ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷
صفحه ۳۱۹ - ۳۱۳

بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف تربچه با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی ریزماهواره

Genetic diversity of some population of Radish (*Raphanus sativus)* using REMAP marker

نادیا سنچولی[۱]، حسین کمال الدینی[۱]، فاطمه حدادی[۱]، بهمن فاضلی نسب[*۲]

۱- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیاران، گروه زیست شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- عضو هیات علمی، گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل

Sancholi N[1], Kamalaldini H[1], Haddadi F[1], Fazeli-Nasab B[*2]

1- MSc, Assistant professors, Department Of Biology, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Lecturer, Department Of Agronomy and Plant breeding, Center of Agricultural Research, university of Zabol, Zabol, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Bfazeli@uoz.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۲ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۵/۱۷)

چکیده

به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی گیاه دارویی تربچه از ۳۶ آغازگر REMAP استفاده شد. آغازگرهای UBC825-Ltr2، UBC815-Ltr1 و UBC815-Ltr20 با ۶ آلل کم‌ترین و آغازگر UBC848-Ltr3 با ۱۷ آلل بیش‌ترین و میانگین تعداد آلل در کل جایگاه‌ها برابر ۱۰/۰۴ بود. بیش‌ترین میزان شاخص چندشکلی (۰/۴۱) مربوط به آغازگر UBC848-Ltr2 و کم‌ترین میزان شاخص (۰/۲۴) مربوط به آغازگر UBC818-Ltr15 بود. بیش‌ترین میزان شاخص مارکری (۳۴/۶۹) مربوط به آغازگر UBC848-Ltr2 و کم‌ترین میزان شاخص مارکری (۲۰/۳۶) مربوط به آغازگر UBC857-Ltr1 بود. بیش‌ترین میزان تعداد الل مؤثره، شاخص تنوع شانون و شاخص تنوع نی به‌ترتیب ۱/۷۳، ۰/۴۲ و ۰/۶۱ متعلق به آغازگر UBC825-Ltr2 و کم‌ترین میزان تعداد آلل مؤثر، شاخص تنوع شاندن و شاخص تنوع ژنی به‌ترتیب ۱/۲۶، ۰/۱۸ و ۰/۳۱ متعلق به آغازگر UBC815-Ltr15 بود و در بین جمعیت‌های تربچه بیش‌ترین درصد مکان چندشکل، تعداد الل مؤثر، شاخص تنوع ژنی و شاخص تنوع شانون به‌ترتیب ۸۹ درصد، ۴۲/۱۸، ۱/۳، ۰/۱۷۰ و ۰/۲۴۸ متعلق به جمعیت French breakfast بود. تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۶۶ درصد کل تغییرات ژنتیکی درون جمعیت‌ها وجود دارد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
شباهت ژنتیکی
رتروترانسپوزونی ریزماهواره
تربچه

تربچه (*Raphanus sativus*) از تیره شب‌بویان، دو لپه، دیپلوئید (۲n=۲x=۱۸)، از جد وحشی (*R. raphanistrum* L.) مشتق، قرن ۱۶ میلادی در انگلستان شناخته و مورد استفاده قرار گرفت و سپس در قرن ۱۷ میلادی در ماساچوست مورد کشت واقع شد. پنج نوع اصلی آن عبارتند از ترب قرمز (تربچه)، ترب سفید، ترب‌سیاه (زمستانه)، ترب کوهی و ترب سفید ماموت کالیفرنیا. طعم تند تربچه مربوط به ماده‌ای به نام سنوول و رنگ قرمز بنفش آن در اثر وجود ماده‌ای به نام مالوین کلراید است (Daei Hasani et al. 2013) گروهی از ترب‌ها به‌منظور استفاده‌های خوراکی و تعدادی دیگر در صنعت دانه‌های روغنی کاربرد دارند و بر این اساس افزایش بهره‌وری گیاه تربچه با شناخت تنوع ژنتیکی از اهمیت بسزایی برخوردار است.

