مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۹، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲

صفحات ۲۵۹-۲۳۹

Online ISSN: 4493-2476

Print ISSN: 2020-2538

www.irijournals.com

بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین توده های بومی پیاز

نیلوفر هاشمی[۱]، محمد مجرد صومعه[۲]

[۱]دانش آموخته ی کارشناسی ارشد، رشته ژنتیک ، دانشگاه آزاد واحد تهران شرق، ایران.

[۲] دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه آزاد واحد تهران شمال، ایران

چکیده

این پژوهش با هدف بررسی بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین توده های بومی پیاز انجام شده است به منظور استخراج DNA نمونه‌های برگ پیاز از روش تغییر یافته استخراج موری و تامسون (۱۹۸۰) استفاده شد. در مقالات مختلف از روشهای متفاوتی برای استخراج استفاده شده است اما این روش هزینه و وقت کمتری در مقایسه با سایر روش ها نیاز دارد که استفاده از آن را برای تعداد زیـادی نمـونه توجـیه می‌نماید. ابتدا استخراج DNA با استفاده از روش مزبور انجام گرفت. به طور کلی اختلاف معنی دار بین توده ها از نظر بسیاری از صفات، نشانگر وجود تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسم پیاز ایرانی می باشد. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر توده ها برای صفات زراعی و میانگین عملکرد تک بوته مشابه هم بود و ۱۶ توده ارزیابی شده در ۴ گروه متفاوت قرار گرفتند. تجزیه کلاستر بر مبنای الگوهای نواربندی، دو گروه متفاوت را در بر داشت و با نتایج تجزیه کلاستر برای صفات زراعی مطابقت نداشت. با انجام تجزیه به مولفه های اصلی، دو مولفه اول ۹۷/۵۸٪ از کل واریانس متغیرهای اولیه را توجیه کردند. عملکرد مهم ترین نقش را در تبیین مولفه اول داشت و در مرتبه بعدی وزن خشک قرار داشت. در مولفه دوم وزن خشک و قطر پیاز بیشترین تاثیر را دارا بودند. در مجموع، تجزیه به مولفه های اصلی نیز توانست گروه های حاصل از تجزیه کلاستر برای صفات زراعی را از همدیگر متمایز نماید. هر کدام از گروه ها از نظر برخی صفات برتر از سایر گروه ها بودند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، پیاز، پیازهای بومی ، عملکرد ، تجزیه کلاستر

مقدمه

تنوع گیاهی به مرور زمان در اثر تفاوت در اقلیم، جغرافیا وتلاقی طبیعی بین گیاهان ایجاد شده است. کشاورزان نیز با جا به جا نمودن بذر گیاه و کاشت آن در محیطی جدید و انتخاب گیاهانی با خصوصیات مورد نظر باعث ایجاد تفاوت بین گیاهان و اجداد مادریشان شده‌اند. این ژنوتیپ‌های متفاوت به دلیل سازگاری به عوامل محیطی و همچنین داشتن ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها از اهمیت زیادی برخوردارند، ولی در سال‌های اخیر به دلیل افزایش سطح زیر کشت ارقام وارداتی اصلاح شده، از بین رفتن زمین‌های کشاورزی و ماشینی شدن آن، تنوع وسیع توده های بومی مورد تهدید قرار گرفته است. در حالی که کشورهای پیشرفته با پی بردن به اهمیت ارقام بومی در تلاش هستند به ذخایر توارثی بومی و محلی در تمام کره خاکی دسترسی داشته باشند تا از حداکثر تنوع موجود در جهت اصلاح استفاده نمایند، لذا افزایش تلاش برای شناخت ارقام بومی کشور ضروری به نظر می‌رسد.(یوسفی و عباسیفر، ۱۳۹۸) مطالعه تنوع ژنتیکی فرایندی است که تفاوت‌های بین افراد، جمعیت‌ها یا گروه‌ها بر اساس داده‌های حاصل از ارزیابی صفات مختلف با استفاده از روش‌های آماری خاص بررسی می‌شود. از کاربردهای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان به تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها، مطالعه ژنتیک جمعیت، مطالعه و حفاظت ژنتیکی ذخایر ژرم پلاسمی می‌توان اشاره کرد. با گسترش زراعت پیاز در محیط‌ها و شرایط آب و هوایی جدید، جوامعی انتخاب گردیدند که از نظر شکل، رنگ، بو و قابلیت انبار داری تفاوت داشتند. اینکه تنوع مشاهده شده، زمینه ژنتیکی متفاوت را نشان می‌دهد و یا انتخاب توسط بشر این تنوع را افزایش داده است بررسی دقیقی نشده است. علیرغم اهمیت اقتصادی، کاربرد وسیع و مزایای بالقوه بهداشتی پیاز، مطالعات محدودی درباره فیلوژنی این گیاه صورت گرفته است. (همتی و بندیکتوس، ۱۳۹۹)

مجموعه‌های ژرم پلاسم پیاز، در بسیاری از کشورها از جمله ایالت متحده آمریکا، اتحادیه اروپا،ژاپن و فلسطین اشغالی نگهداری می‌شوند. شناسایی و تعیین مشخصات اجداد پیاز بسیار مهم می‌باشد به ویژه اینکه، زیستگاه‌های برخی از گونه‌های وحشی پیاز در حال تهدید و نابودی است. پس از تعیین مشخصات، گونه‌های بسیار نزدیک *پیاز* وحشی با انواع اهلی باید جمع آوری و در مجموعه‌های ژرم پلاسم نگهداری شوند. این منبع ژنی ثانویه ممکن است منبع صفاتی نظیر مقاومت به بیماری‌ها باشد که در ایجاد ارقام و دورگه‌های جدید حائز اهمیت هستند.

از آنجایی که اساس هر برنامه اصلاحی شناخت دقیق مواد گیاهی و آگاهی ازسطح تنوع ژنتیکی موجود می‌باشد، استفاده از روش‌های که امکان ارزیابی دقیق را در مراحل مختلف رشد و نمو فراهم آورده و شناسایی دقیق ژنوتیپ ها را امکان پذیر سازند دارای اهمیت است. نشانگرهای فنوتیپی و بیوشیمیایی به دلیل تاثیر پذیری از شرایط محیطی، مرحله رشدی و محدود بودن تعداد آن‌ها و همچنین به دلیل عدم در دسترس بودن ابزارهای مناسب برای اندازه گیری دقیق آن‌ها از کارائی محدودی برخودار هستند. در سال‌های اخیر با پیشرفت در زمینه ژنتیک مولکولی و تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، استفاده از این نشانگرها به عنوان ابزارهای کارا و مکمل به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین افراد، به طور چشمگیری افزایش یافته است. (نوری مقدم،۱۳۹۹)در این راستا بهترین و مناسب ترین نوع نشانگرها، نشانگرهای DNA هستند که تفاوت و تنوع افراد را در سطح ماده ژنتیکی یعنی DNA نشان می‌دهند. در این میان نشانگرهای ریز ماهواره به علت طبیعت هم‌بارز، چند شکلی و فراوانی آللی بالا و همچنین فراوانی زیاد در ژنوم موجودات، به عنوان ابزار قدرتمندی در تعیین سطح تنوع ژنتیکی و مطالعه آن می‌باشند. همچنین نشانگر ISSR به دلیل هزینه پایین، سهولت کار وچند شکلی بالا نشانگری مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد. با توجه به موارد ذکر شده این تحقیق با اهداف زیر انجام شده است:

۱- گروه بندی توده های بومی پیاز با توجه به ارتباط ژنتیکی و میزان تشابه

۲- مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین توده های بومی

۳- مقایسه توده های بومی ایران با برخی از ارقام خارجی

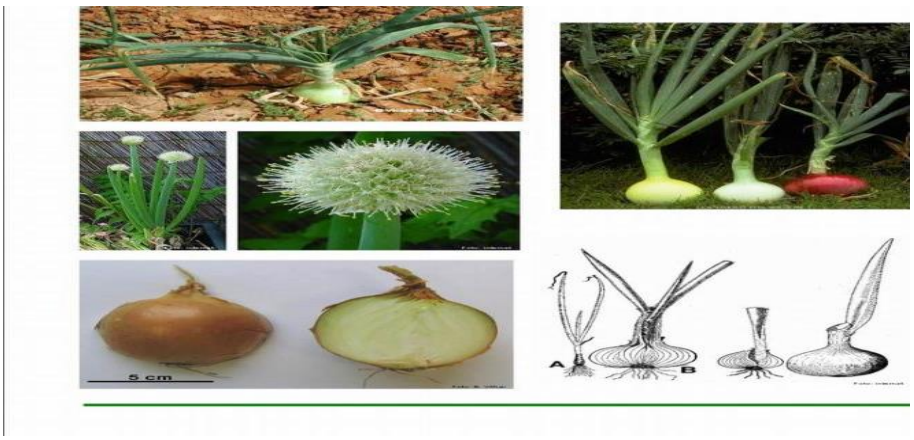
گیاه شناسی

پیاز گیاهی است تک لپه، علفی و دو ساله که به عنوان گیاه یکساله کشت می‌شود. پیاز خوراکی[1]از سلسله گیاهان، رده نهاندانگان، طبقه تک لپه‌ای‌ها، راسته آسپارگالس، خانواده آلیاسه، جنس آلیوم و گونه سپا می‌باشد. جنس آلیوم به وسیله برخی مولفین در خانواده سوسنی‌ها[2]و به وسیله برخی دیگردرخانواده نرگسیان[3]طبقه بندی شده است. این جنس از این نظر که گل آن دارای یک تخمدان آزاد است که در بالای محل اتصال اجزای دیگرگل واقع شده، شبیه سوسنی‌ها می‌باشد ولی از این نظر که گل آذین چتری آن به وسیله یک اسپات احاطه شده شبیه نرگسیان است. در روش طبقه بندی جدید تک لپه ای‌ها، جنس آلیوم و خویشاوندان نزدیک آن در یک تیره مجزا به نام آلیاسه قرار گرفته‌اند(نوری مقدم، و حبیبی،۱۳۹۷).

ساختمان بوته:

هر برگ دارای دو بخش می‌باشد:غلاف و پهنک غلاف برگ استوانه ای (لوله) است که از مریستم انتهائی که در مرکز ساقه کوتاه، فشرده و دیسک مانند قرار دارد بوجود آمده است و قسمت بالای آن باز می‌باشد.

