شده است.

با توجه به آنچه ذکر شد تا به حال مطالعاتی که در رابطه با توده‌های تره ایرانی صورت گرفته بر مبنای صفات مورفولوژی و سیتولوژی بوده است. نشانگرهای مورفولوژی و سیتولوژی اگرچه پایه اصلی برآورد تنوع در عالم گیاهی بوده‌اند ولی کاربرد آنها دارای محدودیت و معایبی می‌باشد. این نشانگرها که غالباً تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرند (کیک[1] و همکاران، ۱۹۹۷؛ پاول[2] و همکاران، ۱۹۹۷ و یی[3] و همکاران، ۱۹۹۹) و تعداد آنها محدود است (کابریتا[4] و همکاران، ۲۰۰۱ و کیک و همکاران، ۱۹۹۷)، اکثراً متأثر از سن گیاه می‌باشند و برای مشاهده و ثبت آن‌ها باید منتظر مرحله خاصی از بلوغ گیاه بود و ممکن است قسمت بسیار کمی از سطح واقعی تنوع ژنتیکی در بین گیاهان را نشان دهند (عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۷۷ و کابریتا و همکاران، ۲۰۰۱). با توجه به معایب ذکر شده، حرکت به سمت استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی و مولکولی فزونی یافت.

نشانگرهای مولکولی بسیار زیادی بکار برده شده‌اند، ولی نشانگرهای رپید[5] (ویلیامز[6] و همکاران ۱۹۹۰ و ولش و مک کللاند[7]، ۱۹۹۰) به دلیل سرعت بالا و هزینه کم و عدم نیاز به اطلاعات قبلی از ژنوم و ردیف دی‌ان‌آ، کاربرد بسیار زیادی در زمینه تنوع ژنتیکی داشته‌اند. این نشانگرها در جنس آلیوم برای سنجش روابط بین ارقام و تنوع ژنتیکی (الزحیم[8] و همکاران، ۱۹۹۷؛ ماب وکلاس[9]، ۱۹۹۵ و ویلکی[10] و همکاران، ۱۹۹۳)، تشخیص ارقام (ماسوالی و گالمارینی[11]، ۱۹۹۶)، میزان ثبات لاین‌های اینبرد[12] (برادین و هاوی[13]، ۱۹۹۵)، یافتن نشانگرهای مرتبط با صفات خاص (هونگ[14] و همکاران، ۱۹۹۷)، تأیید دورگ‌های بین گونه‌ای (دابوزت[15] و همکاران، ۱۹۹۶)، سنجش روش استخراج دی‌ان‌آ (وتاسینگ و پفلی[16]، ۱۹۹۴) و بررسی میزان تنوع در جنین‌زایی سوماتیکی (الزحیم و همکاران، ۱۹۹۹) بکار برده شده است. کارایی کاربرد نشانگرهای رپید در سنجش تنوع ژنتیکی در گیاهان جنس آلیوم به اثبات رسیده است (الزحیم و همکاران، ۱۹۹۷؛ ماب وکلاس[17]، ۱۹۹۵ و ویلکی و همکاران، ۱۹۹۷).

در تحقیق حاضر ۲۸ توده تره ایرانی همراه با تک ارقامی از کورات و تره‌فرنگی توسط نشانگر رپید مورد بررسی قرار گرفتند. بطور کلی اهداف این تحقیق شامل: ۱- سنجش تنوع و تعیین فاصله ژنتیکی بین توده‌های تره ایرانی ۲- بررسی ارتباط تره ایرانی با دو گیاه کورات و تره‌فرنگی توسط تکنیک رپید می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۲۸ توده تره ایرانی همراه دو گیاه کورات و تره‌فرنگی توسط نشانگر رپید مورد بررسی قرار گرفتند. بذور توده‌های تره ایرانی، تره‌فرنگی و کوارت در گلدان و در گلخانهٔ تحقیقاتی (با متوسط دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد) کشت شده و پس از تولید برگ‌های مناسب،

1. Kik
2. Paul
3. Yee
4. Cabrita
5. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)
6. Williams
7. Welsh and Mc Clelland

8. Al-Zahim
9. Maab and Klaas
10. Wilkie
11. Masuelli and Galmarini
12. Inbred lines
13. Bradeen and Havery
14. Hong
15. Dubouzet
16. Wettasinghe and Peffley
17. Maab and Klaas

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه‌گیری جهت استخراج دی‌ان‌آ صورت گرفت. کلیه مراحل تحقیق در آزمایشگاه تحقیقاتی پروفسور اتو در دانشگاه کاگوشیمای ژاپن انجام شد.