منشأ تنوع ارثی، نوترکیبی‌های ژنتیکی، تغییر در کروموزوم‌ها و جهش‌های ژنتیکی است که در سطح جمعیت، گونه و ژن مورد بررسی قرار گرفته و از آنجایی‌که این نوع تنوع قابلیت انتقال به نتایج را دارد در نتیجه در اصلاح نباتات دارای اهمیت است (Fazeli-nasab and Naghavi 2011). ضمناً برای بهره‌وری از منابع ژنتیکی با حداکثر کارایی، شناخت مواد ژنتیکی نگهداری شده و مورد استفاده ضروری است (Fazeli nasab et al. 2014). پراکندگی و شیوع رتروترانسپوزون‌ها در ژنوم‌های گیاهی و قابلیت آن‌ها در تولید کپی‌های جدید مبنای بسیار عالی برای توسعه سیستم‌های نشانگری فراهم آورده (Nasri et al. 2013) و دارای نواحی محفوظ، مشخص و طولانی بوده که می‌توانند برای همسانه سازی نشانگرهای ویژه و توالی‌های مجاور آن‌ها و طراحی آغازگر استفاده شوند (Monden et al. 2014). نقطه‌ضعف عمده‌ی آغازگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون‌ها این است که برای طراحی آغازگر نیاز به توالی رتروترانسپوزون است (Monden et al. 2015). نشانگرهای مختلفی بر اساس مناطق رتروترانسپوزونی توسعه‌یافته که در این بین نشانگر REMAP (چندشکلی تقویت‌شده رتروترانسپوزونی ریزماهواره) مبتنی بر PCR بوده و رتروترانسپوزون‌های یکپارچه نزدیک به توالی منفرد تکراری را شناسایی می‌کند و به‌طور موفقیت‌آمیزی در تهیه نقشه ژنوم و مطالعه‌ی ثبات ژنومی گونه‌های الوپلی پلوییدی استفاده شده (Nguyen et al. 2016) و تحقیقات مختلفی نیز در مورد استفاده از نشانگر REMAP جهت بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان مختلف مثل ملون (Abdollahi Mandoulakani and Bernousi 2015)، زردآلو (Yuying et al. 2011)، گندم (Nasri et al. 2013) و انگور (D'Onofrio et al. 2010) گزارش شده‌است.

با توجه به پراکنش تربچه در ایران، این تحقیق باهدف بررسی روابط ژنتیکی، تعداد ۷ جمعیت تجاری استاندارد (OP=Open Pollinated) و بومی گیاه تربچه (جدول ۱) تهیه و با استفاده از نشانگر REMAP و در آزمایشگاه بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل در سال ۱۳۹۵ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

استخراج DNAی ژنومی بر مبنای روش SDS (Dellaporta et al. 1983) به‌صورت تک بوته و از هر جمعیت سه بوته انجام شد. تعداد ۳۶ آغازگر ترکیبی (۶ آغازگر ISSR و ۶ آغازگر IRAP) برای این تحقیق انتخاب شد (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر اساس دستورالعمل کالندر و همکاران (Kalendar et al. 1999) انجام و جهت الکتروفورز از ژل آگاروز ۱/۵ درصد و رنگ‌آمیزی با استفاده از ژل رد انجام شد.

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های مورد استفاده در تحقیق

کد	نام علمی نمونه	Name	Origin	Seed quality
A	*Raphanus sativus*	Vikima	دانمارک	OP
B	*Raphanus sativus*	Royal	آمریکا	OP
C	*Raphanus sativus*	Pop vriend seed	هلند	OP
D	*Raphanus sativus*	بومی	اصفهان	بومی
E	*Raphanus sativus*	بومی	درچه اصفهان	بومی
F	*Raphanus sativus*	French breakfast	هلند	OP
G	*Raphanus sativus*	Profit	ایتالیا	OP

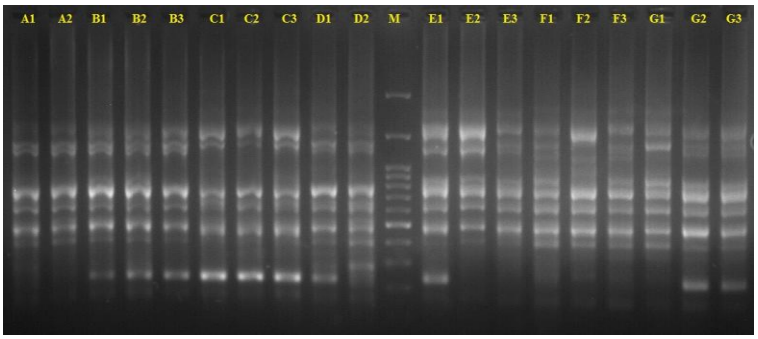
جدول ۲- نام، توالی آغازگرهای ISSR و IRAP مورد استفاده