پهنک لوله‌ای، توخالی و طویل است که در جهت محوری کمی پهن است. پهنک برگ از یک طرف لبه بالایی غلاف برگ گسترش یافته است. غده پیاز اندام ذخیره ای می‌باشد که در نتیجه حرکت ذخایر غذایی به سوی قاعده برگ های ظاهر شده شکل می‌گیرد. این اندام کربوهیدارت ها را به فرم گلوگز، فروکتوز، سوکروز و الیگوساکارید های پچیده تر ذخیره می‌کند. پیازها دارای ریشه‌های سطحی هستند و هیچ ریشه ثانویه ای ندارند. عمر ریشه اولیه گیاهک کوتاه است و ریشه‌های بعدی گوشتی و ضخیم بوده و به طور پیوسته از سطح زیرین ساقه ظاهر می‌شوند. گروه‌های متوالی ریشه‌ها، در بالای ریشه ی قبلی و نزدیکتر به نوک ساقه تولید می‌شوند. بسته به ژنوتیپ، اندازه پیاز، شرایط محیطی و تعداد جوانه های جانبی که روی محور ساقه حقیقی تشکیل شده‌اند،۱ تا ۳۰ گل آذین می‌تواند تولید شود اما معمولا" حداکثر ۵ تا ۷ گل آذین دیده شده است. در هر گل آذین معمولا" ۲۰۰ تا ۶۰۰ گل منفرد وجود دارد. بذر های پیاز نیز سیاهرنگ، با اشکال نامنظم و نسبتا" کوچک می‌باشند . (میرشکاری و مبشر.۱۳۹۴)



[1] Allium cepa

۲-Lyliacae

۳-Amarylidaceae

تصویر شماتیکی از گل آذین، غده و گیاه جوان و کامل پیاز

شرایط مناسب رشد

پیاز یک گیاه فصل سرد است که در یک محدوده وسیع درجه حرارت به خوبی رشد می‌کند. بعضی از انواع پیاز مقاومت به سرما دارند. بهترین رشد گیاهان بیـــن درجـــه حرارت‌های ۱۲/۸ تا ۲۳/۹ درجه سانتی‌گراد می‌باشد، اما بذرها در درجه حرارت نزدیک ۱۸/۳ درجه سانتی گراد به بهترین نحو جوانه می‌زند، همچنین بین درجه حرارت‌های ۷/۲ تا ۲۹/۴ درجه سانتی‌گراد جوانه زدن آن رضایت بخش می‌باشد. اگر درجه حرارت در مراحل اولیه رشد خنک و در نزدیک رسیدن گرم باشد بهترین رشد و بالاترین کیفیت بدست می‌آید. هوای خشک در زمان برداشت جهت خشک کردن رضایت بخش غده‌ها مطلوب می‌باشد. پیاز نسبت به آسیب حاصل از یخبندان مقاوم است، لیکن مصون نمی‌باشد. (موسوی فضل،۱۳۹۵)

خاک مورد استفاده برای پیاز در دامنه شنی نرم تا لومی-رسی سنگین می‌تواند استفاده شود. اما خاک پیت یا شنی، اگر خوب آبیاری شوند مطلوب تر می‌باشند. رطوبت کافی برای جوانه زن یکنواخت بسیار ضروری می‌باشد. خاکهای با قدرت نگهداری آب بالا بهتر می‌توانند رطوبت را برای سیستم ریشه ای فراهم کنند چون سیستم ریشه ای سطحی بوده و برای بهترین رشد، پیاز باید به میزان کافی آب دریافت نماید. اما باید زهکشی نیز به طور مناسب صورت گیرد چون پیاز حساس به رطوبت خیلی بالا نیز می‌باشد. نیتروژن کافی و یکنواخت برای رشد گیاهان بارور و تولید بذر باکیفیت مهم می‌باشد. همچنین سطوح بالایی از پتاسیم و فسفر نیز برای رشد سریع و عملکرد بالا لازم است. (موسوی فضل، ۱۳۹۵)

قدمت و منشا

بسیاری از گونه‌های پیاز در شمال آفریقا، اروپا و آسیا پیدا شده‌اند و بیش از ۹۰٪ آن‌ها دارای کروموزوم پایه ۸ هستند که شامل پیاز های زراعی می‌شوند. *Allium cepa* ، دیپلویید (2n=2x=16) و دارای هشت جفت کروموزوم درشت است که هفت جفت کروموزوم متا سنتریک یا نیـــمه متا سنتریک و یک جفت کروموزوم نیمه تلو سنتریک همراه هستک سازمان دهنده دارد. با توجه به یادداشت‌های به جا مانده از مصر باستان و سومری‌ها مشخص شده است که تاریخ اهلی کردن پیاز به بیش از ۴۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد. همچنین اولین مکانی که کشت و کار پیاز در آن ثبت گردیده است کشور مصر می‌باشد. پیاز در هند نیز از حدود۶۰۰ سال قبل از میلاد کشت می‌شده است. در حال حاضر پیاز در سر تا سر جهان مورد کشت و کار قرار می‌گیرد و این گسترش نشان دهنده سازگاری بسیار زیاد این گیاه می‌باشد. (موسوی زاده،۱۳۹۸)

اگر چه پیاز خوراکی مهمترین محصول در جنس *Allium* می‌باشد، اما مبدا آن هنوز به طور دقیق مشخص نشده است. همچنین انواع وحشی پیاز هنوز به طور کامل شناخته نشده‌اند، لیکن درمنابع از آسیای مرکزی به عنوان یک مرکز اهلی شدن یا رویشگاه اولیه نام برده شده است. گونه وحشی*A.vavilovii* به عنوان نزدیکترین خویشاوند وحشی آن مشخص شده است. توزیع *A.vavilovii* و گونه‌های مرتبط با آن در ترکمنستان و ایران پیشنهاد می‌کند که اهلی شدن یک خویشاوند وحشی پیاز در این مناطق رخ داده است. بعضی از منابع معتقداند پیاز احتمالا" از افغانستان، ایران و پاکستان منشا گرفته است. (موسوی زاده،۱۳۸۴)

گونه‌های مهم جنس*Allium*

در جنس *Allium* حدود ۷۵۰ گونه وجود داردکه اغلب گیاهان غده‌ای می‌باشند. در این جنس تنوع بسیار زیادی در خصوصیات مورفولوژیکی مختلف به خصوص در فرم های زندگی،فنولوژی و عادات اکولوژیکی دیده می‌شود. ۱۲ گونه توسط انسان‌ها به عنوان سبزی، گیاهان دارویی، ادویه و چاشنی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از آن جمله می توان پیاز خوراکی، سیر، موسیر، تره فرنگی وپیازچه برگی را نام برد. (موسوی زاده،۱۳۹۶)

پیاز خوراکی به دو گروه عمده تقسیم می‌شودکه عبارتند از: پیاز معمولی و گروه aggregatum . پیاز معمولی: پیازها در این گروه توسط بذر تکثیر می‌شوند و اکثر کولتیوارها به منظور تولید غده‌های خشک کشت می‌یابند. تنوع بالایی در این گروه دیده می‌شود . این گروه شامل صدها کولتیوار جدید ،آزاد گرده افشان سنتی، هیبریدهای نسل یک و نژاد های محلی هستند که در مناطق بسیاری از جهان کاشته می‌شوند. غده‌ها بزرگ و به طور معمول منفرد دارند.

گروه aggregatum: غده ها در این گروه کوچکتر می‌باشند و معمولا" یک کلاستر مجتـــمع را شکل می‌دهند. تکثیر سنتی اغلب از طریق غده های دختری صورت می‌گیرد. این گروه ارزش اقتصادی کمتری را نسبت به گروه قبـــلی دارا می‌باشد. (منوچهری،۱۳۹۶)

اهمیت پیاز

اهمیت اقتصادی - تجاری

پیاز کالای مهمی در تجـــارت بین المللی است که به دلیل خصوصیات خوب انبار داری و پایداریش در حمل و نقل بیشتر از دیگر سبزیجات در تجارت نقش دارد. اهمیت پیاز در بین سبزیجات شایان توجه می‌باشد. پیاز به طور روزمره مورد استفاده قرار می‌گیرد و از نظر ارزش تولیدی مقام چهارم را در بین سبزیجات دارا می‌باشد. تولید آن در مناطق معتدل تا نیمه گرمسیر رخ می‌دهد. مهم‌ترین صادر کنندگان آن شامل اسپانیا، هند،مکزیک، ترکیه، آمریکا و هلند هستند.

طبق آمار سازمان خواروبار جهانی(FAO) در سال ۲۰۰۷ در ایران سطح زیر کشت پیاز ۵۰۰۰۰ هکتار و کل تولید آن ۱۷۰۰۰۰۰ تن بوده است. همچنین سطح زیر کشت پیاز در جهان ۳۴۵۱۰۴۱ هکتار و کل تولید آن ۶۴۴۷۵۱۲۶ تن بوده است. (منوچهری،۱۳۹۶)

اهمیت تغذیه ای – بهداشتی

بیش از ۴۰۰۰ سال است که پیاز برای غذا، مصارف پزشکی یا اهداف مذهبی کشت شده است. طعم و بـــوی مشخـــص آن وقتـــی که بافـــت‌ها کوبیده، بریـــده یا خیســـانده شـــود و آنزیـم آلـیناز مواد اولیه S-alkyl cycteine sulfoxide را هیدرولیز کرده و ترکیب‌های گوگردی فرار تولید نماید، ظاهر می‌گردد. این ترکیب‌های طعم و بو در بسیاری از مناطق به عنوان ترکیبی مهم در غذا پذیرفته شده است. از قسمت‌های مختلف پیاز از برگ‌های جوان تا غده های رسیـــده به شکل‌های مختلـف استفاده می‌شود. از برگ و قسمت‌های زیر زمینی آن که غده نام دارد به صورت تازه، پخته و در صنایع تبدیلی استفاده می‌شود. پیاز افزون بر مواد معدنی به ویژه پتاسیم، دارای ویتامین‌های B2،B1 وC می‌باشد که از نظر تغذیه مهم است. همچنین به دلیل داشتن کلسیم زیاد در تحکیم استخوان‌ها و لثه‌ها نقش مهمی را دارا می‌باشد. بعلاوه همانند سایر سبزیجات دارای خواص بهداشتی از جمله ضد عفونی کننده دستگاه گوارش می‌باشد. ماده ای به نام پروستا گلاندین، جهت تهـــیه داروی کاهش دهنده فشار خون از پیاز استخراج می‌شود. به علاوه، پیاز مصارف پزشکی زیادی نظیر پایین آوردن چربی، قند، تجمع گلبول‌ها و تسریع تجزیه فیبرین در خون را دارد. پیازهای زرد و قرمز دارای میزان زیادی فلاوون، کورکتین،

گلیکوزیدهای کورکتین می‌باشند. این ترکیب‌ها ویـــــژ گـــــی‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی دارند و گفته شده است که در واکنش‌های ضد سرطانی نقش دارند و دارای ویژ گی‌های ضد انعقادی و فواید بهداشتی دیگر نیز می‌باشند. (یوسفی و عباسیفر، ۱۳۹۸)

اهداف به نژادی

تولید پیازهای تجارتی که جزء هدف های مهم در اصلاح پیاز می‌باشد به مقاومت آن‌ها به بیماری‌ها، آفات و گل دهی در سال اول (گل دهی در زمان تشکیل پیاز) بستگی دارد. در تولید بذر پیاز، به نژاد گران باید کوشش‌های خود را بر صفات حایز اهمیت فوق در تولید بذر و پیازهای دارای کیفیت بالا متمرکز سازند. تولید بذرهای دارای کیفیت مناسب، نیازمند پیازهای قوی، گل دهی یکنواخت، ساقه گل دهنده مستقیم، حشرات گرده افشان و شرایط دقیق برای خشک کردن و تمیز کردن بذر است. (موسوی زاده،۱۳۸۹)

