

بررسی تنوع در کتان زراعی (*Linum usitatissimum* L.) بر اساس صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD

Study of diversity in cultivated Flax (*Linum usitatissimum* L.) based on morphological traits and RAPD molecular marker

معصومه گلشن^{۱*}، فاطمه رحمانی^۱، عبدالله حسنزاده^۲

۱- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه ارومیه
۲- استادیار مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی

Golshan M^{*1}, Rahmani F¹, Hasanzadeh A²

1. Graduate MSc Student, Assistant Professor, Urmia University
2. Assistant Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center, West Azarbaijan

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: masoomehgholshan@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۸ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۳۰)

چکیده

تنوع زیستی، از مهمترین عوامل در بقا و اصلاح گونه‌ها می‌باشد. در این تحقیق به منظور بررسی روابط ژنتیکی و مورفولوژیکی، ۱۰ واریته از کتان زراعی با استفاده از ۱۳ آغازگر RAPD و ۱۳ صفت مورفولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. از ۱۶۹ باند قابل تکثیر و قابل شمارش، ۸۷ باند (۵۱ درصد) چند شکل بودند. میانگین تعداد باندهای چند شکل برای هر آغازگر ۶/۶ بود. دامنه ضریب تشابه ژنتیکی در بین واریته‌ها از ۰/۶۷ تا ۰/۸۶ با میانگین ضریب PIC (۰/۱۶) متغیر بود. بیشترین میزان ضریب PIC با مقدار ۰/۲۹ و ۰/۲۸ به ترتیب از آغازگرهای OPA-06 و OPD-03 به دست آمد. دندروگرام با استفاده از نرم افزار NTSYSpc ۲/۰۲ رسم و ۶ خوشه اصلی به دست آمد. در بخش مورفولوژیکی، ۱۳ صفت مختلف ارزیابی و مقایسه شدند. هر دو نشانگر مولکولی و مورفولوژیکی درجه بالایی از تنوع ژنتیکی را در بین واریته‌های مورد مطالعه نشان دادند. نتایج بدست آمده نشان داد که واریته‌های ۹۷-۲، ۹۷-۵، ۹۷-۲۴ و ۹۷-۲۵ بیشترین فاصله ژنتیکی را با دیگر واریته‌ها داشتند که می‌توان از این موضوع در برنامه‌های اصلاح گونه‌های کتان زراعی استفاده کرد. همچنین واریته‌های ۹۷-۲۴، ۹۷-۲۵ و ۹۷-۵ دارای بالاترین میزان عملکرد دانه در بین ژنوتیپ‌ها بودند. نتایج این تحقیق حاکی از آن است که مارکر RAPD ابزاری مناسب به منظور بررسی تنوع و روابط ژنتیکی در بین واریته‌های مختلف کتان زراعی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

تشابه ژنتیکی
جاکارد
چند شکلی
کتان
نشانگر مولکولی RAPD

مقدمه

۲- تنوع بیشتری از کتان روغنی نسبت به کتان فیبری وجود دارد (Fu et al. 2002b; Fu et al. 2003a; Diederichsen 2008). از ضرورت‌های انجام این تحقیق مطالعه مقدار تنوع ژنتیکی در مخزن ژنی واریته‌های کتان زراعی، برای اولین بار در ایران، با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD و نیز بررسی تنوع صفات مختلف در بین ۱۰ واریته از کتان زراعی می‌باشد. به این ترتیب این تحقیق می‌تواند در نهایت، مراحل اصلاحی را در کتان سرعت بخشد.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی کتان در ارتباط با مناطق جغرافیایی و اقلیم‌های مختلف در ایران، تعداد ۱۰ واریته کتان زراعی (جدول ۱)، در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقاتی کشاورزی ساعتلو، واقع در ۳۰ کیلومتری شمال ارومیه کشت شدند. اقلیم منطقه نیمه خشک مرطوب با زمستان‌های سرد مرطوب و تابستان‌های گرم و خشک بوده و خاک محل مورد آزمایش دارای بافت رسی لوم، شوری حدود ۰/۸-۱ DSM (دسی زیمنس بر متر) $pH=8$ بود میزان نیتروژن ۱۲ درصد و میزان فسفر و پتاسیم قابل جذب به ترتیب ۱۲ PPM و ۴۲۵ بودند. قبل از کاشت عملیات آماده‌سازی زمین انجام شد. نمونه‌های مورد آزمایش به صورت بلوک‌های کامل تصادفی در ردیف-هایی به طول دو متر و به فاصله ۴۰ سانتی متر و در ۴ تکرار کشت شدند. روز بعد از کاشت اولین آبیاری انجام گرفت و آبیاری‌های بعدی بر اساس دور آبیاری و بسته به وضعیت هوا انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز پس از کاشت با دست و در مواقع لازم انجام شد. برای بررسی تنوع ژنتیکی، برگ‌های تازه در شهریور ماه ۸۸ جمع‌آوری و با استفاده از سیلیکاژل به آزمایشگاه انتقال داده شد. استخراج DNA با روش CTAB انجام و کیفیت و کمیت DNA با استفاده از الکتروفورز واسپکتروفوتومتري تعیین شد. تکثیر قطعات DNA با ۱۳ آغازگر RAPD صورت گرفت. ۱۲ میکرولیتر از محصولات PCR با یک میکرولیتر بافر بارگذاری ۶X مخلوط شد و در ژل آگارز دو درصد در ولتاژ ثابت ۷۵ ولت به مدت ۱/۵ ساعت الکتروفورز شدند. عکس‌برداری از ژل در دستگاه ژل داک مدل ۲۰۰۰ زیر نور UV انجام شد.