استخراج دی‌ان‌آ با کمی تغییرات به روش مورای و تامپسون[1] (۱۹۸۰) صورت گرفت. کمیت و کیفیت دی‌ان‌آ با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. برای اینکه نمونه دی‌ان‌آ استفاده شده نماینده درستی از دی‌ان‌آ گیاه کشت شده باشد، برای هر گیاه از ۸ تک بوته دی‌ان‌آ استخراج گردید و پس از تعیین غلظت دی‌ان‌آ، مقدار مساوی وزنی از نمونه‌ها با هم ترکیب شده و دی‌ان‌آ مخلوط ۸ گیاه برای آزمون رپید استفاده شد (ماسوالی و گالمارینی ۱۹۹۶).

مراحل آزمایش رپید بر مبنای روش ویلیامز و همکاران (۱۹۹۰) و ویلکی و همکاران (۱۹۹۳) صورت پذیرفت. بدین ترتیب که ۲۰ نانوگرم از دی‌ان‌آ مورد نظر به ۲۵ میکرولیتر محلول واکنش[2] شامل ۰/۴ میکرومول آغازگر، ۰/۲ میلی‌مول از هر کدام از نوکلئوتیدها، ۲ میلی‌مول کلرید منیزیم، ۱ واحد آنزیم تک دی‌ان‌آ پلیمراز، ۲۰ میلی‌مول تریس پی‌اچ ۸/۴ و ۵۰ میلی‌مول کلرید پتاسیم اضافه شد. سپس تیوب‌ها در دستگاه چرخه‌ساز حرارتی[3] پرکین المر[4] ۹۶۰۰ قرار داده شده و چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه ابتدایی واسرشته‌سازی[5] در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، ۴۵ چرخه هر کدام شامل یک دقیقه واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه اتصال[6] در ۳۶ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه گسترش[7] در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت یک چرخه گسترش نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بر روی نمونه‌ها اعمال شد. پس از پایان تکثیر دی‌ان‌آ، به هر کدام از تیوب‌ها ۴ میکرولیتر بافر بارگیری شامل ۰/۲۵ درصد برومونفل بلو[8]، ۱ میلی‌مول ای‌دی‌تی‌آ[9] و ۴۰ درصد ساکارز اضافه شده و سپس دی‌ان‌آهای تکثیر شده روی ژل ۱/۴ درصدی آگارز[10] حاوی اتیدیوم بروماید[11] و در طی فرآیند الکتروفورز از یکدیگر تفکیک شده و زیر نور ماوراء بنفش قابل رؤیت شدند. برای آغازگرهایی که باندهای مناسب و دارای تنوع تولید کردند، جهت اطمینان از تکرارپذیری مناسب، آزمون رپید سه بار تکرار شد.

باندهای دارای تنوع برای هر گیاه با کد ۱ برای حضور و کد صفر برای عدم حضور دسته‌بندی شدند. بررسی آماری داده‌ها در نرم افزار ان‌تی‌سیس[12] صورت گرفت، دو ضریب تشابه جاکارد[13] و دایس[14] و دو روش تجزیه خوشه‌ای گروه‌های جفتی وزن نشده[15] و گروه‌های جفتی وزن شده[16] برای تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. همچنین آزمون زیبایی برازش[17] بین روش تجزیه خوشه‌ای و ماتریس داده‌ها و آنالیز پی‌سی‌آ[18] توسط نرم افزار فوق صورت گرفت.

نتایج و بحث

از مجموع ۱۶ دسته ۲۰ تایی آغازگر رپید ساخت شرکت اپرون[19] (۳۲۰ آغازگر) ۹ عدد باندهای مناسب و دارای تنوع در بین گیاهان تولیدکردند (شکل‌های ۱ و ۲) این آغازگرها کلاً ۴۶ باند تولید کردند که ۲۶ عدد از آنها (۵۶/۵ درصد) دارای تنوع بودند که در