اهمیت مطالعه منابع ژنتیکی

کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی، یکی از پیامدهای اجتناب ناپذیر کشاورزی نوین (استفاده از ارقام اصلاح شده با عملکرد بیشتر و کیفیت بهتر) می باشد. اگر چه تخمین میزان کاهش تنوع ژنتیکی مشکل و در برخی موارد غیر ممکن است اما در این مساله که بسیاری از ژن‌های مفید از دست رفته و ذخایر ژنتیکی با سرعت فزاینده ای کاهش یافته اند تردیدی وجود ندارد. از آنجایی که کشاورزی و تولید غذا بستگی به استفاده از ژنوتیپ‌های گیاهی پرمحصول دارد، از نظر کاربردی تنوع ژنتیکی در گیاهان و جمعیت‌های گیاهی مورد توجه محققین است. درک و مدیریت تنوع ژنتیکی موجود در داخل ارقام اهلی و خویشاوندان وحشی آنها اطلاعات ارزشمندی را در مورد پیش بینی عملکرد هیبریدها و انتخاب نژادهای والدینی مناسب بدست می‌دهد. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی ممکن است از طریق ساز و کارهای متفاوتی نظیر جهش، نوترکیبی، مهاجرت، جریان ژنی، رانده شدن ژنتیکی و گزینش ایجاد شود. امـــــروزه با بکار گیری روش‌های پیشرفته به طور دقیق به وجود یا عدم وجود تنوع پی برده می‌شود. وجود تنوع ژنتیکی اساس کارهای اصلاحی، انتخاب ژنوتیپ‌ها و نمونه‌های گیاهی مورد نظر است. در روش‌های متداول اصلاح گیاهان، اساس بر گزینش ژنوتیپ‌های مورد علاقه از بین تنوع ژنتیکی موجود و دست ورزی همه یا تعدادی از صفات ممکن و مورد علاقه در یک ژنوتیپ به منظور تولید واریته تجاری استوار می‌باشد. ارقام بومی از نظر ژنتیکی جوامع متنوعی هستند که دارای پتانسیل بالای ژنتیکی و سازگاری وسیعی می‌باشند. این مواد ذخایر ژنتیکی گرانبهایی برای استفاده در تکنولوژی‌های نوین کشاورزی و برنامه‌های اصلاحی آینده می‌باشند. تنوع موجود در داخل این توده‌ها شرایط را برای انتخاب تک بوته‌ها و در نهایت شناسایی صفات مطلوب فراهم می‌سازد . (موسوی زاده،۱۳۸۴)

توده‌های بومی پیاز ایران دارای شجره نامشخص بوده و احتمالا" برخی از آن‌ها با نام‌های محلی در مناطق مختلف کشور کشت می‌شوند. لازم به ذکر است که شناخت و درک هر چه بهتر تنوع ژنتیکی پیش شرط لازم برای مطالعات ژنتیکی و اصلاح گیاه پیاز بوده و می‌تواند به استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی کمک نماید. آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی و روابط ژنتیکی بین توده‌ها برای بررسی علمی موثر و استفاده بهینه از ژرم پلاسم، از اهمیت خاصی برخوردار بوده و جهت طراحی برنامه اصلاحی مناسب به واسطه انتخاب ژنوتیپ‌های والدینی و ایجاد جمعیت‌های جدید الزام آور است. در کشور ما به دلیل عدم شناخت ذخایر ژنتیکی و ژن‌های مطلوب، برنامه اصلاحی در خور توجهی روی محصولات باغبانی خصوصا" سبزی‌ها صورت نگرفته است. لذا می‌توان با شناسایی خصوصیات ارقام و گونه‌های مختلف، ژن‌های مطلوب و مورد نیاز محققین را در دسترس آن‌ها

قرار داد. برخی از خصوصیات گیاه شناسی، تعداد کم کروموزوم‌ها و تنوع گونه‌های خویشاوند، پیاز را گیاه مناسبی برای مطالعات فیزیولوژیکی، ژنتیکی و سیتوژنتیکی ساخته است.

- نشانگرهای ژنتیکی[۴]

تفاوت در بین تعداد و ترتیب بازهای DNA کروموزوم‌های هر موجود می‌تواند به عنوان نشانگر ژنتیکی به کار گرفته شود. این تفاوت‌ها به صورت‌های مختلفی تظاهر پیدا می‌کنند و به طور کلی نشانگرهای ژنتیکی در دو دسته کلی قرار می‌گیرند. برخی از تفاوت ها در صفات ظاهری تجلی می‌یابند که به آن‌ها نشانگرهای مورفولوژیک[۵]می‌گویند. بعضی از تفاوت‌ها در سطح مولکولی به دو صورت ظاهرمی‌شوند یا به صورت پروتئین‌های با اندازه‌های مختلف تجلی می‌یابند که آن‌ها را نشانگرهای مولکولی در سطح پروتئین می‌نامند. اما دسته دیگری از تفاوت‌های موجود در سطح DNA هیچ تظاهر ظاهری ندارند، یعنی صفت خاصی را کنترل نمی‌کنند، همچنین ردیف اسیدهای آمینه پروتئین‌ها را نیز متاثر نمی‌نمایند. اینگونه تفاوت‌ها تنها از طریق تجزیه و تحلیل مستقیم DNA قابل بررسی هستند و به آن‌ها نشانگرهای مولکولی[۶]در سطح DNA گفته می‌شود. (موسوی زاده،۱۳۹۸)

نشانگرهای مورفولوژیک

در بین انواع مختلف نشانگر های ژنتیکی، نشانگر های مورفولوژیک ساده ترین نوع بوده و از اوایل قرن بیستم مورد استفاده قرار می‌گرفتند. این نوع نشانگرها دارای محدودیت‌های از قبیل تاثیر پذیری از شرایط محیطی، تظاهر وابسته به سن و مرحله رشدی موجود، تعداد کم و عدم مشخص بودن ماهیت ژنتیکی می‌باشند که به این دلایل از این نوع نشانگرها در مطالعات کمتر استفاده می‌شود . (منوچهری،۱۳۹۶)

-نشانگرهای مولکولی

توسعه و استفاده از نشانگرهای مولکولی برای تشخیص و توضیح چند شـــکلی DNA، یکی از پیشرفت‌های بزرگ در زمینه ژنتیک مولکولی است. در حال حاظر چندین نوع از نشانگرهای مولکولی وجود دارند و با وجود تفاوت در اصول و مبانی، روش شناسی و کاربردهایشان بایستی توجه دقیقی به منظور انتخاب یک یا تعداد بیشتری از این روش‌ها نمود.

ولسن و ساکس برای اولین بار در سال ۱۹۳۲ ایده استفاده از نشانگرهای مولکولی را مطرح ساختند. این نشانگر ها در گروه‌های مختلفی بر اساس موارد زیر طبقه بندی می شوند: نحوه وراثت (وراثت هسته ای دو والدی، وراثت هسته ای مادری، وراثت مادری اندامک یا وراثت پدری)، نحوه عمل ژن (بارز و یا هم بارز)، روش آنالیز (بر اساس هیبریداسیون یا تکنیک PCR). (یادگاریان ، ۱۳۹۲).

الف-نشانگرهای بیوشیمیایی[۷]

نشانگر های بیوشیمیایی، پروتئین‌هایی هستند که نتیجه بیان ژن می‌باشند. این پروتئین ها از طریق الکتروفورز و رنگ آمیزی قابل جداسازی و تشخیص می‌باشند. آیزوزایم‌ها معمولی ترین نوع نشانگرهای بیوشیمیایی هستند که از دهه ۱۹۵۰تا کنون مورد استفاده قرار می‌گیرند. ایزوزیم‌ها تا کنون در بررسی تنوع ژنتیکی و طبقه بندی گیاهان به طور گسترده‌ای مورد استفاده

۱- Genetic Marker

۲-Morphological marker

۳-Molecular marker

۱-Biochemical marker

قرار گرفته‌اند. ایزوزیم‌ها، تغییرات پلی پپتیدها رامنطبق بر آلل‌های متفاوت در یک مکان ژنی نشان می‌دهند. از مزایایی این دسته از نشانگرها می‌توان به هزینه پایین و سرعت بالای آنها اشاره نمود. از معایب این نوع نشانگرها نیز می‌توان به محدود بودن تعداد آن‌ها، تحت تاثیر قرار گرفتن توسط تغییرات پس ازترجمه و مرحله رشدی گیاه اشاره کرد. همچنین در این تکنیک با بررسی یک مکان ژنی فقط بخش کوچکی از تغییرات ژنتیکی واقعی منعکس می شود. (همتی، ف.، و بندیکتوس، پ.۱۳۹۹)

ب-نشانگر های DNA

گیاهان در چندین سال گذشته بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی، ترکیبـــات شیمیایی و سیتوژنتیکی طبقه بندی شده اند. این خصوصیات سهم بزرگی در طبقه بندی گونه‌های گیاهی ایفا می‌نمایند. هر چند این روش‌ها دارای محدودیت‌های از جمله اینکه تحت تاثیر محیط و مراحل نموی گیاه قرار می‌گیرند هستند. در حال حاظر نشانگرهای DNA به طور قابل توجهی در طبقه بندی و اصلاح گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. بررسی خصوصیات فیلوژنی توسط روش‌های مرسوم اصلاحی مشکل می باشد لـــذا استفاده از نشانگرهایDNA در این زمینه بسیار کمک کننده است. نشانگر های وابسته به DNA را می توان به دو دسته کلی غیر مبتنی بر PCR[۲]و مبتنی بر PCR تقسیم کرد.

۱-نشانگرهای غیر مبتنی بر PCR

این دسته از نشانگرهای DNA بدون استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز ایجاد می‌شوند. سر گروه این دسته از نشانگرها تفاوت طول قطعات حاصل از هضم توسط آنزیم‌های برشیRFLP[۳] می‌باشد. RFLP برای اولین بار در ۱۹۷۵ برای شناسایی چند شکلی DNA به منظور نقشه نگاری ژنتیکی یک سروتیپ جهش یافته حساس به دما مورد استفاده قرار گرفت. پس از آن برای نقشه نگاری ژنوم انسان و بعدها به منظور نقشه نگاری ژنوم گیاهان مورد استفاده قرار گرفت. در بین نشانگرهای مولکولی مختلف، اولین بار وبر و هلن تجاریز (۱۹۸۹) برای نقشه یابی ژنوم گیاهی از این روش استفاده کردند. در این روش DNA به وسیله آنزیم‌های محدود کننده که توالی‌های خاصی را در آن تشخیص می دهند هضم می‌شود. DNA بریده شده بر روی ژل آگارز الکترفورز می شود تا قطعات بریده شده بر اساس اندازه از یکدیگر جدا شوند. سپس قطعات تفکیک یافتـه بر روی ژل آگارز به غشـا منتقل و توسط کاوشگرهای خاصی نشانه گذاری می‌شوند. انگشت نگاری به عنوان نتیجه ای از قطعات چند شکل است که به وسیله کاوشگر به کار برده شده شناسایی می‌شوند. عیب اصلی این تکنیک این است که مقادیر زیادی DNA لازم دارد و به کار بردن تعداد زیاد نمونه را مشکل می‌سازد. به علاوه در این نشانگر فقط یک یا تعداد کمی مکان ژنی ردیابی می‌شود. (موسوی فضل، ۱۳۹۵)

۲- نشانگرهای DNAمبتنی بر PCR

انواع متفاوتی از نشانگرها در این دسته وجود دارند که در این جا به اختصار AFLP و RAPD توضیح داده می‌شوند سپس ریز ماهواره ها و نشانگر ISSR به تفضیل معرفی می‌گردند. نشانگر های DNA مبتنی بر PCR برای کاربرد در زمینه اصلاح مولکولی مناسبـتر می‌باشـــند چـــون دارای روش کـــار ساده و تغییر پذیری آسان می باشند.