بررسی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی بین واریته‌ها و زیرگونه‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا کاهش تنوع زیستی در این سطوح از رده‌بندی رخ می‌دهد. از اینرو وجود سیستم‌های رده-بندی مناسب برای ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در بین واریته‌ها مفید می‌باشد (Diederichsen and Fu 2006). خانواده *Linaceae* دارای ۲۲ جنس می‌باشد که جنس *Linum* از مهمترین آنها بوده و دارای ۲۳۰ گونه می‌باشد که در سراسر دنیا پراکنده شده‌اند (Fu et al. 2002c). گونه‌های جنس *Linum* به ۵ بخش (*Linum*, *Dasylinum*, *Syllinum*, *Cathartolinum*, *Linastrum*) شده‌اند (Tutin et al. 1968)، که بخش *Linum* حاوی گونه‌های زراعی *L. usitatissimum* و زینتی *L. graniflorum* و *L. perenne* می‌باشد. دو گونه آخر از اهمیت اقتصادی کمتری برخوردار هستند. تعداد کروموزوم‌ها در گونه‌های *Linum* محدوده وسیعی را از $2n = 16$ تا $2n = 72$ نشان می‌دهد. *L. usitatissimum* و خویشاوندان وحشی آن دارای $2n = 30$ می‌باشند (Muravenko et al. 2003). کتان گونه‌ای است یکساله که از ارزش دارویی و اقتصادی زیادی برخوردار می‌باشد. همه گونه‌های کتان غالباً خود لقاح می‌باشند و دگر لقاحی می‌تواند از طریق زنبورهای عسل یا به وسیله روش مصنوعی رخ دهد (Zohary and Hopf 2000). در بسیاری از موجودات زنده، تنشهای محیطی باعث باز سازماندهی ژنوم آنها می‌شود تا بقای موجود زنده را تامین کند. در کتان زراعی، تغییرات سریع در ژنوم که مرتبط با شرایط محیطی در طول رشد گیاه است باعث تغییر در DNA هسته‌ای می‌شود که این تغییرات DNA، ممکن است به صورت پایدار یا ناپایدار به ارث برسند. چند شکلی که در بین واریته‌های کتان مشاهده می‌شود از این تغییرات سریع ژنومی رخ‌دهنده ناشی می‌شود (Christopher 2005). به طور کلی بررسی جغرافیایی تنوع مولکولی گیاه می‌تواند دیدگاه‌هایی را درباره اهلی‌سازی آنها ارائه دهد، اما چنین مطالعاتی درباره‌ی کتان زراعی بسیار محدود می‌باشد (Fu 2005). بهره‌برداری از منابع ژنتیکی برای اصلاح کتان نیاز به دانش درباره دامنه و ساختار تنوع ژنتیکی موجود در خزانه ژنی دارد. مطالعات (۲۰۰۸-۲۰۰۲) نشان داده است: ۱- تنوع موجود در گونه‌های وحشی کتان از گونه‌های زراعی بیشتر است.

نتایج و بحث

در این پروژه برای بررسی تنوع ژنتیکی بین چند واریته از کتان زراعی (*Linum usitatissimum L.*) از ۱۵ آغازگر تصادفی RAPD استفاده شد. در میان این آغازگرها، ۱۳ آغازگر چند شکلی قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند که به راحتی قابل دسته‌بندی بودند. آغازگرهای OPD-11 و OPA-05 به دلیل عدم وضوح و قابلیت تکرارپذیری کافی، حذف شدند. ۱۳ آغازگر در مجموع ۱۶۹ باند تولید کردند. میانگین باند دهی برای هر آغازگر ۱۳ بود که ۸۷ تا از این قطعات در بین واریته‌ها چند شکل بودند (۵۱ درصد). تعداد قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها متفاوت بود. آغازگرهای OPD-03 و OPD-08 با ۱۸ باند بیشترین و آغازگر OPA-03 با ۵ باند کمترین تعداد باندها را تولید کردند (جدول ۲). بیشترین درصد باندهای چند شکل مربوط به آغازگرهای OPD-03 و OPD-08 (۷۲ درصد) و و کمترین درصد مربوط به OPA-03 (۱۶ درصد) بود. میانگین تعداد باند چند شکل برای هر آغازگر ۶/۶ محاسبه شد. اندازه قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف متفاوت بودند ولی برای تجزیه آماری باندهایی که در محدوده ۱۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز دارای تکرارپذیری بالایی بودند انتخاب و وارد محاسبات شدند. محتوای اطلاعات چند شکل به عنوان قدرت تشخیص نشانگر نه تنها به تعداد آلل‌های چند شکل در هر جفت آغازگر بلکه به فراوانی آلل‌های چند شکل نیز بستگی دارد. میانگین مقدار PIC برای ترکیبات آغازگری ۰/۱۶ با دامنه‌ای بین ۰/۰۵ تا ۰/۲۹ بدست آمد که نشان‌دهنده توانایی مناسب نشانگر RAPD در تشخیص چند شکلی بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی می‌باشد (جدول ۲). کمترین مقدار PIC متعلق به آغازگر OPA-03 و بیشترین مقدار متعلق به آغازگر OPD-03 بود. مقدار پیک بالا برای آغازگر ذکر شده نشان‌دهنده کارایی بالایی آنها در تمایز نمونه‌های مورد استفاده در این تحقیق بود که می‌توان آنها را جهت مطالعات مشابه پیشنهاد کرد. آغازگرهایی با PIC بالا قابلیت تفکیک بالاتری دارند و می‌توانند برای آنالیز دیگر ژرم پلاسماهای کتان مورد استفاده قرار گیرند. با به کارگیری نرم افزار NTSYS ۲/۰۲، دندروگرام ترسیم شد که واریته‌ها در شش خوشه دسته‌بندی شدند (شکل ۱).