1. Murray and Thompson
2. Reaction solution
3. Termal cycler
4. Perkin Elmer
5. Denaturing
6. Annealing
7. Extention

8. Bromophenole blue
9. EDTA
10. Agaros
11. Ethidium bromide
12. NTSYS
13. Jaccard
14. Dice
15. Unweighted pair groups method arithmetic (UPGMA)
16. Weighted pair groups method arithmetic (WPGMA)
17. Goodness of fit
18. PCA
19. Operon

www.SID.ir

Archive of SID

دسته‌بندی توده‌های تره ایرانی مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

از بین دو ضریب تشابه و دو روش مختلف تجزیه خوشه‌ای، ضریب تشابه جاکارد و روش تجزیه خوشه‌ای گروه‌های جفتی وزن نشده دارای بالاترین ضریب همبستگی بودند (جدول ۲). بنابراین نمودار تجزیه خوشه‌ای بر این مبنا رسم شد (شکل ۳).

جدول۱: تنوع بدست آمده بین توده‌های تره ایرانی با استفاده از نشانگر رپید

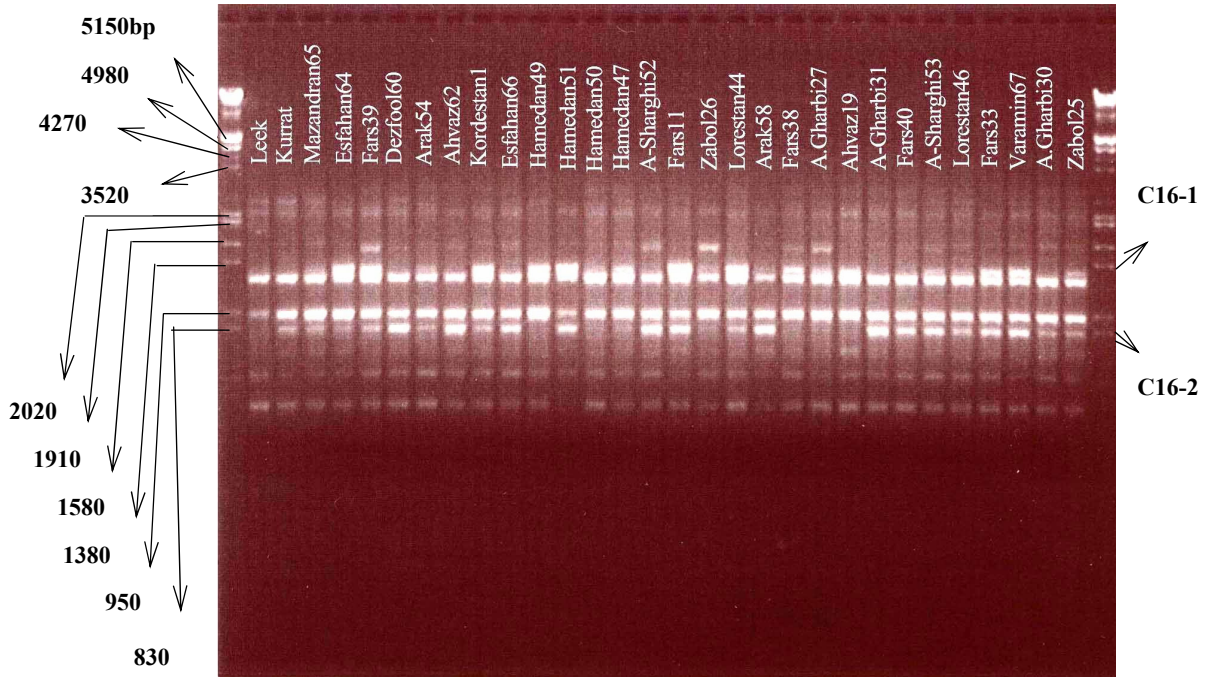
آغازگر	توالی	باندهای تولید شده	تعداد باندهای واجد تنوع	درصد تنوع
C_9	CTCACCGTCC	۵	۲	۴۰
C_{16}	CACACTCCAG	۴	۲	۵۰
F_{15}	CCAGTACTCC	۳	۱	۳۳/۳
F_{16}	GGAGTACTGG	۷	۵	۷۱/۴
I_5	TGTTCCACGG	۴	۳	۷۵
O_8	CCTCCAGTGT	۵	۳	۶۰
P_5	CCCCGGTAAC	۷	۴	۵۷/۱
S_6	GATACCTCGG	۲	۱	۵۰
S_{15}	CAGTTCACGG	۹	۵	۵۵/۵
کل		۴۶	۲۶	۵۶/۵