RAPD[۱۰]

۲- Polymerase chain reaction

۳- Restriction Fragment Length

۱-Random Amplified Polymophic DNA

روش‌هایی که در آنها از آغازگرهای اختیاری استفاده می‌شود، در مجموع با عنوان نیمرخ ردیف‌های قابل تکثیر اختیاری چند گانه (MAAP)نامیده می‌شوند. تکنیک RAPD یکی از سه روش پایه‌ای است که در آن از آغازگرهای اختیاری برای تکثیر قطعه‌هایDNA الگو استفاده می‌شود. دو روش دیگر، PCR آغازگر اختیاری (AP-PCR)[۲]و انگشت نگاری با DNA تکثیر شده(DAF)[۳]نامیده می‌شوند که این روش‌ها از نظر طول آغازگر، شرایط PCR و روش آشکار سازی قطعات DNA تا حدودی باتکنیک RAPD متفاوتند. ویلیامز و همکاران (۱۹۹۰) برای اولین بار این نشانگر را توسعه دادند. این نشانگر مبتنی بر استفاده از یک آغازگر تصادفی و کوتاه می‌باشد که بخش‌های تصادفی را در ژنوم تکثیر می‌نماید. از جمله مزایای این نشانگر می توان به استفاده از آغازگر های جهانی و نیاز به مقدار کمی DNA اشاره کرد. همچنین آزمایش به راحتی و با هزینه کم انجام می‌گیرد. اما از معایب آن می توان به عدم تکرارپذیری نتایج اشاره کرد. چندین فاکتور این تکرارپذیری را تحت تاثیر قرار می‌دهند که عبارتند ازغلظت DNA، تکرارپذیری پروفایل ترموسایکلر، کیفیت آغازگر و غلظت آن و مورد دیگر هم DNA پلیمراز می باشد. همچنین از دیگر محدودیت‌های آن می توان به انحراف از استثنائات وراثت مندلی (این امر می تواند از ارتباطات پلی ژنیک، باندهای ارگانلی، تغییرات غیر ژنتیکی و تصادفی نتیجه شود) و مشکل دسترسی به همولوژی را نام برد. (موسوی زاده،۱۳۸۹)

AFLP [۴]

زابوو همکاران (۱۹۹۳) این تکنیک را معرفی کردند. ووس و همکاران در ۱۹۹۵ برای اولین از این نشانگر استفاده کردند. در این روش، DNA ابتدا توسط آنزیم‌های برشی هضم می‌شود. تکثیر قطعات برش یافته توسط سازشگر الیگونوکلئوتید با تعداد کمی باز صورت می‌گیرد. در این روش تعداد زیادی باند ایجاد که تشخیص چند شکلی را تسهیل می‌کند. تنوع در تعداد قطعات DNA که تکثیر می‌شوند می‌تواند در نتیجه انتخاب تعداد باز و ترکیب نوکلئوتیدی متفاوت در کاوشگر ایجاد شود. تکرار پذیری بالا، تولید سریع و چند شکلی بالا این نشانگر را مناسب برای تشخیص چند شکلی و تعیین پیوستگی برای آنالیز افراد در یک جمعیت در حال تفرق می‌سازد. (میرشکاری و مبشر، ۱۳۹۴)

نشانگر ISSR [۵]

این روش شامل تکثیر قطعات DNA موجود در فواصل قابل تکثیر بین دو ناحیه تکراری ریز ماهواره‌ای است که در جهت مخالف هم قرار گرفته‌اند. در این تکنیک از ریز ماهواره‌ها به عنوان آغازگر استفاده می‌شود که مکان های مختلفی از ژنوم را مورد هدف قرار داده و نواحی بین توالی های تکراری ساده را در اندازه‌های مختلف تکثیر می‌کند. تکرار های ریز ماهواره ای که به عنوان آغازگر استفاده می‌شوند می‌توانند دی، تری ، تترا یا پنتا نوکلئوتیدی باشند. آغاز گر ها بدون لنگر یا معمولا" لنگری را در انتهای ۵′ و یا ۳′ از یک تا چهار جفت باز دارا هستند. محصولات PCR در ISSR بین ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز طول دارند و قابل جداسازی توسط الکتروفورز با ژل اکریل آمید یا ژل آگارز می‌باشند. تکنیک ISSR ساده و سریع است و تکرارپذیری و چند شکلی بالایی دارد. (یادگاریان حاجی آبادی، ۱۳۹۲)

۲-Multiple Arbitrary Amplicon Pofiling

۳-Arbitrary Primer PCR

۴-DNA Amplified Fingerprinting

۵-Amplified Fragment Lentgth Polymorphism

۶-Inter Simple Sequence Repeat

توالی های تکرار شونده

ژنوم موجودات عالی شامل سه نوع کپی از توالی‌های تکراری ساده می‌باشند.

۱- ماهواره‌ها؛[۱۶]بخش‌های تکراری بزرگتر از ۱۰۰ نوکلئوتید هستند که مجموعه‌هایی به طول $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۳}$ نوکلئوتید ایجاد می‌کنند. ماهواره ها در مناطق هتروکروماتینی نزدیک سانترومرها و تلومرهای کروموزومی قرار گرفته‌اند و اندازه آن‌ها در بین جمعیت‌ها و افراد داخل یک جمعیت تغییری نمی‌کند.

۲- ماهوارک‌ها؛[۱۷]به بخش‌های تکراری متوسط از ۱۰۰-۱۰ (معمولا"۱۵-۱۰) نوکلئوتید اطلاق می‌شود که مجموعه‌هایی را به طول $۱۰^{۵}$-$۱۰^{۲}$ نوکلئوتید تشکیل می‌دهد. ماهوارک ها در مناطق یوکروماتین ژنوم دیده می‌شوند و از نظر اندازه بشدت در بین افراد یک جمعیت متغییـر می‌باشند.

۴- ریزماهواره‌ها؛[۱۸]بخش های کوچک تکراری دو تا شش نوکلئوتیدی می‌باشند کـــه در مجموعه هایی به طول تقریبی کمتر از ۱۰۰ نوکلئوتید سازمان یافته‌اند.

مقایسه انواع مختلف نشانگر های DNA

در حال حاظر انواع متفاوتی از نشانگر های DNA به منظور تجزیه و تحلیل ژنتیکی در دسترس هستند. نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA از لحاظ جنبه‌های حجم کار و هزینه اولیه در ساخت سیستم نشانگر، هزینه و آسانی اجرای کار، میزان چند شکلی، ماهیت توارث، تعداد آلل‌های تجزیه شده در هر ارزیابی، تکرار پذیری و توزیع آن در سطح کروموزوم‌ها تفاوت دارند. در جدول زیر چند نشانگر مهم از لحاظ برخی خصوصیات با یکدیگر مقایسه شده اند. در این نشانگرها ارزیابی چند شکلی در سطح DNA بر پایه ی الگوی برشی و یا تفاوت در طول قطعات تکثیر شده استوار است. به منظور گزینش مناسب لازم است نشانگرهای مختلف از نظر سهولت انجام، قابلیت تکثیر، سرعت ارزیابی و هزینه مورد نیاز مورد مقایسه واقع شوند. از طرف دیگر بسته به هدف مطالعه از جمله ارزیابی تکامل، مطالعه ژنتیک جمعیت، نقشه یابی ژنتیکی، انگشت نگاری DNA و سطح پلوئیدی گونه مورد نظر و سیستم تولید مثل انتخاب نشانگر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. (موسوی زاده،۱۳۸۹)

جدول۱ مقایسه نشانگر های مولکولی مختلف.

	ISSR	RFLP	RAPD	SSR	AFLP
اصول	تکثیر DNA در فاصله بین دو ناحیه تکراری ریز ماهواره	هضم آنزیمی لکه گذاری ساترن هیبریداسیون	تکثیر DNA با آغازگرهای تصادفی	تکثیر توالی‌های ساده تکراری با آغازگرهای اختصاصی	هضم آنزیمی الحاق آداپتور آغازگرهای انتخابی
عامل ایجاد کننده چند شکلی	حذف شدگی، الحاق، تغییر در طول و تعداد توالی های تکراری	حذف شدگی، الحاق، تغییر در توالی‌های منفرد	حذف شدگی، الحاق، تغییر در توالی‌های منفرد	تغییر در تعداد توالی‌های تکراری	حذف شدگی، الحاق، تغییر در توالی‌های منفرد
توارث	غالب/هم بارز	هم‌بارز	غالب	هم‌بارز	غالب

۱ -Satellite

۲-Minisatellite

۳-Microsatellite

میزان چند شکلی	زیاد/ متوسط	زیاد	متوسط	خیلی زیاد	زیاد
مقدار DNA مورد نیاز	۵۰-۱۰ng	۱۵-۲gµ	۵۰-۱۰ng	۵۰ng	۰/۱-۵gµ
هزینه	کم	متوسط	کم	زیاد در مرحله اولیه	زیاد
تکرار پذیری	زیاد/متوسط	زیاد	کم	زیاد	زیاد
سختی کار	کم	متوسط	کم	کم	متوسط

نشانگر SSR

بهینه سازی شرایط واکنش PCR برای جفت آغازگر های SSR

طی مراحل بهینه سازی شرایط واکنش از ۱۵ جفت آغازگر بررسی شده، ۱۴ جفت آغازگر که قادر به انجام تکثیر مناسب بودند، انتخاب شدند. آغازگری که در این مرحله حذف شد ۲۵ AMS بود که در نتیجه افزایش غلظت MgCl2 و کاهش دمای اتصال باندی ضعیف را در محدوده ۵۰۰bp تکثیر می‌کرد در حالی که طراحان این جفت آغازگر باندی در حدود ۲۳۵bp را برای آن گزارش کرده‌اند. از آنجایی که به نظر می‌رسد که این چنین باندی واقعی نباشد لذا از ادامه این کار با این آغازگر صرفنظر شد. (موسوی زاده،۱۳۹۸)