Motif	Primer Name	Motif	Primer Name
CGCATCCATCTAGCACGAGG	LTR1	(CA)8G	UBC818
CGTCGTCTGCCAGAGTCAAACA	LTR2	(AC)8T	UBC857
GTCACGGTCTCAAAGATATCA	LTR3	(CT)8G	UBC815
GTAAATCTGATTTCCTTTGACA	LTR15	(GA)8YT	UBC840
ATTGTTTTCAGTAGTAGCTCTATCA	LTR20	(AC)8	UBC825
CCGACCTTCATTCTGGCATA	LTR23	(CA)8RG	UBC848

در این تحقیق امتیازبندی الگوهای آللی به‌صورت یک (وجود) و صفر (عدم وجود) برای هر آلل انجام شد. صفاتی هم‌چون تعداد آل‌های تکثیر شده (AB=Amplified Bands)، تعداد آل‌های چند شکل (PB= Ploymorphic Bands)، تعداد آلل مؤثر (Ne=Effective number of alleles)، درصد چندشکلی (PP= Percent of Polymorphic)، شاخص چندشکلی (DI= Diversity Index)، شاخص مارکری (MI=Marker Iindex)، شاخص شانون (I= Shannon's Information index) و شاخص نی (h= Nei's gene diversity) اندازه‌گیری شد. شاخص چندشکلی که میزان آن بین صفر تا یک است (Agrama and Tuinstra 2003) با استفاده از فرمول $DI = 1 - \sum_{i=1}^{n} p_j^2$ (Pj فراوانی آلل j ام در تمام جمعیت‌های مورد ارزیابی) محاسبه شد (Botstein et al. 1980). شاخص‌های مارکری، تنوع نی، تنوع شانون، تعداد آلل مؤثر با نرم‌افزار POPGENE 1.32، تغییرات درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار GeneAlex 6.5، تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش (NJ) و نرم‌افزار Mega 6.06 مبتنی بر ماتریس تشابه نی و لی (Nei and Li 1979) و جاکارد (Jaccard 1912) انجام شد.

از ۳۶ آغازگر مورداستفاده در این تحقیق، ۲۱ آغازگر تکثیر و چند شکل بودند (شکل ۱). در مجموع ۲۱۱ آلل شناسایی شد که آغازگرهای UBC825-Ltr2، UBC815-Ltr1 و UBC815-Ltr20 با ٦ آلل کم‌ترین تعداد و آغازگر UBC848-Ltr3 با ۱۷ آلل بیش‌ترین تعداد را در میان آلل‌های تولیدی توسط هر آغازگر داشتند. میانگین تعداد آلل در کل جایگاه‌ها برابر ۱۰/۰٤ بود (جدول ۳). برای بررسی قدرت تفکیک آغازگرها در نمایش چندشکلی در یک جمعیت، شاخص چندشکلی (DI) و شاخص مارکری (MI) هر آغازگر محاسبه شد. بیش‌ترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/٤۱ مربوط به آغازگر UBC848-Ltr2 و کمترین میزان شاخص چندشکلی با میزان ۰/۲٤ مربوط به آغازگر UBC818-Ltr15 و با میانگین کل ۰/۳۲۹ مشاهده شد (جدول ۳). بیش‌ترین میزان شاخص مارکری با میزان ۳٤/٦۹ مربوط به آغازگر UBC848-Ltr2 و کم‌ترین میزان شاخص مارکری با میزان ۲۰/۳٦ مربوط به آغازگر UBC857-Ltr1 و میانگین ۲٦/۸۳ مشاهده شد (جدول ۳).