جدول ۲: مقادیر ضریب تشابه کوفنتیک برای دو روش تجزیه خوشه‌ای و دو ضریب تشابه در آزمون رپید

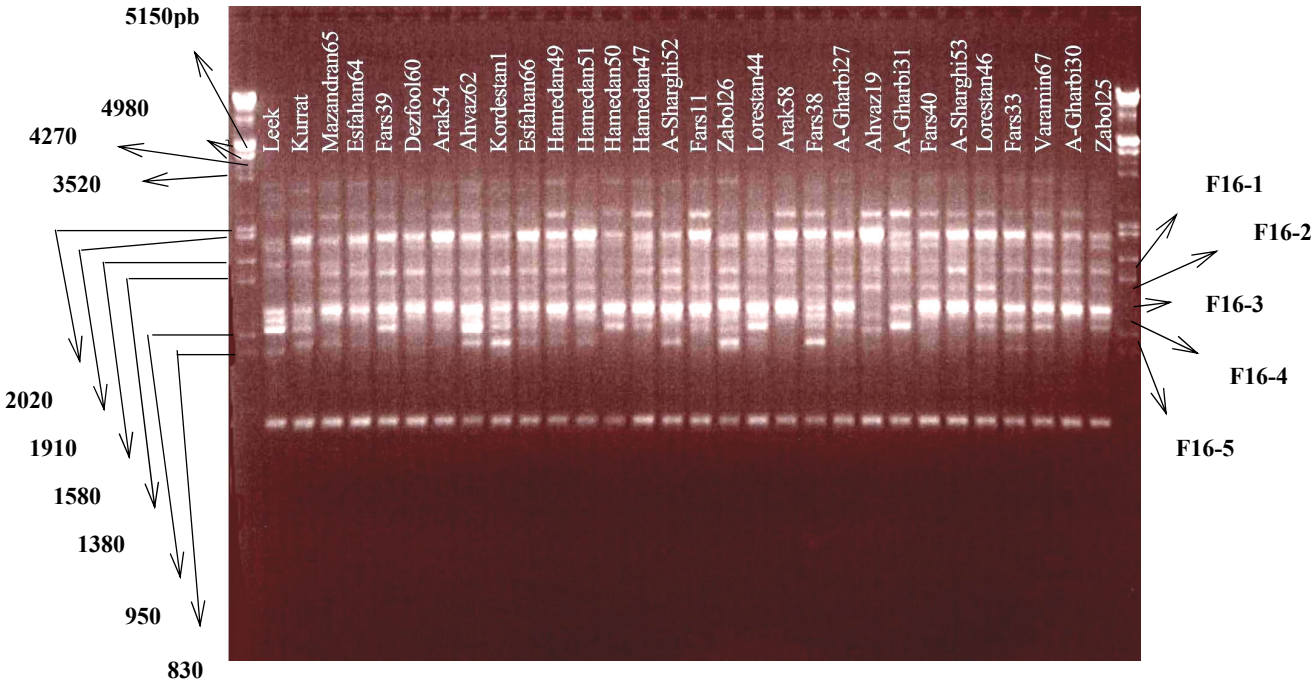
روش تجزیه خوشه‌ای	ضریب تشابه	
	جاکارد	دایس
گروه‌های جفتی وزن نشده (UPGMA)	۰/۸۱۱	۰/۸۰۵
گروه‌های جفتی وزن شده (WPGMA)	۰/۷۸۱	۰/۷۸۲