الکترفورز محصول PCR روی ژل پلی اکریل آمید

به منظور مشاهده و تفکیک باند های DNA، محصولات تولید شده در PCR در ژل های پلی اکریل آمید واسرشته و غیر واسرشته الکترفورز شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که الگوی باند ها بر روی ژل اکریل آمید غیر واسرشته وضوح بیشتری دارد. سپس ژل غیر واسرشته در غلظت های مختلف ۶ درصد تا ۱۶ درصد آزمون شد و در نهایت مشخص شد که ژل های غیر واسرشته ۱۲ درصد مناسب‌تر می‌باشند. الکتروفورز محصولات PCR با چندین ولتاژ مختلف نیز نشان داد که با افزایش ولتاژ وضوح باند ها کمتر و حالت کشیدگی در ژل مشاهده می‌گردد، لذا ولتاژ ۲۰۰ که مناسب ترین حالت را ایجاد می‌کرد در مراحل بعدی به کار برده شد. (میرشکاری و مبشر، م.۱۳۹۴)

-نتایج حاصل از استفاده از نشانگر های SSR

در این بررسی از ۱۴ جفت آغازگر، ۱۲ جفت آغازگر چند شکلی نشان دادند. جفت آغازگر۰۴ AMS و جفت آغازگر۰۷ AMS فاقد چند شکلی در بین توده های بومی و ارقام خارجی بودند. به سبب این که تعیین اندازه دقیق آلل ها ممکن نبود، آلل های تولید شده برای هر مکان ریز ماهواره ای با حروف لاتین (A, B, ...) نامگذاری شدند. همچنین جفت آغازگر هایی که دو مکان متفاوت را به طور همزمان تکثیر می‌نمودند، به صورت دو مکان مجزا امتیازدهی شدند. از ۱۲ جفت آغازگر مورد استفاده در این پژوهش، ۱۱ جفت آغازگر تکثیر تک لوکوسی داشتند و تنها جفت آغازگر AMS۲۲ دو مکان ژنی متفاوت را به طور همزمان تکثیر کرد. این نتایج با یافته‌های قبلی مطابقت نداشت به صورتی که طراحان این جفت آغازگرها فقط یک مکان ژنی ریز ماهواره ای را برای جفت آغازگر AMS۲۲ تشخیص دادند، ولی برای جفت آغازگر۰۷ AMS تکثیر را در دو مکان ژنی گزارش کردند در حالی که در این پژوهش تنها تکثیر در یک مکان ژنی دیده شد . تعداد آلل های تکثیر مشاهده شده در

مکان‌های ژنی مختلف از دو آلل (AMS ۰۷ و AMS ۰۴ وAMS۰۶) تا شش آلل (AMS ۲۳) متغیر بود. در کل تعداد ۴۴ آلل چند شکل مشاهده شد که متوسط تعداد آلل به ازای هر مکان ۳/۳ ارزیابی شد. (موسوی زاده،۱۳۸۹)

تعداد آلل تکثیر شده در هر مکان ژنی تاثیر مستقیمی بر میزان هتروزیگوسیتی، فراوانی ژنوتیپی و محتوی اطلاعات چند شکلی آن ریزماهواره دارد. با افزایش تعداد آلل تکثیر شده در یک مکان میزان اطلاع رسانی آن مکان برای تعیین تنوع افزایش می‌یابد . نتایج بدست آمده از هر مکان ژنی ریز ماهواره ای در جدول آمده است.

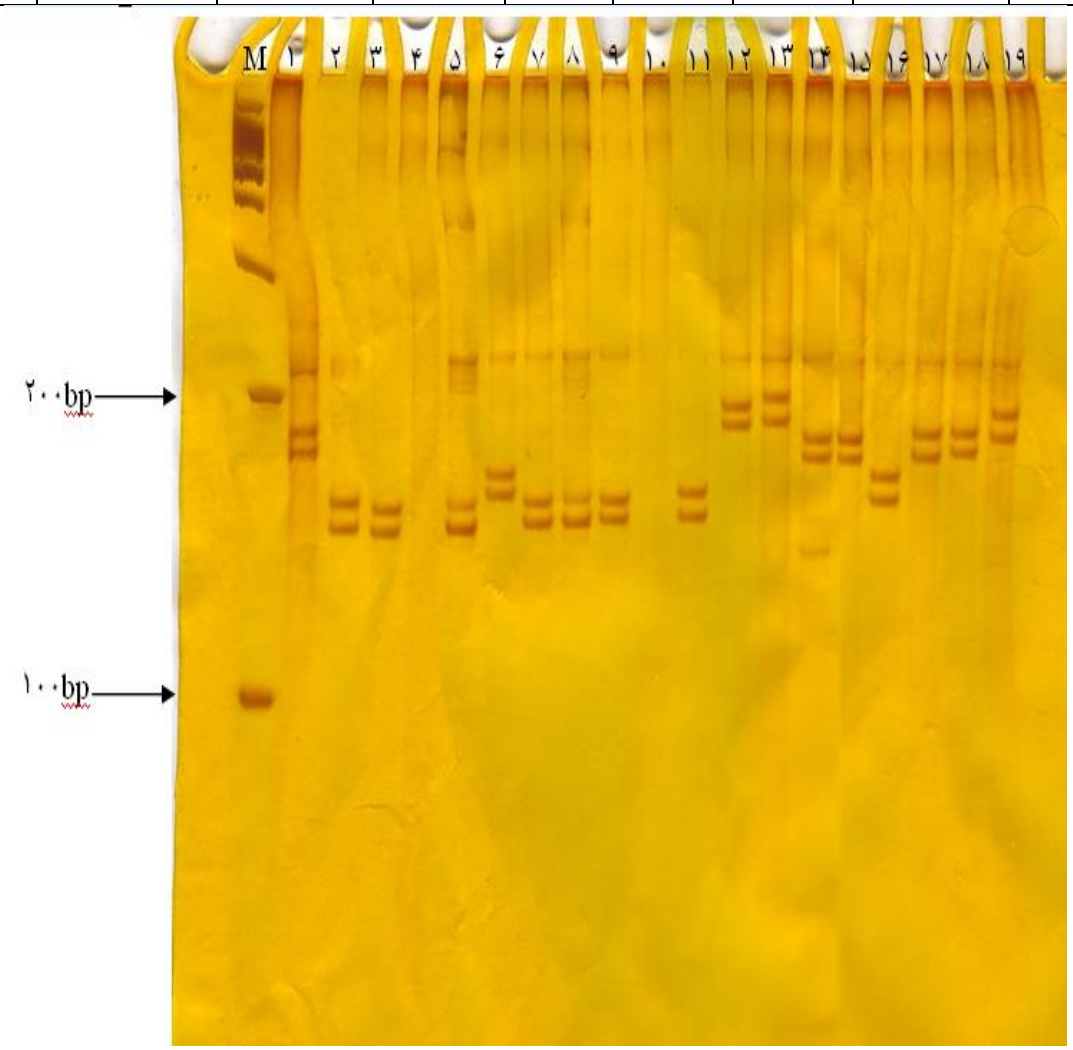
هتروزیگوسیتی (H) تنوع ژنتیکی یک جمعیت را با توجه به هر مکان ژنی نشان می‌دهد. در این مطالعه میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۷۵۹۷ تخمین زده شد. پیاز گیاهی دگرگرده افشان می‌باشد، لذا این نسبت زیاد هتروزیگوسیتی در آن طبیعی به نظر می‌رسد. نتایج هتروزیگوسیتی را نمی توان دقیقا" با دیگر مطالعات انجام شده مقایسه کرد، زیرا تعداد واریته ها، مکان های ژنی ریز ماهواره ای آنالیز شده و روش بررسی نتایج متفاوت است. از جمله تحقیقات قابل مقایسه می توان به استفاده از ۱۵ جفت آغازگر مورد استفاده در این تحقیق در مطالعه ۸۳ ژنوتیپ پیاز اشاره کرد. میانگین هتروزیگوسیتی بدست آمده در آن تحقیق ۰/۸ بود که مربوط به ژنوتیپ های متعلق به گونه های مختلف جنس *Allium* جمع آوری شده از نواحی مختلف جهان بود، لذا وجود هتروزیگوسیتی نسبتا" مشابه در این دو تحقیق می تواند به تنوع قابل ملاحظه در توده های بومی ایران اشاره داشته باشد. (منوچهری،۱۳۹۶)

PIC ارزشی است که در مطالعات ژنتیکی استفاده می‌شود و چند شکلی را برای هر مکان ژنی ریز ماهواره ای نشان می دهد. PIC در ریز ماهواره های دی نوکلئو تیدی با افزایش در تعداد تکرار افزایش می یابد. میزان این شاخص از صفر برای ۱۰ یا تعداد کمتر تکرار تا ۰/۸ برای ۲۴ یا تعداد بیشتر تکرار می تواند متغیر باشد. در این تحقیق میانگین PIC بدست آمده ۰/۵۲ بود. بیشترین PIC مربوط به AMS۲۳ (با ۶ آلل) ارزیابی شد (۰/۷۶) و کمترین PIC در نشانگر AMS۰۶ (دو آلل) دیده شد(۰/۲۰).

جدول ۲ محاسبات مربوط به آنالیز ژنوتیپ های مطالعه شده با استفاده از جفت آغازگر های SSR