برای تجزیه‌وتحلیل تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت، شاخص تنوع ژنی نی (h)، شاخص اطلاعات شانون (I) و تعداد آل‌های مؤثر (Ne) آغازگرها و همچنین جمعیت‌های تربچه مورد مطالعه محاسبه شد (جدول ۳). در بین آغازگرها بیشترین میزان تعداد آلل مؤثره، شاخص تنوع شانون و شاخص تنوع نی به‌ترتیب ۱/۷۳، ۰/٤۲ و ۰/٦۱ متعلق به آغازگر UBC825-Ltr2 و کم‌ترین میزان تعداد آلل مؤثر، شاخص تنوع شانون و شاخص تنوع ژنی به‌ترتیب ۱/۲٦، ۰/۱۸ و ۰/۳۱ متعلق به آغازگر UBC815-Ltr15 بود (جدول ۳)؛ و در بین جمعیت‌های تربچه بیش‌ترین درصد مکان چندشکل، تعداد آلل مؤثره، شاخص تنوع نی و شاخص تنوع شانون به‌ترتیب ۸۹٪، ٤۲/۱۸، ۱/۳، ۰/۱۷۰ و ۰/۲٤۸ متعلق به جمعیت French breakfast و بعد از آن با مقدار ۸۷٪، ٤۱/۲۳، ۱/۲۵، ۰/۱۵۱ و ۰/۲۲٦ متعلق به جمعیت Profit و کمترین میزان تعداد الل مؤثره، شاخص تنوع نی و شاخص تنوع شانون به‌ترتیب ۳۰، ۱٤/۲۲، ۰/۰۵۸ و ۰/۰۸٦ متعلق به جمعیت Vikima بود (جدول ٤). ضمناً تنوع بین و درون جمعیت‌های تربچه بومی ایران مناسب و در بین تمام جمعیت‌های مورد بررسی در حد میانگین بقیه بوده است.



شکل ۱- الگوی نواری تکثیرشده در نشانگر REMAP با استفاده از آغازگر ترکیبی UBC848-Ltr3

جدول ۳- تعداد الل تکثیرشده (AB)، تعدادآلل چندشکلی (PB)، درصد چندشکلی (PP)، تعداد آلل مؤثر (Ne)، شاخص چندشکلی (DI)، شاخص شانون (I)، شاخص نی (h) و شاخص مارکری (MI) به ازای هر آغازگر

Primer Name	Tm	AB	PB	PP	DI	MI	Ne	H	I
UBC815-Ltr15	۵۰/۲	٦	٦	۱۰۰	۰/۲٤	۲٤	۱/۲٦	۰/۱۸	۰/۳۱
UBC815-Ltr20	۵۲/۵	۷	٦	۸۵/۷۱	۰/۳۳۳	۲۸/۵٤	۱/۵٦	۰/۳٤	۰/۵۱
UBC818-Ltr3	۵۱/۱	۱۵	۱۵	۱۰۰	۰/۳۳	۳۳	۱/۵۵	۰/۳۲	۰/٤۸
UBC818-Ltr15	٤۸/٦	۷	۷	۱۰۰	۰/۲٤	۲٤	۱/۳۹	۰/۲۵	/٤۰
UBC818-Ltr20	۵۱/۱	۱۵	۱۲	۸۰	۰/۳۱۱	۲٤/۸۸	۱/۵٤	۰/۳۳	/۵۰
UBC818-Ltr23	٤۷/٤	۱۵	۱۲	۸۰	۰/۳٤	۲۷/۲	۱/۵۸	۰/۳۳	/۵۰
UBC825-Ltr2	۵۰/۲	۸	٦	۷۵	۰/۳۲	۲٤	۱/۷۳	۰/٤۲	۰/٦۱
UBC825-Ltr3	٤۷/٤	۱۵	۱۲	۸۰	۰/۳۵	۲۸	۱/۵۹	۰/۳٦	۰/۵٤
UBC825-Ltr15	۵۱/۱	۱۳	۱۰	۷٦/۹۲	۰/۲۹	۲۲/۳	۱/٤۸	۰/۲۸	۰/٤٤
UBC840-Ltr2	٤۹/٤	۱۰	۸	۸۰	۰/۳۷۹	۳۰/۳۲	۱/۵۸	۰/۳٦	۰/۵٤
UBC840-Ltr3	۵۰/۲	۱٤	۱۱	۷۸/۵۷	۰/۳۳	۲۵/۹۲	۱/۵٦	۰/۳۲	۰/٤۹
UBC840-Ltr15	۵۱/۳	۱۵	۱٤	۹۳/۳۳	۰/۳۱	۲۸/۹۳	۱/٤۰	۰/۲٦	۰/٤۲
UBC840-Ltr20	۵۲/٤	۱۵	۱۰	٦٦/٦٦	۰/۳۹۵	۲٦/۳۳	۱/٦۰	۰/۳٦	۰/۵٤
UBC848-Ltr2	٤۹/٤	۱۳	۱۱	۸٤/٦۱	۰/٤۱	۳٤/٦۹	۱/٦۹	۰/۳۹	۰/۵۸
UBC848-Ltr3	٤۸/٦	۲۰	۱۷	۸۵	۰/۲۷	۲۲/۹۵	۱/٤۱	۰/۲۵	۰/٤۱
UBC848-Ltr15	٤۹/٤	۱۱	۸	۷۲/۷۲	۰/۳٦	۲٦/۲۵	۱/٦۲	۰/۳۵	۰/۵٤
UBC857-Ltr1	۵۲/۵	۱۱	۷	٦۳/٦۳	۰/۳۲	۲۰/۳٦	۱/٤۱	۰/۲۷	۰/٤٤
UBC857-Ltr2	۵۲/۵	۱۲	۸	٦٦/٦٦	۰/۳۸	۲۵/۳۳	۱/٦۲	۰/۳۵	۰/۵۲
UBC857-Ltr15	۵۰/۲	۱۰	۸	۸۰	۰/۳۷	۲۹/٦	۱/٦٦	۰/۳۷	۰/۵٦
UBC857-Ltr20	۵۰/۲	۱٦	۱٤	۸۷/۵	۰/۳۲	۲۸	۱/٤۸	۰/۳۰	۰/٤٦
UBC857-Ltr23	۵۱/۱	۱۰	۹	۹۰	۰/۳۱	۲۷/۹	۱/٤۲	۰/۲۷	۰/٤۳