www.SID.ir

Archive of SID



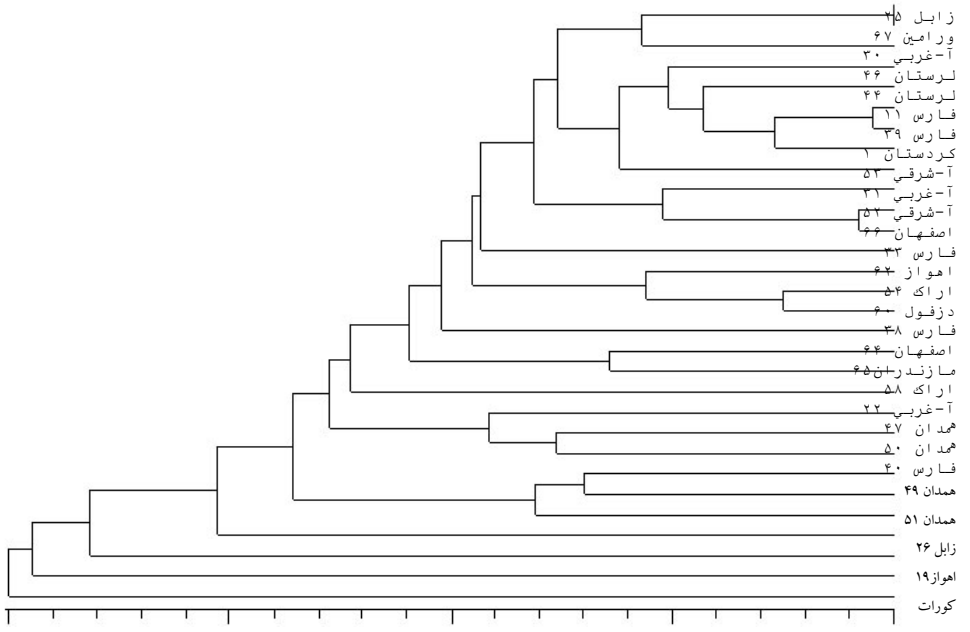
شکل ۱: تنوع مشاهده شده بین توده‌های تره ایرانی با استفاده از نشانگر رپید (آغازگر C16)



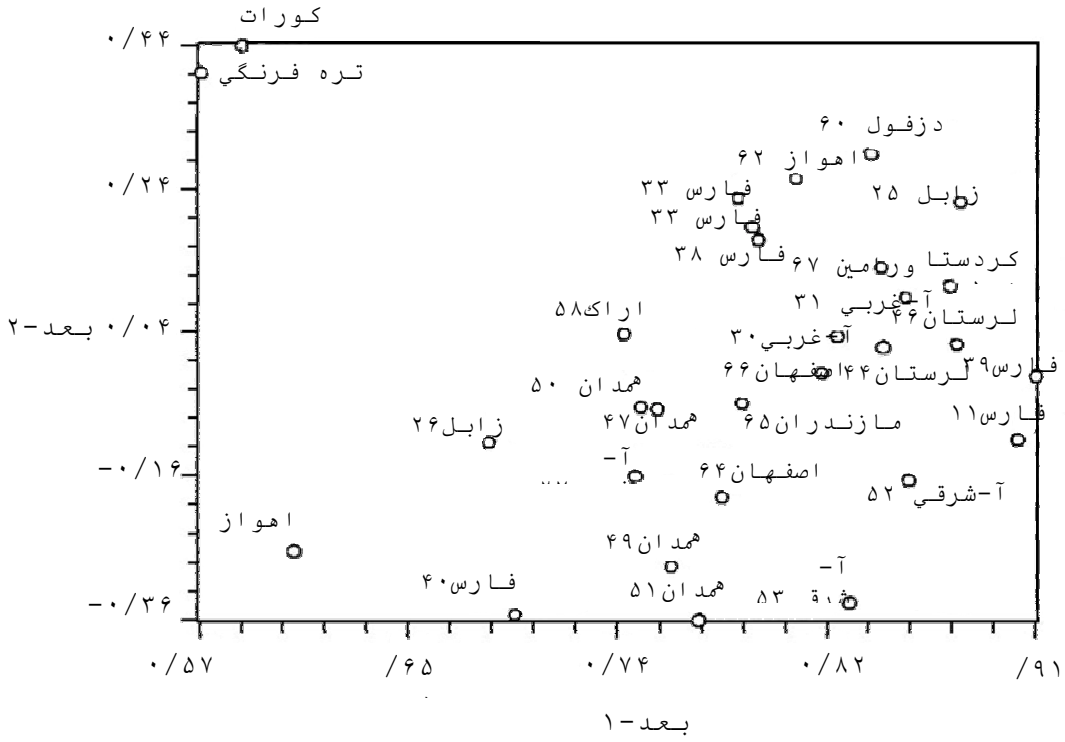
www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲: تنوع مشاهده شده بین توده‌های تره ایرانی با استفاده از نشانگر رپید (آغازگر F16)



شکل ۳: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای توده‌های تره ایرانی بر اساس آزمون رپید



شکل ۴: آنالیز پی‌سی‌آ روی توده‌های تره ایرانی بر اساس آزمون رپید

www.SID.ir

Archive of SID

نزدیکی توده‌های تره ایرانی و تنوع کم بین آن‌ها با تکنیک رپید مشخص می‌شود بطوریکه از ۳۲۰ آغازگر مورد آزمایش فقط ۹ عدد باندهای مناسب و دارای تنوع تولید کردند.