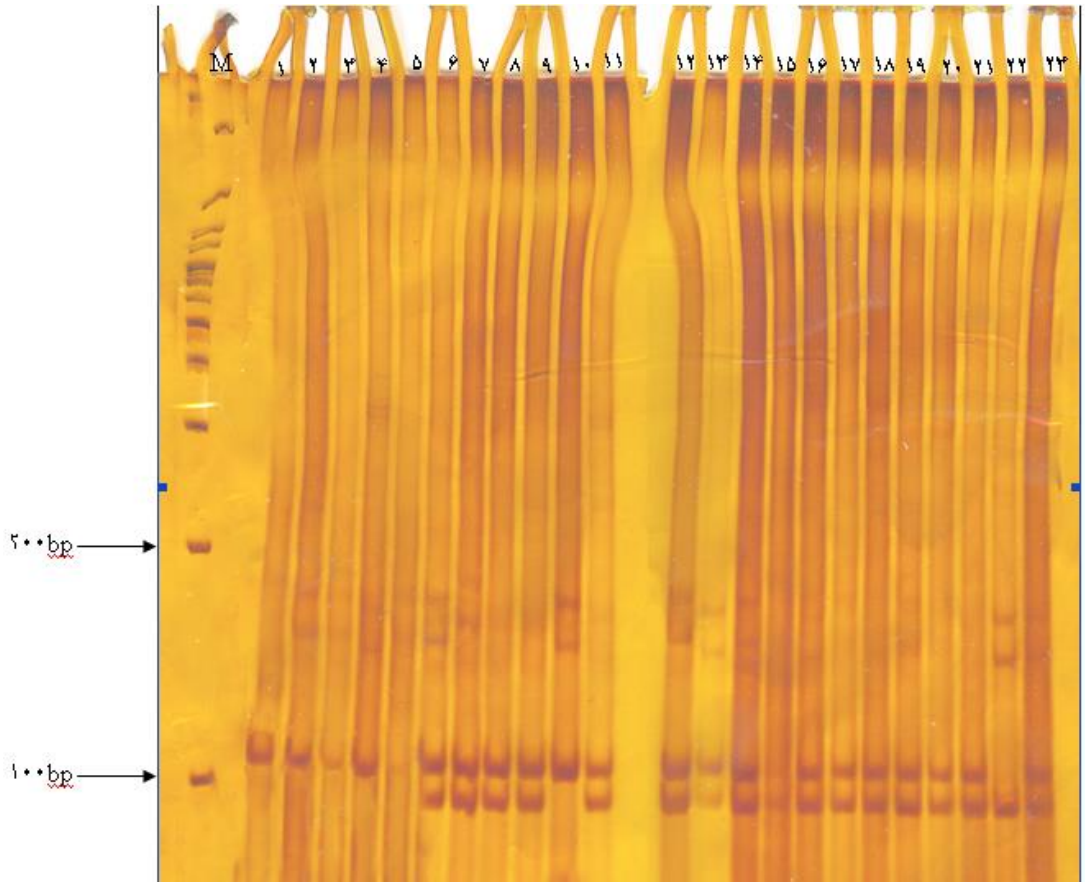
شماره	جفت آغازگر	فراوانی آلل حداکثر	تعداد ژنوتیپ	تعداد نمونه	تعداد مشاهده	تعداد آلل	درصد داده ها	تنوع ژنی	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	PIC
۱	AMS۰۶	۰/۸۶۸۷	۲	۹۹	۹۹	۲	۱	۰/۲۲۸۱	۰/۲۶۲۶	۰/۲۰۲۱
۲	AMS۰۸	۰/۵۶۵۷	۳	۹۹	۹۹	۲	۱	۰/۴۹۱۴	۰/۱۲۱۲	۰/۳۷۰۷
۳	AMS۱۰	۰/۵۰۵۱	۳	۹۹	۹۹	۲	۱	۰/۴۹۹۹	۰/۹۴۹۵	۰/۳۷۵۰
۴	AMS۱۲	۰/۳۶۸۷	۵	۹۹	۹۹	۳	۱	۰/۶۶۱۱	۰/۶۸۶۹	۰/۵۸۶۸
۵	AMS۱۳	۰/۳۵۳۵	۶	۹۹	۹۹	۴	۱	۰/۷۳۱۱	۰/۹۸۹۹	۰/۶۸۲۲
۶	AMS۱۴	۰/۳۹۳۹	۱۰	۹۹	۹۹	۵	۱	۰/۷۴۱۶	۰/۹۷۹۸	۰/۷۰۲۴
۷	AMS۱۶	۰/۴۳۴۳	۵	۹۹	۹۹	۴	۱	۰/۶۴۶۷	۱/۰۰۰۰	۰/۵۷۸۴
۸	AMS۲۲ (۱)	۰/۵۲۰۲	۲	۹۹	۹۹	۲	۱	۰/۴۹۹۲	۰/۹۵۹۶	۰/۳۷۴۶
۹	AMS۲۲ (۲)	۰/۵۳۵۴	۳	۹۹	۹۹	۲	۱	۰/۴۹۷۵	۰/۸۶۸۷	۰/۳۷۳۷
۱۰	AMS۲۳	۰/۳۰۸۱	۱۱	۹۹	۹۹	۶	۱	۰/۷۹۶۳	۰/۶۱۶۲	۰/۷۶۷۰

۱۱	AMS۲۶	۰/۴۰۵۳	۶	۹۹	۹۵	۳	۰/۹۵۹۶	۰/۶۵۳۹	۰/۶۹۴۷	۰/۵۷۹۴
۱۲	AMS۲۹	۰/۴۷۹۸	۹	۹۹	۹۹	۴	۱	۰/۶۵۹۱	۰/۷۶۷۷	۰/۶۰۲۷
۱۳	AMS۳۰	۰/۳۳۸۴	۶	۹۹	۹۹	۴	۱	۰/۷۳۷۰	۰/۹۷۹۸	۰/۶۸۸۸
۱۴	میانگین	۰/۴۶۷۵	۵/۴۶۱۵	۹۹	/۶۹۲۳ ۹۸	۳/۳۰۷۷	۰/۹۵۶۹	۰/۶۰۳۳	۰/۷۵۹۷	۰/۵۲۹۵



شکل فوق- الگو تکثیر DNA در برخی از توده های بومی پیاز با استفاده از جفت آغازگر AMS۲۳

M: نشانگر اندازه ۱۰۰، ۱-سفید کاشان۱، ۲- سفید کاشان۲، ۳-سفید کاشان۳، ۴-سفید کاشان۴، ۵- سفید کاشان ۶،۵-کزبیر زنجان۱، ۷- کزبیر زنجان۲، ۸-کزبیر زنجان ۳، ۹- کزبیر زنجان۴، ۱۰- کزبیر زنجان۵، ۱۱- قرمز محلی کازرون۱، ۱۲- قرمز محلی کازرون۲، ۱۳-قرمز محلی کازرون۳، ۱۴- قرمز محلی کازرون۴، ۱۵- قرمز محلی کازرون۵، ۱۶-سفید ابرکوه۱، ۱۷- سفید ابرکوه۲، ۱۸- سفید ابرکوه۳، ۴- سفید ابرکوه۴.



شکل فوق الگو تکثیر DNA در توده های بومی و رقـــم خارجـی پیـــاز با اســـتفاده از جفـــت آغازگر۰۶ AMS

M: نشانگر اندازه ۱۰۰، ۱-درچه اصفهان۲،۱- درچه اصفهان۲، ۳-درچه اصفهان۳، ۴- درچه اصفهان۴، ۵- درچه اصفهان۵، ۶- محلی طارم۱، ۷- محلی طارم۲، ۸- محلی طارم۳، ۹- محلی طارم۴، ۱۰-محلی طارم۵، ۱۱- سفید گرگان۱، ۱۲- سفید گرگان۲، ۱۳- سفید گرگان۳، ۱۴- سفید گرگان۴، ۱۵-سفید گرگان۵، ۱۶- یلو سوئیت اسپانیش۱، ۱۷-یلوسوئیت اسپانیش۲، ۱۸- یلوسوئیت اسپانیش۳، ۱۹-یلوسوئیت اسپانیش۴، ۲۰- یلوسوئیت اسپانیش۵، ۲۱- هوراند۱، ۲۲- هوراند۲، ۲۳- هوراند۳.

طی واکنش PCR، برخی از جفت آغازگر ها مانند AMS ۱۲ و AMS۳۰ باندهای اضافی و الگوهای استاتر تولید نمودند. چنین پدیده ای بی سابقه نمی‌باشد و در مورد تکرار های دی و تترا نوکلئو تیدی مشاهده شده است. به دلیل آنکه تکرار های دی نوکلئو تیدی فراوان تر و بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند این مشکل در مورد این تکرار ها بیشتر گزارش شده است. حضور الگو های استاتر و باند های اضافی تفسیر باند اصلی را مشکل می کند به خصوص موقعی که دو باند خیلی به هم نزدیک باشند. غالب باند های استاتر در تکرار های دو نوکلئو تیدی با فاصله دو باز کمتر از باند اصلی می باشند ولی باند های استاتر با چهار و شش باز کوچکتر از باند اصلی نیز در مواردی قابل مشاهده می باشند. پدیده سر خوردن DNA پلیمراز در هنگام همانند سازی دلیل اصلی برای این چنین باندی گزارش شده است. همچنین گزارش شده که وقتی توالی نگاره مرکزی طولانی تر باشد احتمال ایجاد چنین باند های بیشتر می شود.

در جدول ۴-۲ میانگین تنوع ژنتیکی درون توده ها و ارقام خارجی همراه با تعداد کل نوارهای چند شکل آورده شده است. تنوع ژنتیکی درون توده ها و ارقام خارجی از صفر تا ۰/۵ برآورد گردید. بیشترین میانگین تنوع در توده بومی سفید گرگان مشاهده شد (۰/۲۸) و این مقدار در رقم یلو سوئیت اسپانیش حداقل بود (۰/۱۲). همانطور که در جدول مشاهده می شود تعداد کل نوارهای چند شکل با میانگین تنوع ژنتیکی ارتباط معنی داری دارد، یعنی هر چه تعداد نوارهای چند شکل بیشتر می شود، میانگین تنوع ژنتیکی نیز افزایش می یابد.

جدول ۳میانگین تنوع ژنتیکی و تعداد کل نوار های جند شکل درون توده های بومی و ارقام خارجی بر اساس ۴۴ نشانگر SSR

رقم	میانگین تنوع ژنتیکی	تعداد کل نوارهای چند شکل
سفید کمره خمین	۰/۲۷	۲۰
قرمز کمره خمین	۰/۲۶	۲۳
سفید قم	۰/۲۳	۲۰
سفید کاشان	۰/۱۸	۱۵
قرمز آذرشهر	۰/۲۵	۲۱
درچه اصفهان	۰/۲۰	۲۱
سفید ساری	۰/۲۴	۲۲
محلی طارم	۰/۲۶	۲۳
کزبیر زنجان	۰/۲۴	۱۸
سفید گرگان	۰/۲۸	۲۴
قرمز محلی کازرون	۰/۱۴	۱۲
محلی کوار	۰/۲۰	۱۷
سفید ابرکوه	۰/۲۰	۱۷
هوراند	۰/۱۹	۱۷
محلی یاسوج	۰/۱۷	۱۳
کینوات زنجان	۰/۱۸	۱۵
مراغه	۰/۱۶	۱۶
محلی درگز	۰/۱۳	۱۲
یلوسوئیت اسپانیش	۰/۱۲	۱۱
هیبرید ها	۰/۱۹	۱۵

نتایج تجزیه واریانس مولکولی جدول (۳) نیز نشان داد که تنوع ژنتیکی بین و درون توده ها و ارقام خارجی پیاز معنی دار است. همچنین ۴۲/۵۹ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع بین توده ها و ارقام خارجی است و ۵۸/۰۹ درصد آن به تنوع درون

توده ها مربوط می باشد. فلاحتی و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی داده ها ی حاصل از نه نشانگر SSR روی شش جمعیت یونجه ایرانی نشان دادند که میانگین واریانس ژنتیکی بین جمعیت ها تنها ۲/۴ درصد بود. در حالی که ۹۷/۶ درصد از تنوع مربوط به درون جمعیت ها بود. بنابراین می توان گفت که در توده های بومی پیاز ایران تمایز جمعیتی بیشتری نسبت به دیگر گونه های درگز بارور که جریان ژنی آزادانه ای دارند، دیده می شود. تمایز جمعیتی بیشتر در توده های بومی پیاز ایران را می توان عمدتا" به گرده افشانی آنها توسط حشراتی که فواصل مهاجرتی کوتاهی دارند نسبت داد. البته مقدار نسبتا" کم تمایز درون جمعیتی در این مطالعه را می توان به خطای نمونه برداری به علت اندازه کوچک نمونه ها مربوط دانست.