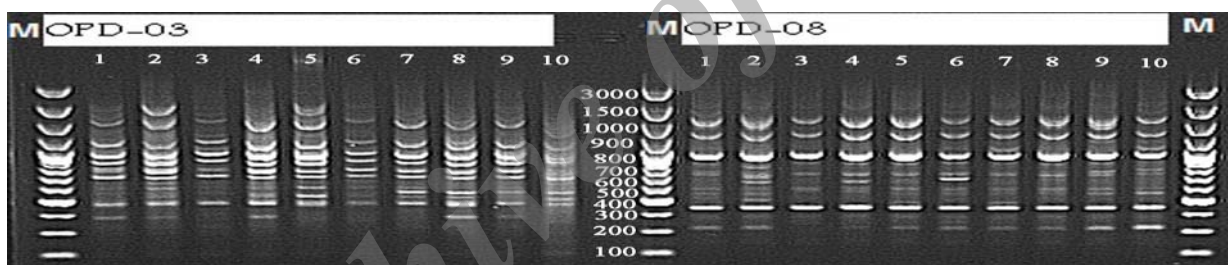
جدول ۱- ارقام مورد مطالعه کتان زراعی و رویشگاه‌های مربوط به آنها

رقم	منطقه مربوطه
۹۷-۲	کرمان
۹۷-۵	خدابنده- کشک آباد
۹۷-۱۰	شاهین دژ - باروق نادرگلی
۹۷-۱۱	شاهین دژ - کشاورز
۹۷-۱۳	شاهین دژ- باروق قرمزی بلاق
۹۷-۱۶	بناب - روش
۹۷-۱۷	کرمان - شهر نایک
۹۷-۲۴	مرکزی - شازند
۹۷-۲۵	مرکزی - هندوبه
۹۷-۴۶	سیستان و بلوچستان

واریته‌های مختلف بر اساس باندهای پدیدار شده روی ژل آغازگر با منظور نمودن عدد یک برای حضور باند و صفر برای غیاب باند مشابه مقایسه شدند. شباهت ژنتیکی بین واریته‌ها مطابق ضریب تشابه جاکارد تعیین و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش UPGMA صورت گرفت و دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار NTSYS 2/02 رسم شد. برای ارزیابی تنوع برخی صفات مهم در کتان، بعد از برداشت ۵ بوته از هر کرت و خشک کردن نمونه‌ها، صفات تعداد کپسول در گیاه، وزن کپسول در بوته، وزن هزار دانه، ارتفاع گیاه، تعداد و وزن ساقه فرعی، طول ساقه فرعی و اصلی، تعداد کپسول در ساقه فرعی و اصلی، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیکی و شاخص برداشت در ۴ تکرار اندازه‌گیری شد. اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. ضرایب همبستگی برای صفات مورد بررسی محاسبه و در جدول مربوطه رسم شد. ماتریس تشابه با استفاده از ضریب MANHAT تشکیل شد و خوشه‌بندی با استفاده از روش UPGMA با نرم افزار NTSYS 2/02 صورت گرفت. محتوای اطلاعات چند شکل PIC با استفاده از فرمول $PIC=1-\sum p_i^2$ که در این فرمول بیانگر فراوانی آلل π است محاسبه شد. تست مانتل برای تعیین ارتباط معنی‌دار بین دندروگرام‌های حاصل از داده‌های RAPD و صفات مورفولوژیکی انجام شد.

جدول ۲- لیست آغازگرهای RAPD، درصد چند شکلی، تعداد باندهای چند شکلی و تعداد کل باندها توسط هر آغازگر

PIC	درصد چند شکلی	تعداد باندهای چند شکلی	تعداد باند تولید شده	آغازگر
۰/۱۴	٪۴۵	۵	۱۱	OPB-01
۰/۱۳	٪۳۶	۴	۱۱	OPB-02
۰/۲۵	٪۶۰	۳	۵	OPB-03
۰/۱۸	٪۵۰	۶	۱۲	OPB-04
۰/۲۱	٪۶۱	۸	۱۳	OPB-05
۰/۰۹	٪۲۱	۳	۱۴	OPD-02
۰/۲۹	٪۷۲	۱۳	۱۸	OPD-03
۰/۲۳	٪۵۶	۹	۱۶	OPD-05
۰/۱۵	٪۵۰	۹	۱۸	OPD-08
۰/۰۵	٪۱۶	۲	۱۲	OPA-03
۰/۲	٪۶۳	۷	۱۱	OPA-04
۰/۲۸	٪۶۱	۸	۱۳	OPA-06
۰/۱۹	٪۶۶	۱۰	۱۵	OPA-07
۰/۱۶	٪۵۱	۸۷	۱۶۹	مجموع



شکل ۱- الگوی باندهای قطعات DNA تکثیر شده به ترتیب از چپ به راست توسط آغازگرهای OPD-03 و OPD-08 واریته‌های کتان زراعی (۱ کرمان؛ ۲ خدابنده- کشک آباد؛ ۳ شاهین دژ- باروق نادر گلی؛ ۴ شاهیندژ- کشاورز؛ ۵ شاهین دژ- باروق قرمزی بلاق؛ ۶ بناب- روشنت؛ ۷ کرمان- شهر نایک؛ ۸ مرکزی- شازند؛ ۹ مرکزی- هندوبه؛ ۱۰ سیستان بلوچستان. M) مارکر DNA در.