جدول ٤- تعداد کل مکان‌ها (Amplified Bands)، تعداد مکان‌های چندشکل (PB)، درصد مکان‌های چند شکل (PP)، تعدادآلل مؤثر (Ne)، شاخص تنوع شانون (I) و نی (H) در جمعیت‌های تربچه مورد مطالعه

Population Name	AB	PB	PP	Ne	H	I
Vikima	۲۱۱	۳۰	۱٤/۲۲	۱/۱	۰/۰۵۸	۰/۰۸٦
Royal	۲۱۱	۷۷	۳٦/٤۹	۲٦۱	۰/۱٤٦	۰/۲۱٤
Pop vriend seed	۲۱۱	۵۹	۲۷/۹٦	۱/۲۱	۰/۱۱٦	۰/۱٦۹
Idfahan-dorche	۲۱۱	٦۵	۳۰/۸۱	۱/۲۱	۰/۱۲	۰/۱۷۷
Isfahan	۲۱۱	۸۲	۳۸/۸۹	۱/۲۳	۰/۱٤۲	۰/۲۱۳
French breakfast	۲۱۱	۸۹	٤۲/۱۸	۱/۳	۰/۱۷۰	۰/۲٤۸
Profit	۲۱۱	۸۷	٤۱/۲۳	۱/۲۵	۰/۱۵۱	۰/۲۲٦

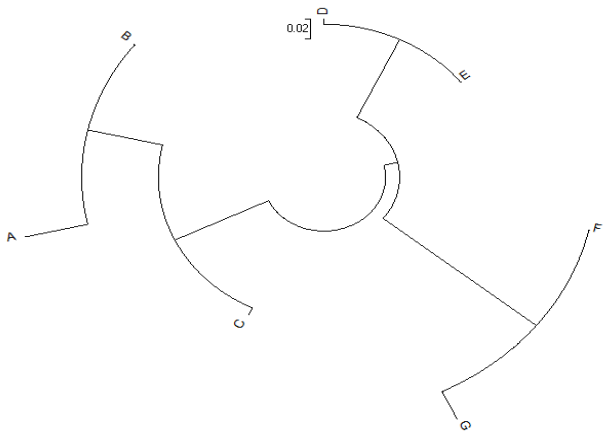
به‌منظور شناسایی و درک بهتر شباهت‌ها و تفاوت‌ها در میان جمعیت‌های موردبررسی، ماتریس تشابه در بین ۷ ژنوتیپ تربچه مورداستفاده با توجه به کل ۲۱۱ الل تولید شده در نشانگر REMAP، بر اساس روش نی (Nei 1973) محاسبه شد. بیش‌ترین میزان فاصله ژنتیکی (۰/۳۸۵) مربوط به جمعیت‌های تربچه French و Vikima و کم‌ترین میزان فاصله (۰/۱۵۰) مربوط به ژنوتیپ‌های Royal و Vikima با میانگین ۰/۲۸۸ مشاهده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی که در آن تغییرات مشاهده شده داخل و بین اجزا جمعیت با استفاده از فاصله‌های ژنتیکی دسته‌بندی می‌شود محاسبه و بر اساس نتایج این تحقیق ٦٦ درصد تغییرات ژنتیکی یافت شده درون جمعیت‌ها و ٣٤ درصد در بین جمعیت‌ها بود (جدول ٥).