جدول ۴ تجزیه واریانس مولکولی برای ۱۹ توده بومی و پنج رقم خارجی پیاز بر اساس ۴۴ نشانگر SSR

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات انحرافات	واریانس	درصد واریانس	سطح معنی دار
بین ارقام	۱۸	۳۳۸/۴۹۴	۲/۹۶۹۳۸	۴۲/۵۹	P<۰/۰۰۱
درون ارقام	۷۹	۳۱۹/۹۵۰	۴/۰۵۰۰۰	۵۸/۰۹	P<۰/۰۰۱

روابط ژنتیکی بین توده های بومی پیاز و ارقام خارجی با استفاده از نرم افزارPower Marker مطالعه شد. بر اساس دندوگرام های مختلف بدست آمده با این نرم افزار به واسطه انجام آزمون bootstrap، درخت فیلوژنی مورد توافق consensus با کمک نرو افزار MEGA3 رسم گردید(شکل ۴-۵). فاصله ژنتیکی(جدول ۴) بدست آمده از ۰/۰۲ تا ۰/۶۵ متغیر بود که نشان دهنده تنوع زیادی بین نمونه های مورد مطالعه می باشد.

دندوگرام حاصل (شکل ۴) توده های بومی پیاز و ارقام خارجی را در شش دسته و یک توده مستقل به شرح زیر قرار داد.

گروه ۱- پرایماورا، سفید جنوب، تگزاس گرانو، اگریاگو، محلی درگز

گروه ۲- یلو سوئیت اسپانیش، هوراند، محلی یاسوج، کینوات زنجان، مراغه

گروه ۳- محلی کوار، سفید ابر کوه

گروه ۴- سفید کاشان، سفید کمره خمین، قرمز کمره خمین، درچه اصفهان، سفید قم، قرمز آذرشهر

گروه ۵- سفید ساری، محلی طارم

گروه ۶- کزبیر زنجان، سفید گرگان، قرمز محلی کازرون

نگاه کلی به گروه بندی صورت گرفته با نشانگر های SSR، این نکته را نشان می دهد که توده های مربوط به مناطق شمال و شمال غرب کشور (استان های مازنداران، گلستان، آذربایجان شرقی و زنجان) تا حدودی در کنار هم قرار گرفته اند. اگر چه استثنائاتی در این میان دیده می‌شود که از آن جمله حضور توده محلی یاسوج در کنار توده های مربوط به شمال غرب و حضور توده قرمز آذرشهر در کنار توده های مربوط به مرکز کشور است. البته همانطور که مشاهده می‌شود توده های مربوط به یک منطقه کاملا" در یک گروه جداگانه قرار نگرفتند. این نتیجه گویای پیروی نکردن گوناگونی ژنتیکی از تنوع جغرافیایی

می‌باشد. گزارش های ضد و نقیضی در زمینه ارتباط تنوع ژنتیکی و پراکنش جغرافیایی وجود دارد. برادن و هاوی (۱۹۹۷)، دنیکوان و همکاران (۱۹۹۷) و موسوی زاده و همکاران (۱۳۸۵) با استفاده از نشانگر RAPD و فیشر و همکاران(۲۰۰۰) با استفاده از نشانگر SSR نبودن ارتباط میان تنوع ژنتیکی و پراکنش جغرافیایی را در پیاز گزارش کرده اند. اما کوتی و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از نشانگر RAPD در پیاز، فلاحتی و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از نشانگر SSR در یونجه پیروی کردن تنوع ژنتیکی را با پراکنش جغرافیایی تایید کرده اند. در این تحقیق تجزیه خوشه ای داده ها نتوانست توده های مورد بررسی را به خوبی از هم تفکیک نماید. از جمله دلایلی که می توان برای این امر ذکر کرد این است که احتمالا" توده های بومی از یک منطقه به منطقه دیگر برده شده و نام جدیدی بر آن گذاشته شده است. همچنین به دلیل طبیعت آزاد گرده افشان توده های پیاز اختلاط ژنتیکی این توده ها نیز می تواند رخ داده باشد. علاوه بر این تنوع در ریز ماهواره ها در نتیجه عواملی از جمله میزان بالای جهشی است که در آنها رخ می دهد در نتیجه نمی توان ارتباط و همبستگی پایداری با تغییرات کندی که در صفات تک ژنی یا چند ژنی از جمله شکل غده، رنگ پوست غده یا واکنش به طول روز انتظار داشت. با توجه به اینکه مطالعات تنوع ژنتیکی در رابطه با توده های بومی پیاز تنها در یک مورد با استفاده ازنشانگر RAPD صورت گرفته است لذا تفسیر نتایج این مطالعه را مشکل می سازد.

در گروه اول، چهار رقم خارجی پریماورا، سفید جنوب، اگریاگو و تگزاش گرانو همراه با توده محلی درگز کنار هم قرار گرفته اند. چهار رقم خارجی ذکر شده جزء پیاز های روز کوتاه می باشند و تنها رقم خارجی یلو سوئیت اسپانیش که جزء پیاز های روز بلند است در گروه دوم قرار گرفته است. در این گروه توده محلی در گز با فاصله نسبتا" زیاد ۰/۴۵ از این ارقام قرار گرفته است. شاید بتوان عنوان کرد که این توده رابطه ژنتیکی نزدیکی نسبت به این ارقام دارد. متاسفانه در بررسی های مورفولوژیکی که تا کنون بر روی توده های بومی پیاز ایران صورت گرفته است این توده مورد بررسی قرار نگرفته است و لذا اطلاعات مورفولوژیکی این توده موجود نمی باشد تا بتوان قرار گیری آن را در این دسته با اطلاعات بیشتری مورد بررسی قرار داد.

در گروه دوم توده های هوراند، کینوات زنجان و مراغه که مربوط به منطقه شمال غرب کشور می باشند در کنار هم قرار گرفته اند که گروه بندی آنها با هم با توجه به اینکه هر سه توده مربوط به یک منطقه می باشند منطقی به نظر می رسد. همچنین در این دسته رقم خارجی یلو سوئیت اسپانیش و توده محلی یاسوج نیز قرار گرفته اند. قرار گیری توده محلی یاسوج را در کنار توده های مربوط به منطقه شمال غرب با داشتن خصوصیاتی از قبیل رنگ پوست غده و محل تشکیل غده که بین آنها مشترک است می تواند توجیه نمود. همانطور که عنوان شد رقم خارجی یلو سوئیت اسپانیش جزء پیاز های روز بلند می باشد و قرار گیری آن در این گروه در کنار توده های مربوط به منطقه شمال غرب کشور که آنها نیازمند طول روز بلند برای غده دهی می باشند می تواند توجیه شود.

در گروه سوم توده محلی کوار و سفید ابرکوه که هر دو مربوط به منطقه مرکزی ایران (فارس و یزد) هستند کاملا" نزدیک به هم با فاصله بسیار کم ۰/۰۷ از یکدیگر قرار گرفته اند. این امر می تواند به رابطه ژنتیکی نزدیک این دو توده نسبت به یکدیگر اشاره داشته باشد.

توده های سفید کاشان، سفید کمره خمین، قرمز کمره خمین، درچه اصفهان، قرمز آذرشهر و سفید قم که همگی متعلق به منطقه مرکزی ایران هستند در گروه چهارم قرار گرفته اند. در اکثر مطالعاتی که در رابطه با بررسی های مورفولوژیکی صورت گرفته است حضور توده بومی درجه اصفهان در کنار قرمز آذرشهر دیده شده است. همچنین در تنها مطالعه انجام شده با استفاده از نشانگر RAPD در توده های بومی پیاز ایران نیز این دو توده در یک گروه قرار گرفتند . از آنجایی که در این

مطالعه نیز این دو توده در یک گروه قرار گرفتند این امر احتمالا" نشانگر نزدیکی ژنتیکی این دو توده علاوه بر ارتباط مورفولوژیکی می باشد. قرار گیری توده محلی طارم در کنار توده سفید ساری از این نظر که توده طارم سازگار با مناطق معتدل شمال کشور می باشد و همانند توده های این منطقه نیازمند طول روز بلند برای غده دهی می باشد منطقی به نظر می رسد.
دو توده سفید گرگان و کزبیر زنجان نیز با فاصله بسیار کم ۰/۱۳ در کنار هم قرار گرفته اند که می تواند نماینگر ارتباط ژنتیکی نزدیک این دو توده باشد. همچنین توده قرمز محلی کازرون نیز در این گروه قرار گرفته است که به نظر می رسد نیاز به بررسی های بیشتری در رابطه با قرار گیری این توده باید صورت گیرد. با توجه به قرار گیری دو توده سفید ساری و سفید گرگان در کنار دو توده کزبیر زنجان و محلی طارم که هر دو متعلق به استان زنجان می باشند به نظر می رسد که توده های این دو استان ارتباط ژنتیکی نزدیکی با هم داشته باشند.

نتیجه گیری کلی

ایران با نزدیکی به مراکز تنوع پیاز و کشت پیاز در نواحی مختلف کشور، از تنوع زیادی برای این محصول برخودار است. اکثرتوده های پیاز در نواحی مختلف کشور با اسامی محلی نام گذاری شده‌اند و علی رغم مطالعات مورفولوژیکی فراوانی که روی آنها صورت گرفته است، هنوز از روابط ژنتیکی آنها اطلاعات چندانی در دست نمی‌باشد. کسب اطلاعات کافی در این زمینه می تواند به مدیریت صحیح این منابع ژنتیکی ارزشمند به منظور بهره برداری از ژرم پلاسم موجود برای اهداف اصلاحی کمک نماید. اگر چه بررسی تنوع ژنتیکی توسط خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی می تواند ازرشمند باشد، ولی به دلیل محدودیت نشانگر های موفولوژیکی و بیوشیمایی اعتبار دسته بندی های انجام شده توسط این دو روش مورد تردید می باشد. به همین جهت در سالهای اخیر استفاده از روش های مولکولی برای تعیین مشخصات ژنتیکی ارقام پیاز مورد توجه قرار گرفته است. در ارزیابی تنوع ژنتیکی پیاز به طور وسیعی نشانگر های RAPD (۱۲, ۳۰, ۴۹, ۷۲, ۷۶, ۸۵) AFLP (۸۳) و اخیرا" SSR (۲۸) مورد استفاده قرار گرفته اند.
با توجه به اینکه در مورد توده های بومی پیاز ایران تنها با استفاده از نشانگر RAPD بررسی صورت گرفته است و از آنجایی که کارایی نشانگر های SSR و ISSR در مطالعات انجام شده بر روی پیاز و دیگر گیاهان توسط سایر پژوهشگران به اثبات رسیده بود از این دو نشانگر برای تامین اهداف این پژوهش، تعیین تنوع درون و بین توده های بومی و مقایسه آنها با ارقام خارجی، انتخاب گردیدند.
از دوازده جفت آغازگر SSR که چند شکلی نشان دادند، ۴۴ باند چند شکل حاصل شد. دندوگرام حاصل از داده های SSR تقریبا" توده ها و ارقام خارجی مطالعه شده را از هم تفکیک نمود. به علاوه تنوع الگو های باندی حاصل از SSR زمینه ژنتیکی بسیار متنوع توده های بومی پیاز ایران را اثبات نمود. همچنین تنوع ژنتیکی درون توده ها نیز مورد بررسی قرار گرفت و بیشترین تنوع در توده بومی سفید گرگان (۰/۲۸) مشاهده شد و این مقدار در رقم یلو سوئیت اسپانیش حداقل بود(۰/۱۲). نتایج تجزیه واریانس مولکولی نیز نشان داد که ۴۲/۵۹ درصد از کل تنوع مشاهده شده مربوط به تنوع بین توده و ارقام خارجی است و ۵۸/۹ درصد آن به تنوع درون آنها مربوط می شود.
چهارده جفت آغازگر ISSR به کار رفته ۱۶۹ باند چند شکل تولید نمودند اما با وجود چند شکلی بیشتر نسبت به نشانگر های SSR این نشانگر نتوانست به خوبی SSR ارقام مورد مطالعه را از هم تفکیک نماید. همچنین در نشانگر ISSR بیشترین میزان تنوع درون توده محلی طارم مشاهده شد و کمترین میانگین تنوع در هیبرید ها دیده شد. در بررسی نتایج حاصل از