سال‌ها به وسیله انتخاب مصنوعی و کارهای اصلاحی باعث تثبیت آلل‌های غالب شده است (Fu 2005). در مطالعات ما درصد چند شکلی تولید شده توسط آغازگرها بین ۱۶ تا ۷۲ درصد متغیر بود که نشانگر میزان بالایی از تنوع ژنتیکی می‌باشد، بنابراین میزان بالایی از تنوع ژنتیکی، در بین واریته‌های کتان مورد تحقیق ما وجود دارد. (Fu 2005) رابطه‌ی مستقیمی بین میزان پراکنش واریته‌ها در میان کشورهای مبدأ، با تعداد نوارهای چند شکلی مشاهده شده پیدا کرد. بنابراین کشورهایی مانند آمریکا، روسیه و هند که دارای واریته‌های بیشتری بودند باندهای چند شکلی بیشتری را نشان دادند (Fu 2005). ایران نیز دارای واریته‌های

در این نشانگر مقدار ضریب کوفاکتیو $r = 0/83$ محاسبه شد که نشانگر همبستگی بالا بین ضرایب تشابه و دندروگرام ترسیم شده می‌باشد. (Fu 2005) تنوع کتان را در ارتباط با پراکنش جغرافیایی، با استفاده از آغازگر RAPD مورد بررسی قرار داد. مقایسه نتایج حاصل از تحقیق ما با نتایج Fu نکات قابل توجهی را نشان می‌دهد. تعداد باندهای چند شکلی انتخاب شده برای هر آغازگر در مطالعه ما بین ۳ تا ۱۳ متغیر بود که با مطالعات Fu (2005) همخوانی دارد. تعداد باندهای چند شکلی در مطالعات ایشان برای هر آغازگر از ۴ تا ۱۶ متغیر بود که چنین الگوی تغییر در مجموعه ژرم پلاسما گیاهی واریته‌های کتان زراعی در طی

ساقه‌های اصلی و فرعی، وزن دانه در بوته، وزن کپسول در ساقه از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد و وزن هزار دانه، شمار کپسول در گیاه، تعداد کپسول ساقه‌های فرعی، وزن کل بوته، عملکرد بیولوژیکی و شاخص برداشت در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۴). در مطالعه ما میانگین عملکرد دانه ۵۰۱/۱۲ کیلوگرم بر هکتار بود (جدول ۵). (Grant et al. (1993 میانگین عملکرد دانه کتان را ۷۷۷ کیلوگرم بر هکتار و بالاترین میزان آنرا ۱۸۳۱ کیلوگرم در هکتار ذکر کرده‌اند، همچنین این محققان اظهار داشته‌اند که با افزایش کوددهی (فسفر و روی) عملکرد این گیاه را می‌توان تا ۲۶۴۵ کیلوگرم در هکتار افزایش داد (Grant 1993). این اختلاف در میانگین عملکرد دانه را به اختلاف در شرایط اقلیمی و مهمتر از آن به تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام می‌توان ربط داد. جدول ۶ ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه را در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان می‌دهد عملکرد دانه با وزن بوته، تعداد ساقه منشعب اولیه، تعداد کپسول ساقه اصلی، تعداد کپسول ساقه فرعی، وزن ساقه ها، وزن کل بوته، وزن کپسول در بوته، وزن ساقه منشعب اولیه، وزن کپسول در ساقه منشعب اولیه، وزن دانه در بوته و شمار کپسول در گیاه در سطح احتمال یک درصد و با ارتفاع گیاه، طول ساقه اصلی، در سطح احتمال پنج درصد همبستگی مثبت و معنی دار را نشان داد. نتایج حاصل از بررسی جدول ضرایب همبستگی، با تحقیقات حاصل از بررسی‌های Vijayakumar et al. (1975) مطابقت دارد. بین عملکرد دانه با شمار کپسول در گیاه، تعداد انشعاب، اندازه کپسول، وزن و حجم دانه، همبستگی مثبت و معنی‌داری را ذکر کردند که با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت دارد. همانطور که مشاهده شد تنوع بسیار بالایی در بین ژنوتیپ‌ها برای صفت عملکرد دانه در بوته وجود داشت که با نتایج حاصل از مطالعات Vijayakumar et al. (1975) همخوانی دارد. مقایسه میانگین‌های بدست آمده به روش دانکن نشان داد که از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه رقم ۹۷-۲۴ و ۹۷-۲۵ به ترتیب از استان مرکزی - شازند و مرکزی- هندوبه، بیشترین عملکرد دانه را تولید کردند زیرا وزن هزار دانه، تعداد کپسول در بوته، ارتفاع بوته، و تعداد ساقه‌های فرعی در این ژنوتیپ‌ها بیشتر بود. ژنوتیپ‌های شماره ۹۷-۱۱ و ۹۷-۱۳ بیشترین شاخص برداشت را به دلیل تولید عملکرد

زیادی از کتان زراعی است بنابراین زیاد بودن باندهای چند شکل این پیش بینی را تایید می‌کند. همانطور که انتظار می‌رفت میان پراکنش جغرافیایی و فواصل ژنتیکی رابطه مستقیمی وجود دارد. نمونه‌هایی که در یک ناحیه جغرافیایی هستند در یک گروه و یا گروه‌های نزدیک به هم قرار گرفتند (شکل ۱). به عنوان مثال نمونه‌های استان مرکزی بالای ۸۹ درصد و نمونه‌های مربوط به مناطق مختلف شهرستان شاهین دژ بالای ۸۰ درصد با هم تشابه داشتند و در یک گروه قرار گرفتند که با الگوی جغرافیایی آنها مطابقت دارد (جدول ۳). لازم به ذکر است واریته‌های ۹۷-۱۷ و ۹۷-۲۵ هر دو از استان مرکزی هستند ولی علت اینکه در فاصله بیشتری از هم قرار دارند این است که نوع واریته‌های آنها متفاوت است (جدول ۱). در مطالعات Fu (2005) نیز گروه‌بندی حاصله با الگوی جغرافیایی مطابقت داشت که با نتایج ما همخوانی دارد. در مطالعات ما تعداد باندهای چند شکلی با استفاده از ۱۳ آغازگر ۸۷ باند بود. در مطالعات Fu (2005) با ۱۶ آغازگر، تعداد باندهای چند شکلی برای واریته‌های کشورهای مختلف از ۳۵ باند در آمریکای مرکزی تا ۱۴۱ باند در آمریکای شمالی متغیر بود و آسیای شرقی بیشترین تنوع و گونه‌های منطقه شبه قاره هند کمترین تنوع داخل منطقه‌ای را داشتند. با مقایسه نتایج ما با نتایج ذکر شده در فوق چنین بر می‌آید که در بین کشورهای مختلف، ایران از تنوع خوبی نسبت به واریته‌های کتان زراعی برخوردار است. در این تحقیق میانگین تعداد باند چند شکل برای هر آغازگر ۶/۶ بود. عموماً گونه‌های خود لقاح کمتر از گونه‌های دگر لقاح چند شکلی هستند، میانگین‌های بالاتر از ۱۵ باند چند شکل برای هر ترکیب آغازگر در محصولات مثل هندوانه و کلم معمول است (Sebastian et al. 2000; Perin et al. 2002). به هر حال به دلیل خودلقاح بودن کتان تعداد میانگین باندهای چند شکلی برای هر ترکیب آغازگر خیلی کمتر است.