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مختلف تربچه نشان داد که به‌جز جمعیت Profit بقیه هر کدام در گروهی جداگانه قرار گرفتند. در هر دو روش جمعیت Vikima کم تنوع‌تر و جمعیت Profit متنوع‌ترین بوده‌اند که مطابق نتایج جدول ٤ است. ضمناً تجزیه خوشه‌ای کلی جمعیت‌ها بر اساس ماتریس تشابه نی (Nei 1973) و روش NJ با نرم‌افزار Mega 6.06 انجام شد و مشخص گردید (شکل ۲) که جمعیت‌ها بر اساس موقعیت جغرافیایی کشور تولیدکننده تفکیک نشدند که می‌تواند به‌دلیل تبادل ژنوم در این کشورها جهت تولید بذر استاندارد باشد اما آنچه در این تجزیه خوشه‌ای مشهود بود قرار گرفتن جمعیت‌های تربچه بومی استان اصفهان در یک گروه که نشان‌دهنده خصوصیات ژنتیکی و خویشاوندی این ژنوتیپ‌ها است؛ اما این دو جمعیت از لحاظ تنوع نسبت به بقیه جمعیت‌ها در سطح متوسط می‌باشند (جدول ٤).

جدول ٥- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های تربچه با استفاده از نشانگر REMAP

S. O. V	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس ٪
بین جمعیت	٦	٣٧٤/٣٦٧	٦٢/٣٩٤	٣٤
درون جمعیت	١٣	٣٢٧/٣٣٣	٢٥/١٧٩	٦٦
کل	١٩	٧٠١/٧٠٠		١٠٠

**: تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد ($P<0.01$)



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های تربچه بر اساس نشانگر REMAP، ماتریس تشابه جاکارد و روش NJ

در گزارشی Yuying et al. (2011) جهت ارزیابی زردآلو با استفاده از نشانگر REMAP، تعداد آلل را از ١٧ تا ٤٦ با میانگین ٢٤/٤، تعداد آلل مؤثر ١/٣٤ تا ١/٨٢ با میانگین ١/٤٨، شاخص تنوع ژنی را از ٠/٢٣٩ تا ٠/٤٤٥ با میانگین ٠/٣٩١، شاخص شانون را از ٠/٣٨٩ تا ٠/٦٣٦ با میانگین ٠/٥٧٢، Nasri et al. (2013) جهت ارزیابی گندم با استفاده از نشانگر REMAP، تعداد آلل را از ٥ تا ١٥ با میانگین ١٢، تعداد آلل مؤثر ١/٣٢ تا ١/٨٠ با میانگین ١/٦، شاخص شانون را از ٠/٢٦ تا ٠/٦٢ با میانگین ٠/٥١، Abdollahi Mandoulakani and Bernousi (2015) جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های ملون با استفاده از نشانگر REMAP، تعداد آلل را از ١١ تا ٢٤ با میانگین ١٦/٢٦، تعداد آلل مؤثر ١/٣٧ تا ١/٦٥ با میانگین ١/٥٤، شاخص شانون را از ٠/٣٧ تا ٠/٥٧ با میانگین ٠/٤٥ گزارش دادند. بر اساس آنچه که ارائه شد شاخص چندشکلی نمی‌تواند عدد ثابتی داشته باشد و بستگی به عواملی مثل تعداد آلل تولیدی توسط هر جایگاه، تعداد ژنوتیپ و حتی تعداد آغازگر دارد (Prasad et al. 2000). به‌طوری‌که Roder et al. (1995) میانگین محتوای چندشکلی را در تحقیقی با ١٨ ژنوتیپ و ١٥ آغازگر در گندم را ٠/٦٣ و همین میزان را زمانی که تعداد ژنوتیپ‌ها ٦ عدد بود ٠/٥٤ به‌دست آوردند.

طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای، ارتباط مؤثری در رابطه با موقعیت جغرافیایی در بین جمعیت‌ها مشاهده نشد اما به‌جز جمعیت Profit تکرار بقیه جمعیت‌ها در گروه‌های مجزا و کنار هم قرار گرفته‌اند. لازم ذکر است جمعیت‌های بومی ایران در یک گروه

بوده و نشان‌دهنده خصوصیات ترانسپوزونی نزدیک بین آن‌ها و فاصله ژنتیکی با بقیه است. از طرفی نتایج مبنی بر عدم تطبیق منشأ جغرافیایی با تنوع ژنتیکی در پژوهش Abdollahi (2015) Mandoulakani and Bernousi در ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در توده‌های ملون با استفاده از REMAP و Solouki et al. (2012) در ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های شوید با استفاده از نشانگر AFLP مشاهده شده که با تحقیق حاضر مشابهت داشتند. در تحقیق حاضر نتایج تجزیه واریانس مولکولی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ٦٦ و بیش‌تر از تنوع بین جمعیت‌ها ٣٤ درصد بود. وجود تنوع بالا درون جمعیت در گیاهان دیگر با استفاده از نشانگر RAPD (شباهت بیشتر گونه *M. piperita* را با گونه *M. aquatic*)(Momeni et al. 2006) و نشانگر ISSR؛ شوید (Bahari et al. 2015)، لاله واژگون (Momeni et al. 2013) و بلوط (Alikhani et al. 2014) گزارش شده‌است. از عوامل مؤثر در توجیه تنوع بیش‌تر درون جمعیت مواردی از جمله خودگشن بودن گیاه، یک‌ساله بودن، ازدیاد با بذر، تعداد مکان‌های آللی موردبررسی، موقعیت آللی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه جمعیت را می‌توان ذکر نمود (Pejmanmehr et al. 2009) بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به‌دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی، تلاقی خویشاوندی، مهاجرت و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (Mohammadi and Prasanna 2003). قرار گرفتن نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از مناطق جغرافیایی مختلف در خوشه‌های یکسان می‌تواند نشانه‌ای از تشابه ژنتیکی و یا تبادل فیزیکی بذر بین مناطق مختلف باشد که تفسیر آن بر اساس تبادلات فیزیکی نسبت به تشابهات ژنتیک توجیه‌پذیری بیش‌تری دارد (Bahari et al. 2015).

با توجه به اینکه فاصله ژنتیکی بیش‌تر در هنگام تلاقی جمعیت‌ها یا لاین‌ها، سبب افزایش مکان‌های ژنی هتروزیگوت و بالا بردن احتمال اثر هتروزیس می‌شود (Olfati et al. 2012)؛ و از طرفی فاصله ژنتیکی ممکن است با صفات مطلوب مرتبط باشد در نتیجه می‌توان پس از بررسی‌های بیش‌تر، از آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی استفاده کرد (Bahari et al. 2015). لذا بر این اساس چون کم‌ترین میزان تشابه مربوط به جمعیت‌های تربچه French breakfast و Vikima بوده و بیش‌ترین تنوع درون جمعیتی مربوط به جمعیت French breakfast بود در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی تربچه بهتر است جمعیت French breakfast به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب کرد.

با توجه به اینکه ایران یکی از مناطق رشد و رویش تربچه است (Daei Hasani et al. 2013) در نتیجه انتظار می‌رود در این کشور تنوع بین و درون جمعیت‌های مختلف تربچه زیاد باشد که نتایج این تحقیق نیز همین اطلاعات را نشان داد. با توجه به اینکه بیش‌ترین تنوع درون جمعیتی مربوط به جمعیت French breakfast بود در نتیجه می‌توان ذکر کرد که جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه دارویی تربچه بهتر است جمعیت French breakfast به‌عنوان یکی از پایه‌های پدری یا مادری و یا دهنده ژن انتخاب در اصلاح تربچه‌های ایران استفاده کرد. هم‌چنین بر اساس نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که نشانگر REMAP می‌تواند ابزاری مناسب جهت برآورد تنوع، بررسی و مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف باشد.

منابع

Abdollahi Mandoulakani B, Bernousi I (2015) Genetic diversity in iranian melon populations and hybrids assessed by IRAP and REMAP markers. Journal of Agricultural Science and Technology 17: 1267-1277.

Agrama H, Tuinstra M (2003) Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. African Journal of Biotechnology 2: 334-340.

Alikhani L, Rahmani M-S, Shabanian N, Badakhshan H, Khadivi-Khub A (2014) Genetic variability and structure of Quercus brantii assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. Gene 552: 176-183.