تجزیه واریانس مولکولی نیز مشخص شد که ۳۹/۹۰ درصد از کل تنوع مربوط به تنوع بین توده ها و ارقام خارجی است و ۵۸/۳۶ درصد آن به تنوع درون آنها مربوط می شود.

در این تحقیق سعی شد که توده های مربوط به مناطق مختلف کشور انتخاب شوند تا وضیعت آنها نسبت به یکدیگر و همچنین تنوع درون آنها مورد بررسی قرار بگیرد. در این پژوهش در مجموع مشخص شد که توده های کینوات زنجان، مراغه و هوراند که هر سه متعلق به منطقه شمال غرب کشور می باشند رابطه ژنتیکی نزدیکی با یکدیگر دارند. همچنین دو توده قرمز آذرشهر و درچه اصفهان نیز رابطه ژنتیکی نزدیکی را نسبت به یکدیگر نشان دادند اگرچه این دو توده مربوط به دو منطقه متفاوت کشور می باشند. دو توده محلی کوار و سفید ابرکوه نیز در بررسی توسط دو نشانگر در کنار یکدیگر قرار گرفتند که این مساله می تواند به رابطه ژنتیکی نزدیک آنها با یکدیگر اشاره داشته باشد. همچنین همراهی دو توده سفید گرگان و کزبیر زنجان نیز می تواند نشانگر رابطه نزدیک این دو توده باشد. دو توده سفید قم و سفید کاشان که هر دو مربوط به منطقه مرکزی ایران می باشند در بررسی توسط نشانگر ISSR با فاصله بسیار کمی از یکدیگر قرار گرفتند، شاید بتوان عنوان کرد که این دو توده از منشاء یکسانی باشند و دو نام متفاوت بر آنها نهاده شده است. اطلاعات بدست آمده از ارتباط ژنتیکی بین این توده ها تا حدوی با نتایج مطالعات مورفولوژیکی و مولکولی صورت گرفته برای توده های بومی مطابقت دارد. لذا به نظر می رسد که آزمایشات تکمیلی مفصلی در این زمینه انجام گیرد تا بتوان گروه بندی توده های بومی ایران را با قطعیت بیشتری ارائه نمود.

- پیشنهاد ها

۱-به منظور بررسی کامل تر روابط تکاملی توده های بومی ایران تمامی توده ها از نقاط مختلف کشور جمع آوری شود و تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی آنها با استفاده از نشانگر های مولکولی توصیه شده در این تحقیق بررسی گردند.

۲-با توجه به اینکه خصوصیات مورفولوژیکی توده های بومی پیاز ایران مورد بررسی قرار گرفته است، نتایج حاصل از بررسی مورفولوژیکی با نتایج حاصل از نشانگر های مولکولی مبتنی بر قسمت های کد شوند ژنوم مانند EST-SSR مقایسه گردد.

۳-توصیه می شود که با توجه به نتایج بدست آمده توده های که دارای فاصله بیشتری نسبت به هم می باشند به منظور بررسی دقیق تر تنوع درون آنها از داخل هر توده حداقل ۱۰ فرد گرفته شود و مسئله اختلاف ژنتیکی درون این توده ها به صورت دقیق تری مورد بررسی قرار گیرد.

۴-برای تعیین موقعیت ژنتیکی پیاز های موجود در کشور و ارتباط فیلوژنتیکی آنها با ارقام خارجی بررسی دقیق تری صورت پذیرد.

۵-پیشنهاد می شود که به منظور تفکیک دقیق تر توده های بومی پیاز، آغازگر های SSR اختصاصی از این توده ها طراحی و مورد استفاده قرار گیرند.

منابع و ماخذ

۱. عظیمی ، محمود و همکاران بررسی تنوع ژنتیکی پیازهای بومی ایران نشریه علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) فصلنامه کشاورزی و منابع طبیعی علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) دانشگاه صنعتی اصفهان نشریه: سال:۱۳۸۵ | دوره:۱۶ | شماره:۱ صفحات :۲۶۵-۲۷۲

۲. منوچهری، ع.، و شیرزادی، غ.۱۳۹۶.پوسیدگی خاکستری پیاز.نشریه بیماریهای گیاهی جلد۴.شماره)۱:(۳۳-۲۴.

۳. موسوی زاده، س.ع.، مقدم، م.، تورچی،م.، محمدی، س.ا.و مسیحا، س.۱۳۸۴.تنوع مورفولوژیکی و ژنتیکی در توده های بومی پیاز ایران.خلاصه مقالات چهارمین کنگره علوم باغبانی ایران.مشهد:۲۵۴-۲۵۳.

۴. موسوی زاده، س.ع.۱۳۸۹.اثر میزان مصرف نیتروژن و فسفر بر صفات گلدهی و عملکرد بذر پیاز قرمز آذرشهر.گزارش نهایی.مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی.

۵. موسوی زاده، سید علی، تنوع ژنتیکی، همبستگی و تجزیه علیت در توده‌های بومی پیاز ایران مرکزتحقیقات وآموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی دوره ۳۳، شماره ۱ - شماره پیاپی ۱ خرداد ۱۳۹۸ صفحه ۲۹-۳۹

۶. موسوی فضل، س.م.ه.۱۳۹۵.بررسی اثرات مقادیر مختلف کودهای ازته و فسفره بر عملکرد پیاز اصلاح شده رامهرمز.خلاصه مقالات اولین کنگره علوم باغبانی ایران.کرج. صفحه۱۵۴.

۷. موسوی فضل، س.م.ه.۱۳۹۷.بررسی و تعیین بهترین تراکم بوته در پیاز رامهرمز. گزارش نهایی.مرکز تحقیقات کشاورزی خوزستان.۱۳صفحه.

۸. میرشکاری، ب.، و مبشر، م.۱۳۹۴.تعیین بهترین تاریخ تهیه خزانه و اندازه نشا برای پیاز قرمزآذرشهر.خلاصه مقالات چهارمین کنگره علوم باغبانی ایران.مشهد:۳۱۶-۳۱۵

۹. نوری مقدم، ر.، و حبیبی، ج.۱۳۹۷.بررسی حساسیت ارقام پیاز به تریپس.گزارش نهایی.موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.

۱۰. نوری مقدم، ر.۱۳۹۹.زراعت پیاز.انتشارات دفتر تولید برنامه های ترویجی و انتشارات فنی.

۱۱. همتی، ف.، و بندیکتوس، پ.۱۳۹۹.بررسی مقاومت توده های پیاز بانک ژن گیاهی ملی ایران به تریپس پیاز tabaciThrips. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاه پزشکی ایران.اصفهان.

۱۲. یادگاریان حاجی آبادی، ل.، حبیبی، ج.، حاجی رزاق، ن.، و ولیان، آ.۱۳۹۲.تعیین میزان باقیمانده و دوره کارنسسم دیازینون در پیاز و پیازچه.خلاصه مقالات سومین همایش ملی توسعه کاربرد مواد بیولوژیک و استفاده از کود و سم در کشاورزی.

۱۳. یوسفی، م.، و عباسیفر، ا.ر.۱۳۹۸.ارزیابی تحمل به تریپسLindeman Thrips tabac)(در ژنوتیپ پیاز اصلاح شده خمین و چند رقم رایج پیاز ایرانی.مجله به- نژادی نهال و بذر۱-۲۵(۴)۶۰۵-۶۲۲.

منابع لاتین

14. Abayomi, L.A., Terry, L.A., White, S.F. and Warner, P.J. 2006 .Development of a disposable pyruvate biosensor to determine pungency in onions (Allium cepa L.).Biosensors and Bioelectronics.۲۱۷۹–۲۱۷۶ ,۲۱.
15. Abbes, C., Parent, L.E., Karam, A. and Isfan, D. 1995. Effect of NH:NO ratios on growth and nitrogen uptake by onions. Plant and Soil 171, 289–296.
16. Abbey, L., Joyce, D.C., Aked, J., Smith, B. and Marshall, C. 2004 .Electronic nose evaluation of onion headspace volatiles and bulb quality as affected by nitrogen, sulphur and soil type. Annals of Applied Biology 145, 41–51.

مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری

دوره ۹، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۲۵۹-۲۳۹

Investigating the genetic diversity within and between native populations of onion

Niloufer Hashemi, Mohammad Mejard Soumea,

[1] *Master's degree, field of genetics, Azad University, Tehran East Branch, Iran.*

[2]*Ph.D. student of molecular genetics, Azad University, North Tehran Branch, Iran.*

Abstract

This research has been conducted with the aim of investigating the genetic diversity within and between native populations of onion. In order to extract DNA from onion leaf samples, the modified extraction method of Murray and Thomson (1980) was used. Different methods for extraction have been used in different articles, but this method requires less cost and time compared to other methods, which justifies its use for a large number of samples. First, DNA extraction was done using the aforementioned method. In general, the significant difference between populations in terms of many traits indicates the existence of genetic diversity in Iranian onion germplasm. The results of the cluster analysis of the stands for agricultural traits and the average yield of a single plant were similar and the 16 evaluated stands were placed in 4 different groups. Cluster analysis based on banding patterns found two different groups and did not match the results of cluster analysis for agricultural traits. By analyzing into principal components, the first two components explained 97.58% of the total variance of primary variables. Performance played the most important role in explaining the first component, followed by dry weight. In the second component, dry weight and onion diameter had the greatest effect. In general, analysis into principal components was also able to distinguish the groups resulting from cluster analysis for agricultural traits from each other. Each of the groups was superior to other groups in terms of some attributes.

Key words: genetic diversity, onion, native onions, yield, cluster analysis.