در بخش بررسی‌های مورفولوژیک، ضریب تغییرات قابل توجهی از نظر صفات مطالعه شده به ویژه تعداد کپسول ساقه‌های فرعی و اصلی، وزن ساقه‌های یک بوته، شمار کپسول در گیاه و عملکرد دانه در بین ارقام زراعی مشاهده شد که دلالت بر تنوع زیاد بین ارقام دارد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس از داده‌های بدست آمده نشان داد که تاثیر ژنوتیپ بر عملکرد دانه، ارتفاع گیاه، طول

جدول ۳- ضریب تشابه ژنتیکی ارقام کتان زراعی بر مبنای ضریب جاکارد بر اساس داده های RAPD

	۹۷-۲	۹۷-۵	۹۷-۱۰	۹۷-۱۱	۹۷-۱۳	۹۷-۱۶	۹۷-۱۷	۹۷-۲۴	۹۷-۲۵	۹۷-۴۶
۹۷-۲	۱									
۹۷-۵	۰/۸۵	۱								
۹۷-۱۰	۰/۷۵	۰/۷۲	۱							
۹۷-۱۱	۰/۷۳	۰/۷۶	۰/۷۸	۱						
۹۷-۱۳	۰/۸۰	۰/۸۰	۰/۷۵	۰/۸۲	۱					
۹۷-۱۶	۰/۶۸	۰/۶۹	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۷۴	۱				
۹۷-۱۷	۰/۶۷	۰/۷۱	۰/۷۲	۰/۷۴	۰/۷۴	۰/۷۲	۱			
۹۷-۲۴	۰/۷۷	۰/۸۲	۰/۷۸	۰/۷۸	۰/۷۷	۰/۷۰	۰/۷۸	۱		
۹۷-۲۵	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۰	۰/۷۸	۰/۷۶	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۸۶	۱	
۹۷-۴۶	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۷۳	۰/۷۱	۰/۷۶	۰/۶۸	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۶	۱

شش و چهار خوشه طبقه‌بندی شدند. در هر دو دندروگرام وارسته های ۹۷-۲، ۹۷-۵، ۹۷-۲۴، ۹۷-۲۵ و ۹۷-۲۵ در گروه‌های نزدیک به هم قرار گرفتند و فاصله ژنتیکی بالایی را با دیگر وارسته‌ها نشان دادند که از این امر می‌توان در برنامه‌های به نژادی کتان استفاده کرد. در هر دو دندروگرام وارسته‌های ۹۷-۲ و ۹۷-۴۶ فاصلی ژنتیکی زیادی را نشان دادند و نسبت به هم در خوشه‌های دورتری قرار گرفتند. تست ماننل نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین دو دندروگرام وجود ندارد ($r = 0.25$)، بنابراین در بررسی‌های ما دندروگرام حاصل از بررسی ژنتیکی با دندروگرام حاصل از بررسی صفات مورفولوژیکی، تطابق کمتری داشت که در این مورد نتایج ما با نتایج Diederichen and Fu (2006) که به مطالعه تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگر RAPD و نیز به بررسی تنوع صفاتی مانند ارتفاع گیاه، طول ساقه، وزن هزار دانه و شکفتگی کپسول پرداخته بودند همخوانی دارد. لازم به ذکر است که این عدم تطابق کاملاً قابل پیش بینی بود و با توجه به دلایل زیر توجیه‌پذیر می‌باشد: ۱- برخی از صفات مانند وزن هزار دانه و عملکرد دانه کاملاً به شرایط محیطی وابسته اند و تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرند که این عامل به عنوان عامل منفی، در بررسی های مورفولوژیکی به شمار می‌آید (Christopher 2005). ۲- نشانگرهای RAPD کل ژنوم کتان را تحت پوشش خود قرار نمی‌دهد (Christopher 2005).

بیولوژیکی کمتر در مقایسه با عملکرد دانه بیشتر تولید نمودند (جدول ۷). تجزیه کلاستر بر اساس صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که ارقام در ۴ گروه تقسیم‌بندی شدند طوری که ارقام ۲، ۵ و ۲۴ در یک کلاستر و ارقام ۱۰، ۱۱، ۱۷، ۱۶ و ۱۳ در کلاستر دیگر و ارقام ۲۵ و ۴۶ هر یک به طور مجزا در گروه‌های مجزا قرار گرفتند (شکل ۲).