با توجه به دندروگرام (شکل ۳) می‌توان دریافت که توده‌های تره ایرانی فاصله ژنتیکی زیادی با یکدیگر ندارند و به جز تعداد کمی از آن‌ها، اکثراً در یک دسته قرار می‌گیرند. با قطع دندروگرام در میزان تشابه ۶۴ درصد دسته‌بندی‌های زیر قابل مشاهده است.

در دسته‌های اول و دوم به ترتیب دو گیاه تره‌فرنگی و کورات قرار دارند که تشابهی حدود ۴۳/۸ درصد با یکدیگر نشان داده و جدا از توده‌های تره ایرانی قرار گرفته‌اند. جدایی این دو گیاه در شکل شماره (۴) به وضوح دیده می‌شود.

قرار گرفتن دو گیاه تره‌فرنگی و کورات در دسته‌های جداگانه نشان دهنده فاصله ژنتیکی و هویت مستقل تره ایرانی نسبت به این دو گیاه است. بطور متوسط میزان تشابه تره‌فرنگی و کورات با سایر توده‌های تره ایرانی به ترتیب ۴۳ و ۴۶ درصد بود که نزدیکی بیشتر کورات به تره ایرانی را نسبت به تره‌فرنگی نشان می‌دهد. کورات که نزدیک‌ترین گیاه زارعی به تره ایرانی می‌باشد (وان‌در میر، ۱۹۹۷)، حدود ۴۶ درصد با تره ایرانی شباهت نشان می‌دهد که با نتایج اتو و همکاران (۱۹۹۲) مطابقت دارد. عدم قرار گرفتن کورات در بین تره‌های ایرانی نشان دهنده هویت مستقل تره ایرانی نسبت به کورات است. از طرفی تره‌فرنگی حدود ۴۳ درصد با توده‌های تره ایرانی مشابهت نشان می‌دهد که فرضیه ارائه شده از طرف طاهباز (۱۹۷۱) و موسوی (۱۳۷۳) مبنی بر اینکه تره‌فرنگی نزدیک‌ترین گیاه زراعی به تره ایرانی می‌باشد را رد می‌کند. نزدیکی کورات به تره‌فرنگی بیشتر از تره ایرانی به گیاه مذکور می‌باشد که نشانه قرابت بیشتر کورات با تره‌فرنگی می‌باشد. این نتایج با نظریه اتو و همکاران مبنی بر نزدیکی کورات به تره‌فرنگی و احتمال منشاء گرفتن کورات از تره‌فرنگی مطابقت دارد.

موسوی (۱۳۷۳) درمقایسه تره ایرانی و گیاه وحشی زیرگونه ایرانیکوم[1] نام علمی آلیوم آمپلوپرازوم زیرگونه پرسیکوم[2] را برای تره ایرانی پیشنهاد نمود. ایشان تره ایرانی را با گیاه زراعی کورات (آلیوم آمپلوپرازوم واریته کورات[3] و مترادف با آلیوم کورات[4]) که نزدیک‌ترین گیاه به تره ایرانی می‌باشد (وان‌در میر ۱۹۹۷) مقایسه نمود. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، تره ایرانی دارای هویتی مستقل از کورات و تره‌فرنگی (آلیوم آمپلوپرازوم واریته پوررووم[5]) می‌باشد. از نظر دسته‌بندی باغبانی نام آلیوم آمپلوپرازوم گروه تره[6] برای گیاه مذکور که توسط وان‌در میر (۱۹۹۷) و بر مبنای تحقیقات طاهباز (۱۹۷۶) پیشنهاد شده است، تأیید می‌شود.

در دسته سوم توده تره ایرانی اهواز ۱۹ به تنهایی قرار گرفته است که کم‌ترین شباهت ژنتیکی را با تره‌فرنگی و سپس کورات (به ترتیب ۲۲ و ۲۵ درصد) نشان می‌دهد.

در دسته چهارم توده زابل ۲۶ قرار گرفته است که اگرچه به تنهایی یک دسته را تشکیل داده است، ولی فاصله ژنتیکی کم‌تری با بقیه توده‌ها نسبت به توده اهواز ۱۹ دارد.