Bahari Z, Shojaeiyan A, Rashidi Monfared S, Mirshekari A, Nasiri K, Amiriyan M (2015) Investigation of Genetic Diversity among Some Iranian Dill (*Anethum graveolens*

L.) Landraces, Using ISSR Markers. Journal of Plant Genetic Research 2:11-22.
Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genetics 32:314.
D'Onofrio C, De Lorenzis G, Giordani T, Natali L, Cavallini A, Scalabrelli G (2010) Retrotransposon-based molecular markers for grapevine species and cultivars identification. Tree Genetics and Genomes 6:451-466.
Daei Hasani B, Abedini M, Hemati A, Falahati S (2013) Radish and its medicinal properties. the third national conference on medicinal plants and sustainable agriculture, Article COI: MPSA03_203, p:1-10.
Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA minipreparation: version II. Plant Molecular Biology Reporter 1:19-21.
Fazeli-nasab B, Naghavi MR (2011) Identification of Rust resistance among wheat cultiras by using SSRs markers. Journal of Agronomy Science 4:81-88.
Fazeli nasab B, Naghavi MR, Mehrabi AA (2014) Allelic Variation of Microsatellite Markers from Linkage Group A Genome in Wild Populations of *Einkorn* and Hexaploid Wheat. Agricultural Biotechnology 4: 53-62.
Jaccard P (1912) The distribution of the flora in the alpine zone. New Phytologist 11:37-50.
Kalendar R, Grob T, Regina M, Suoniemi A, Schulman A (1999) IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. Theoretical and Applied Genetics 98:704-711.
Mohammadi S, Prasanna B (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. Crop Science 43:1235-1248.
Momeni H, Shiran B, Khodambashi M, Cheghamirzaei K (2013) Studying of genetic diversity in some population of Fritillaria imperialis L. in Iranian Zagros region using ISSR marker and morphological traits. Iranian Journal of Horticulture 44:61-72.
Momeni S, Shiran B, Razmjoo K (2006) Genetic variation in Iranian mints on the bases of RAPD analysis. Pakistan Journal of Biological Sciences 9:1898-1904.
Monden Y, Hara T, Okada Y, Jahana O, Kobayashi A, Tabuchi H, Onaga S, Tahara M (2015) Construction of a linkage map based on retrotransposon insertion polymorphisms in sweetpotato via high-throughput sequencing. Breeding Science 65:145-153.
Monden Y, Yamaguchi K, Tahara M (2014) Application of iPBS in high-throughput sequencing for the development of retrotransposon-based molecular markers. Current Plant Biology 1:40-44.
Nasri S, Mandoulakani BA, Darvishzadeh R, Bernousi I (2013) Retrotransposon insertional polymorphism in Iranian bread wheat cultivars and breeding lines revealed by IRAP and REMAP markers. Biochemical Genetics 51:927-943.
Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences 70:3321-3323.
Nei M, Li W-H (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences 76:5269-5273.
Nguyen TX, Lee S-I, Rai R, Kim N-S, Kim J-H (2016) Ribosomal DNA locus variation and REMAP analysis of the diploid and triploid complexes of Lilium tigrinum Ker-Gawler. Genome 59:551-564.
Olfati JA, Samizade H, Peyvast GA, Rabiei B, Khodaparast SA (2012) Rleationship between genetic distance and heterosis in cucumber. International Journal of Plant Breeding 6:21-26.
Pejmanmehr M, Hasani MA, Fakhr-Tabatabai SM, Hadian J (2009) Genetic diversity and segregating of populations Zyrh English (Bunium persicum (Boiss) using molecular markers RAPD. Journal of Environmental Sciences 7:63-76.
Prasad M, Varshney R, Roy J, Balyan H, Gupta P (2000) The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. Theoretical and Applied Genetics 100:584-592.
Roder MS, Plaschke J, König SU, Börner A, Sorrells ME, Tanksley SD, Ganal MW (1995) Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. Molecular and General Genetics MGG 246:327-333.
Solouki M, Hoseini S, Siahsar B, Tavassoli A (2012) Genetic diversity in dill (Anethum graveolens L.) populations on the basis of morphological traits and molecular markers. African Journal of Biotechnology 11:3649.
Yuying S, Xiajun D, Fei W, Binhua C, Zhihong G, Zhen Z (2011) Analysis of genetic diversity in Japanese apricot (Prunus mume Sieb. et Zucc.) based on REMAP and IRAP molecular markers. Scientia Horticulturae 132:50-58.