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی ده وارسته کتان زراعی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از هر دو تحقیق، نشان داد که تنوع نسبتاً خوبی در بین خصوصیات ژنتیکی، رویشی و زایشی در بین ژنوتیپ‌های مختلف وارسته‌های کتان مورد مطالعه وجود دارد و می‌توان از این تنوع در جهت اصلاح کتان و تولید ارقام بهتر بهره جست. تعداد باندهای چند شکل و تنوع زیاد در نمونه‌های مورد بررسی ما، الگوی چهار منطقه‌ای Vavilov (1926) را تایید می‌کند که ایران جزء مراکز تنوع کتان به شمار می‌رود. مطالعات Fu هم تایید کرد که وارسته های معاوضه شده به ندرت در برنامه های پرورشی کتان بکار رفته است و هنوز اکثر تنوع آغازی بدست آمده از کشورهای مبدا (که قبلاً توسط اوایلوف معرفی شده بود) را حفظ کرده است که با نتایج ما همخوانی دارد. بررسی دندروگرام‌های حاصل از داده‌های RAPD و صفات مورفولوژیکی نشان داد که نمونه‌های مورد مطالعه به ترتیب در

جدول ۴- میانگین مربعات تجزیه واریانس ساده صفات اندازه‌گیری شده در ارقام زراعی کتان

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته (cm)	وزن کپسول در بوته (g)	وزن ساقه فرعی (g)	تعداد کپسول	تعداد کپسول ساقه های فرعی	طول ساقه اصلی (cm)	طول ساقه فرعی (cm)	تعداد ساقه فرعی	وزن هزار دانه (g)	شمار کپسول در بوته	عملکرد دانه (kg/ha)	عملکرد بیولوژیکی (kg/ha)	شاخص برداشت
تکرار	۳	۷۴/۲*	۵۱/۱۸	۰/۰۰۳	۲۹/۰۵	۲۰۶۱	۵۹/۳*	۲۹/۱	۴/۸۷	۰/۰۴	۲۵۰۴	۷/۵۷۷۱۲/۷	۶۶۶۳۷۰/۶	۳۴/۷
رقم	۹	۵۴/۱*	۱۴/۸*	۰/۰۳	۲۵۹/۷	۵۰۸۰**	۵۳/۷*	۵۴/۹*	۴۵*	۰/۷۹**	۷۲۴۸**	۱۵۹۰۱۷/۹*	۶۰۵۱۷۳۶/۵**	۱۵۴/۵**
خطا	۲۷	۱۸/۹	۶/۳	۰/۰۱	۱۳۲	۱۳۶۶	۱۸/۲	۱۷/۲	۱۸/۳	۰/۱	۲۱۶۰	۵۹۷۷۹/۶	۱۳۰۷۰۴۴	۲۵
ضریب تغییرات (C.V)		۱۰/۲	۶۹	۳۷	۴۹	۵۲/۴	۱۰/۲۷	۱۱/۵	۳۷	۷/۷	۴۹	۴۸	۴۳	۲۴/۶۹

جدول ۵- شاخص های آماری صفات مورد بررسی ارقام کتان زراعی (*Linum usitatissimum* L.)

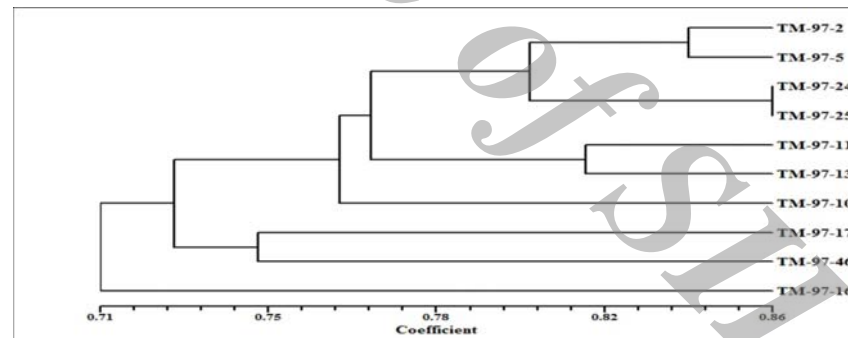
متغیر	ارتفاع بوته (cm)	وزن کپسول در بوته (g)	وزن ساقه فرعی (g)	تعداد کپسول ساقه فرعی	تعداد کپسول ساقه اصلی	طول ساقه اصلی (cm)	طول ساقه فرعی (cm)	تعداد ساقه فرعی	وزن هزار دانه (g)	شمار کپسول در بوته	عملکرد دانه (kg/ha)	عملکرد بیولوژیکی (kg/ha)	شاخص برداشت
میانگین	۴۲/۵۹	۳/۶۲	۰/۳۴	۷۰/۵۴	۲۳	۴۱/۵۵	۳۵/۸۰	۱۱/۵۱	۴/۲۸	۹۳/۳۲	۵۰۱/۱۲	۲۶۵۴	۲۰/۴۷
انحراف معیار	۵/۵۹	۲/۸۶	۰/۱۳	۴۷/۷۲	۱۲/۳۹	۵/۴۶	۵/۱۵	۴/۸۵	۰/۵۱	۵۷/۶۵	۲۸۷/۲۶	۱۵۳۴	۷/۴۸
مجموع	۱۷۰۴	۱۴۴/۸۵	۱۳/۶۲	۲۸۲۲	۹۲۰	۱۶۶۲	۱۴۳۲	۴۶۰/۵۵	۱۷۱/۳۴	۳۷۳۳	۲۰۰۴۵	۱۰۶۱۶۳	۸۱۹/۱۰
مینیمم	۳۲/۴	۰/۴۹	۰/۱۷	۱۰/۱۰	۸/۲۳	۳۱/۵	۲۷/۰۲	۴/۸۰	۲/۹۳	۱۸/۳۳	۱۷۲/۵۰	۷۵۷/۵۰	۵/۷۴
ماکزیمم	۵۸/۵	۱۶/۵۱	۰/۹۴	۱۸۳/۵	۶۵	۵۶/۵	۵۰/۶۸	۲۳/۵	۵/۱۶	۲۳۰	۱۲۸۳	۸۶۳۳	۳۸/۱۹