در دسته پنجم توده‌های همدان ۵۱، همدان ۴۹ و فارس ۴۰ قرار دارند که با یکدیگر شباهتی بیش از ۷۰ درصد نشان می‌دهند.

دسته ششم را توده‌های همدان ۵۰، همدان ۴۷ و آذربایجان غربی ۲۷ تشکیل می‌دهند که اعضای این دسته نیز شباهتی حدود ۷۰ درصد با یکدیگر نشان می‌دهند.

توده اراک ۵۸ به تنهایی در دسته هفتم و بقیه توده‌ها (۱۹ عدد) در دسته هشتم قرار می‌گیرند.

1. *Allium ampeloprasum* ssp. *iranicum*
2. *A. ampeloprasum* ssp. *persicum*
3. *A. ampeloprasum* var. *kurrat*
4. *A. kurrat*
5. *A. ampeloprasum* var. *porrum*
6. *A. ampeloprasum* Tareh Group

www.SID.ir

Archive of SID

تودهای زابل ۲۵ با ورامین ۶۷، فارس ۱۱ با فارس ۳۹ و آذربایجان شرقی ۵۲ با اصفهان ۶۶ به ترتیب با ۹۰، ۸۸/۹ و ۸۸/۲ درصد، بیشترین تشابه را در بین توده‌های تره ایرانی نشان دادند که همگی این توده‌ها از دسته هشتم می‌باشند که نشان دهنده نزدیکی توده‌های موجود در این گروه می‌باشد. این نتایج با آزمون پی‌سی‌آ (شکل ۴) مطابقت دارد.

در این آزمایش قرابت و همبستگی واضح و کاملی بین توده‌های تره ایرانی از نظر پراکنش جغرافیایی بدست نیامد. اگرچه بعضی از توده‌ها نظیر فارس ۱۱ و فارس ۱۹، همدان ۴۷ و همدان ۵۰، لرستان ۴۲ و لرستان ۴۶ و همدان ۴۶ و همدان ۵۱ در کنار یکدیگر قرار گرفتند، ولی بقیه توده‌های مربوط به یک منطقه با هم فاصله زیادی داشتند و بیشترین تشابه بین توده‌های زابل ۲۵ و ورامین ۶۷ از دو منطقه جغرافیایی کاملاً متفاوت بدست آمد.

سپاسگزاری

از پروفسور تاکه اومی اتو، دکتر هیرویوکی کاریا، دکتر محمدرضا نقوی و مهندس نفیسه خاکی به سبب همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

پناهنده، ج. و آقایف، ی. ۱۳۷۹. بررسی کاریولوژی تره ایرانی (*Allium ampeloprasum*). خلاصه مقالات دومین کنگره علوم باغبانی ایران، ۱۴۱ صفحه.

عبدمیشانی، س. و شاه‌نجات بوشهری، ع. ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی. جلد ۱، نشر دانشگاه تهران.

عبدمیشانی، س. و شاه‌نجات بوشهری، ع. ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی. جلد ۲، نشر دانشگاه تهران.

موسوی، ا. ۱۳۷۳. بررسی صفات اکوفیزیولوژی تره ایرانی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

Al-Zahim, M. A., Ford-Lloyd, B. V. and Newbery, H. J. 1999. Detection of somaclonal variation in garlic (*Allium sativum* L.) using RAPD and cytological analysis. Plant Cell Reports, 18: 473-477.

Al-Zahim, M., Newbury, H. J. and Ford-Lloyd, B. V. 1997. Classification of genetic variation in garlic (*Allium sativum* L.) revealed by RAPD. Hortscience, 32: 1102-1104.

Bradeen, J. M. and Havey, M. J. 1995. Randomly amplified polymorphic DNA in bulb onion and its use to assess inbred integrity. Journal of American Society for Horticultural Science, 120: 752-758.

Cabrita, L. F., Aksoy, U., Hepaksoy, S. and Leitao, J. M. 2001. Suitability of isozyme, RAPD and AFLP markers to assess genetic differences and relatedness among fig (*Ficus carica* L.) clones. Scientia Horticulturae, 87: 261-273.

Dubouzet, J. G., Etoh, T., Arisumi, K. and Yoshitake, T. 1996. A diagnostic test to confirm interspecific *Allium* hybrids using random amplified polymorphic DNA from crud leaf DNA extracts. Journal of Japanies Society for Horticultural Science, 65: 321-326.