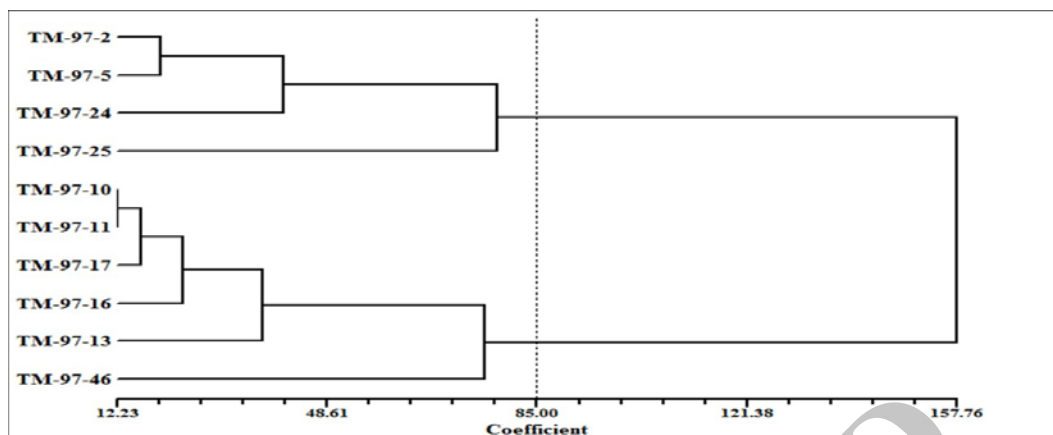
جدول ۶- ضرایب همبستگی صفات مورد مطالعه در ارقام زراعی کتان (*Linum usitatissimum* L.)

	۱۷	۱۶	۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
۱ ارتفاع گیاه (cm)																	۱
۲ تعداد ساقه فرعی																۱	۰/۲۵
۳ طول ساقه فرعی (cm)															۱	۰/۱۳	۰/۸۸**
۴ طول ساقه اصلی (cm)														۱	۰/۹۰**	۰/۱۶	۰/۹۵**
۵ تعداد کپسول ساقه اصلی													۱	۰/۴۲**	۰/۴۹**	۰/۲۵	۰/۴۹**
۶ تعداد کپسول ساقه فرعی												۱	۰/۷۴**	۰/۳	۰/۳۳*	۰/۶۲**	۰/۳۸*
۷ وزن ساقه های یک بوته (g)											۱	۰/۸۹**	۰/۶۷**	۰/۴۸**	۰/۴۹**	۰/۶۵**	۰/۵۴**
۸ وزن کل بوته (g)										۱	۰/۸۳**	۰/۸۲**	۰/۶۷**	۰/۳۴*	۰/۳۱*	۰/۵۲**	۰/۳۹*
۹ وزن کپسول در بوته (g)										۱	۰/۵۵**	۰/۶۶**	۰/۵۴**	۰/۶۸**	۰/۵۹**	۰/۶۳**	-۰/۰۹۱
۱۰ وزن ساقه فرعی										۱	۰/۵۲**	۰/۹۳**	۰/۷۴**	۰/۸۱**	۰/۷۶**	۰/۲۴	n.S./۰/۲۴
۱۱ وزن کپسول در ساقه فرعی (g)							۱	۰/۸۲**	۰/۵۲**	۰/۶۹**	۰/۴۸**	۰/۶**	۰/۸۳**	۰/۳۳*	۰/۳۸*	۰/۱۳	۰/۳۷*
۱۲ وزن هزار دانه (g)						۱	۰/۲۸	۰/۲۷	۰/۰۳	۰/۲۴	۰/۰۹	۰/۲۲	۰/۱۸	-۰/۲۴	-۰/۲۶	۰/۰۴	-۰/۱۵
۱۳ وزن دانه در بوته (g)					۱	۰/۲۲	۰/۸۰**	۰/۸۸**	۰/۵۹**	۰/۷۸**	۰/۷۹**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۲۹	۰/۳۸*	۰/۴۳**	۰/۳۶*
۱۴ شمار کپسول در گیاه (g)				۱	۰/۹۲**	۰/۲۲	۰/۶۹**	۰/۸۴**	۰/۵۹**	۰/۸۲**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۲۳**	۰/۳۴*	۰/۳۸*	۰/۵۶**	۰/۴۲**
۱۵ عملکرد دانه (kg/ha)			۱	۰/۹۲**	۱**	۰/۲۲	۰/۸**	۰/۸۸**	۰/۵۹**	۰/۷**	۰/۷۸**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۲۹	۰/۳۸*	۰/۴۳**	۰/۳۶*
۱۶ عملکرد بیولوژیکی (kg/ha)		۱	۰/۷۶**	۰/۷۹**	۰/۶۷**	۰/۲۴	۰/۶۸**	۰/۹۱**	۰/۵۴**	۰/۹۸**	۰/۸**	۰/۸**	۰/۶۴**	۰/۳۴*	۰/۳۱*	۰/۵**	۰/۴**
۱۷ شاخص برداشت	۱	-۰/۳۷**	۰/۲۲	۰/۱۰	۰/۵۰**	-۰/۰۹	۰/۰۱	-۰/۰۶	-۰/۰۳	-۰/۳۳*	-۰/۱۷	-۰/۰۳	۰/۱۳	-۰/۱۹	۰/۰۰۲	-۰/۱۸	-۰/۱۹

جدول ۷- مقایسه میانگین صفات در ارقام مورد مطالعه کتان زراعی

رقم	منطقه جمع آوری شده	وزن کپسول در بوته	گروه	ارتفاع گیاه	گروه	وزن هزار دانه	گروه	طول ساقه فرعی	گروه	شمار کپسول در گیاه	گروه	عملکرد دانه	گروه	عملکرد بیولوژیکی	گروه	شاخص برداشت
۹۷-۲	کرمان	۳/۷	BC	۴۵/۳	A	۴/۵۲	A	۳۶/۹	AB	۹۶/۵۴	BC	۳۹۱/۳	B	۳۸۰۶/۹	AB	۹/۷
۹۷-۵	خداپنده-کشک آباد	۴/۵	BC	۴۷/۶	A	۴/۴۶	AB	۳۸/۷	AB	۱۱۸/۷	B	۶۴۴/۴	AB	۳۸۲۵/۸	AB	۱۶/۱۹
۹۷-۱۰	شاهیندژ-باروق نادر گلی	۲/۹	BC	۴۲/۰۷	AB	۴/۳	AB	۳۵/۹	BC	۸۱/۰۹	C	۴۱۱/۳	B	۲۰۶۸/۸	BC	۱۷/۶
۹۷-۱۱	شاهیندژ-کشاورز	۳/۲	BC	۳۶/۱	C	۴/۶۷	A	۲۹/۵	D	۸۷/۵	D	۵۲۹/۴	AB	۲۰۳۸/۱	BC	۲۷/۰۷
۹۷-۱۳	شاهیندژ-باروق قرمزی بلاغ	۲/۵	BC	۳۷/۱	BC	۴/۶۳	A	۳۱/۵	CD	۶۲/۰۴	CD	۴۱۰/۱	B	۱۵۱۹/۴	D	۲۷/۴
۹۷-۱۶	بناب-روشت	۲/۳	BC	۴۰/۴	AB	۳/۹۴	B	۳۲/۳	C	۶۶/۱	C	۳۰۸/۸	B	۲۱۹۸	BC	۱۴/۳
۹۷-۱۷	کرمان-شهر نایک	۲/۹	BC	۴۴/۱	AB	۴/۴۲	AB	۳۴/۷	BC	۷۷/۱	BC	۴۱۰	B	۱۸۷۶/۹	CD	۲۲/۰۷
۹۷-۲۴	مرکزی-شازند	۵/۶۲	AB	۴۵/۲	A	۴/۳۵	A	۳۸/۸	AB	۱۵۴/۶	AB	۸۲۰/۶	A	۳۵۳۵/۰۶	AB	۲۳/۲
۹۷-۲۵	مرکزی-هندوبه	۷/۵	A	۴۴/۴	A	۴/۳۶	A	۳۹/۸	AB	۱۶۴/۴	A	۸۲۳/۱	A	۴۷۳۹/۴	A	۱۸/۶
۹۷-۴۶	مرکزی شازند	۱/۵	C	۴۳/۳	C	۳/۱۵	AB	۳۹/۶	C	۲۴/۹۶	A	۲۶۲/۵	B	۹۳۱۱/۳	D	۲۴/۳

شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای واریته‌های کتان زراعی (*Linum usitatissimum* L.) بر اساس داده‌های RAPD



شکل ۳- دندروگرام حاصل از آنالیز صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در واریته های گونه کتان زراعی (*Linum usitatissimum* L.)

سپاسگزاری: نویسندگان این مقاله از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه که زمینه‌ی انجام این تحقیق را فراهم کرده‌اند نهایت سپاس و تشکر را دارند.

در کل طبق نتایج بدست آمده از بین ۱۰ واریته، واریته‌های ۲۵-۹۷، ۹۷-۲۴ و ۹۷-۵ که به ترتیب متعلق به مرکزی - هندوبه، مرکزی- شازند و خداپنده کشک‌آباد می‌باشند، بیشترین عملکرد را در بین ژنوتیپ‌ها داشتند و برای کشت در این منطقه (استان آغ) و سایر مناطق با اقلیم مشابه مناسب می‌باشند.

منابع

Christopher A (2005) Mechanisms and Control of Rapid Genomic Changes in Flax. *Annals of Botany* 95: 201-206.
 Diederichen A, Fu YB (2006) Phenotypic and molecular (RAPD) differentiation of four intra-specific groups of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L. sub. *usitatissimum*). *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:77-90.
 Diederichen A (2008) Flax genetic diversity as the raw material for future Success. *International Conference on Flax and other Bast plants, Canada, Saskatoon*, 270-280.
 Fu YB, Diederichsen A, Richards KW, Peterson G (2002b) Genetic diversity of flax (*Linum usitatissimum* L.) cultivars and landraces as revealed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49:167-174.
 Fu YB, Diederichsen A, Richards KW, Peterson G (2002c) RAPD analysis of genetic relationships of seven flax species in the genus *Linum* L. *Genetic Resources and Crop evolution* 49:253-259.
 Fu YB, Guerin S, Peterson GW, Carlson JE, Richards KW (2003a) Assessment of bulking strategies for RAPD analyses of flax germplasm. *Genetic Resources and Crop evolution* 50:743-746.
 Fu YB (2005) Geographic patterns of RAPD variation in cultivated flax. *Crop Science* 45:1084-1091.
 Grant CA, Baily LD (1993) Interaction of Zinc with banded and broadcast phosphorus fertilizer on the dry matter and sees yield of oilseed flax. *Canadian Journal of Plant Science* 73:7-15.

Muravenko OV, Lemesh VA, Zelenin AV (2003) Genome comparisons with chromosomal and molecular markers for three closely related flax species and their hybrids. *Russian Journal of Genetics* 39:414-421.
 Perin C, Hagen LS, Pitrat M (2002) A reference map of Cucumismelo based on two recombinant inbred line populations. *Theoretical and Applied Genetics* 104:1017-1034.
 Sebastian RL, Howell EC, Kearsey MJ (2000) An integrated AFLP and RFLP Brassica oleracea linkage map from two morphologically distinct doubled-haploid mapping populations. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 75-81.
 Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Webb DA (1968) *Flora Europaea Rosaceae to Umbelliferae* 2:206-211.
 Valivov N (1926) Study on the origin of cultivated plants. *Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding* 26:1-248
 Vijayakumar S, Vasedeva R, Mensinkal SW (1975) Study of variability and character association analysis in Linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Mysore Journal of Agricultural Sciences* 9-2.
 Zohary D, Hopf M (2000) *Domestication of plants in the Old World: the origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley*, Oxford University Press, Oxford: 316 p.