Etoh, T., Sakai, Y. and Johjima, T. 1992. Proxidas isozymes in various cultivars of Leek and Kurrat. Memoris of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 28: 75-82.

Fritsch, R. M. and Friesen, N. 2002. Evolution, domestication and taxonomy. In: Rabinowitch, H. D. and Currah, L. (Eds) Allium crop science: recent advances. CABI, pp. 5-30.

Hong, C., Etoh, T., Landry, B. and Matsuzoe, N. 1997. RAPD markers Related to pollen fertility in garlic (*Allium sativum* L.) Breeding Science, 47: 359-362.

Kik, C., Buiteveld, J. and Verbeek, W. H. J. 1997. Biotechnological aspects of onion breeding. Acta Horticultural, 433: 291-297.

Kohpayegani, J. A. 1999. Genetic diversity of Tareh Irani *Allium ampeloprasum* ssp. Persicum based on morphological characters. In: Lebeda, A. and Kristkova, E. (Eds) Eucarpia Leafy Vegetables 99. Palacky University, Olomouc (Czech Republic), pp. 133-135.

MaaB, H. I. and Klaas, M. 1995. Infraspecific differentiation of garlic (*Allim sativum* L.) by isozyme and RAPD markers. Theorical Applied Genetics, 91: 89-97.

Masuelli, R. W. and Galmarini, C. R. 1996. RAPD to distinguish among four Argentine onion cultivars. Allium Improvement Newsletter, 6: 10-12.

Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 126-131.

Paul, S., Wachira, F. N., Powell, W. and Waugh, R. 1997. Diversity and genetic differentiation among populations of Indian and Kenyan tea (*Camellia sinensis* L.) O. Kuntze) revealed by AFLP markers. Theorical Applied Genetics, 94: 255-263.

Tahbaz, F. 1976. Etude comparee caryotypes des *Allium* de group *ampeloprasum* cultives en Iran. Comptes Rendus de l'Academie de Sciences Paris, 253, Serie, D: 1185-1188.

www.SID.ir

Archive of SID

Vander Meer, Q. P. 1997. Old and new crops within edible *Allium*. Acta Hort., 433: 17-31.

Welsh, J. and Mcclelland, M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research, 18: 7213-7218.

Wettasinghe, R. and Peffley, E. B. 1994. Investigation of polymerases and genomic extraction protocols for RAPD markers in onion. Allium Improvement Newsletter, 4: 4-5.

Wilkie, S. E., Isaac, P. G. and Slater, R. J. 1993. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in Allium. Theor. Appl. Genet., 86: 497-504.

Williams, G. K, Kubelik, A. R., Livak, L., Raflaski, J. A. and Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers and useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., 18: 6531-6535.

Yee, E., Kidwell, K. K., Sills, G. R. and Lampkin, T. A. 1999. Diversity among selected *Vigna angualaris* (Azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. Crop Science, 39: 268-275.

www.SID.ir

Archive of SID

The study of genetic diversity of Tareh Irani (*Allium ampeloprasum*) populations using RAPD markers

Dashti[1], F., Kashi[2], A., Vezvaei[3], A., Moosavi[4], A. and Ershadi[1], A.

Abstract

RAPD analysis offers a quick and comparatively cheap approach for the detection of genetic differences, since it has extensively been used in studying genetic diversity in different plants. This technique was employed to assess genetic diversity of 28 local populations of Tareh Irani (*Allium ampeloprasum*) and to examine their relationship with kurrat (*Allium ampeloprasum* Kurrat Group) and leek (*Allium ampeloprasum* Leek Group). Nine of 320 random 10-mer primers revealed scorable polymorphism between populations of Tareh Irani and it would be further evaluated for use in genetic mapping. Genetic distances between each of these plants were calculated and cluster analysis was used to generate a dendrogram showing phylogenetic relationship between them. Leek and Kurrat felt in two distinct groups, separated from Tareh Irani populations. Tareh Irani populations also were separated from each other in 6 groups. Most of them were belonged to 6th group indicating the low genetic distance between them. Ahvaz19, Zabol26 and Arak58 populations were located individually in three distinct groups, having higher genetic distances with other populations. The results were in agreement with previous studies.

Keywords: Tareh Irani, Genetic diversity, RAPD, *Allium*

1. Assistant Professors, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University
2. and 3. Professor and Associate Professor (Former), Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tehran University
4. National Center of Genetic Engineering and Biotechnology

www.SID.ir