دانشگاه گنبدکاووس
نشریه "حفاظت زیست‌بوم گیاهان"
دوره هفتم، شماره پانزدهم
http://pec.gonbad.ac.ir

تنوع ژنتیکی گیاه بیابانی رمس (*Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss)، در رویشگاه‌های مختلف با استفاده از نشانگر ISSR (مطالعه موردی: استان یزد)

مهدیه تجملیان[1]، حمید سودائی زاده[2*]، کاظم صباغ[3]، اصغر مصلح آرانی[2]، محمدهادی راد[4] و محمدعلی حکیم زاده[2]

[1]دانشجوی دکتری بیابان‌زدائی، دانشکده‌ی منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد
[2]دانشیار، دانشکده‌ی منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد
[2] دانشیار و عضو هیئت‌علمی گروه زیست‌شناسی، دانشگاه یزد، یزد
[4]استادیار پژوهشی بخش تحقیقات جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰

چکیده

گیاه رمس (*Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss) گونه‌ای درختچه‌ای است که در بخش‌های وسیعی از مناطق مرکزی ایران رویش دارد. سازگاری بالای این گونه به شرایط سخت محیطی و اهمیت آن در تثبیت شن، کنترل ریز گردها و کارکردهای دارویی، ایجاب می‌نماید تا با شناخت تنوع ژنتیکی آن، نسبت به انتخاب ژنوتیپ‌های برتر اقدام نمود. در این مطالعه تعداد ۱۲ آغازگر مربوط به نشانگر داخلی ریز ماهواره‌ها برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ رمس از سه منطقه جغرافیایی استان یزد استفاده شد. از بین ۱۲ آغازگر تنها ۴ آغازگر قادر به تکثیر ۳۹ مکان ژنی با تولید باندهای واضح شدند که تعداد ۳۲ باند، چند شکلی (۷۹/۵٪) نشان دادند. متوسط میانگین مقادیر ضریب تنوع‌پذیری نی و شانون به‌ترتیب ۰/۴۵۱ و ۰/۶۴۳ تعیین گردید. آغازگرهای ISSR826 با ۱۵ آلل وآغازگر SSR17 با ۷ آلل باند به‌ترتیب بیشترین و کمترین مکان ژنی را تولید نمودند. تعداد آلل‌ها در هر جایگاه از ۷ تا ۱۵ آلل متغیر بود و با میانگین ۷/۹ محاسبه گردید. با استفاده از آنالیز خوشه‌ای بر مبنای ضریب الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه جاکارد، جدایه‌ها با سطح تشابه ۷۵٪ در ۱۱ گروه قرار گرفتند. شاخص شانون، تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PcoA) و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تفاوت معنی‌داری بین جداره‌های سه منطقه مشاهده شد. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد بالاترین مقدار تنوع ژنتیکی (۸۱٪) در بین جدایه‌ها توزیع شده بود و تنوع ژنتیکی درون جدایه‌های مختلف ۱۹ درصد

*نویسنده مسئول: hsodaee47@gmail.com

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

تعیین گردید. بر پایه نتایج به دست آمده چنین اثبات می‌شود که تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیت‌ها می‌تواند به‌علت توزیع بسیار نزدیک جوامع رمس در نواحی مورد مطالعه باشد.

واژه‌های کلیدی: بافق، تنوع ژنتیکی، رمس (*Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss)، نشانگر ISSR

مقدمه

رمس یا ترات (*Haloxylon salicornicum* (Moq.) Bunge ex Boiss)، گونه‌ای درختچه‌ای از خانواده اسفناجیان است که در بخش‌های وسیعی از رویشگاه‌های طبیعی مرکز و جنوب ایران به‌عنوان گونه‌ای غالب یا کلیدی رویش دارد. استقرار گونه رمس بر روی نبکاها به عنوان تثبیت کننده خاک توجه محققان را جلب کرده است (Brown and Prorembski, 1997). همچنین استفاده از آن برای احیای مناطق بیابانی در عراق توصیه‌شده است (Dougrameji and Kaul, 1973). در عربستان سعودی از این گیاه مواد دارویی ضد بیماری دیابت استخراج شده است (Ajabnoor et al., 1984). بررسی اثرات چرای دام بر روی تولید و درصد پوشش گیاهی رمس نیز نشانگر این مطلب است که این گیاه از نظر چرای دام نیز حائز اهمیت است (Zaman, 1997). این گیاه در مناطق جنوبی استان خراسان و در استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، اصفهان، یزد، کرمان و فارس مشاهده می‌شود. شمالی‌ترین حد گسترش این گیاه در ایران، تقریباً عرض جغرافیایی ۳۳ درجه شمالی در حدفاصل طبس و بشرویه در استان خراسان می‌باشد و در جنوب ایران تا کناره‌های دریای عمان، خلیج فارس و در جزیره قشم نیز مشاهده‌شده است (توکلی و همکاران، ۱۳۸۴).

تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تنازع بقاء موجودات از جمله گیاهان در برابر تغییرات زیست محیطی است. اطلاع از وضعیت تنوع ذخایر زیستی و روابط فیلوژنی جمعیت‌ها گام اولیه و اساسی در به نژادی و مدیریت آن‌ها است (فارسی و همکاران، ۱۳۹۴). با توجه به تأثیر تنوع ژنتیکی در پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی، بررسی این تنوع از طریق روش‌های مولکولی و مورفولوژیکی حائز اهمیت خواهد بود. امروزه بررسی تنوع و قرابت ژنتیکی میان جمعیت‌های مختلف جانوری و گیاهی با استفاده از نشانگرهای مولکولی DNA روشی معمول است (عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۹۴). تنوع ژنتیکی بیانگر تفاوت‌ها و تنوع ژن‌ها در درون یک گونه است. تنوع در سایر سطوح از تنوع ژنتیکی آغاز می‌شود که از جهش‌های تصادفی که در سطح مولکول‌ها اتفاق می‌افتد، منشأ می‌گیرد و به معنی تنوع در ترکیب ژنتیکی موجود در جمعیت‌ها یا گونه‌های گیاهان و جانوران است. بررسی تنوع ژنتیکی نقش مهمی در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود گیاهان ایفا می‌کند و کمک شایانی به پیشبرد برنامه‌های تحقیقاتی خواهد کرد. حفاظت و استفاده پایدار از منابع ژنتیکی جهت تأمین امنیت غذایی در آینده یک ضرورت است. در این بین، تکنیک‌های مولکولی توانسته‌اند حفاظت و مدیریت منابع ژنتیکی را

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

خصوصاً در زمینه‌های اطلاعات مربوط به تنوع ژنتیکی در درون و بین گونه‌ها بهبود بخشند (Runo et al., 2004) و به طور فزاینده‌ای در شناسایی روابط فیلوژنی مورد استفاده قرار گیرند. اطلاع کافی از همولوژی‌های ژنومیکی به برنامه‌ریزی و استراتژی‌های اصلاحی در حفاظت از ژرم پلاسم و انتقال ژن‌ها از یک‌گونه به گونه دیگر کمک می‌کند (Ramantha and Riley, 1994). پیشرفت‌های اخیر با استفاده از PCR و بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های مختلف یک‌گونه با بهره‌گیری از نشانگرهای مختلف مولکولی، روش‌های مؤثر و سریعی را برای نشان‌دار کردن و بهبود مدیریت ژرم پلاسم و انتخاب به کمک نشانگرها فراهم کرده است (Fernández -Fernandez et al., 2006).

به طور گسترده‌ای در بررسی تنوع و فاصله ژنتیکی در بین ارقام مختلف از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR استفاده می‌شود. از جمله نشانگرهای مذکور می‌توان به ISSR و RAPD اشاره کرد. این نشانگرها برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی به طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته و کار آمد گزارش شده‌اند (Williams et al., 1990). دقت بالا، تکرارپذیری، تجزیه و تحلیل هم زمان تعداد زیادی از جایگاه‌های ژنی، تنوع بسیار بالا، هزینه پایین و سهولت از ویژگی‌های نشانگر مولکولی ISSR هستند که باعث شده از آن به طور گسترده‌ای در بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان استفاده گردد (Sicard et al., 2005). در سال‌های اخیر از نشانگرهای مولکولی در موارد زیادی مانند مطالعات پایه و کاربردی موجودات مختلف استفاده شده است. در زمینه استفاده از نشانگرهای مولکولی مطالعات وسیعی در گیاهان مختلف صورت گرفته است (Soreni et al., 2012) اما در مورد گیاه رمس تاکنون در این زمینه تحقیقی صورت نگرفته است. در پژوهشی تنوع ژنتیکی بین سه واریته رازیانه (*Foeniculum vulgare*) با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت که بر اساس مشاهده صفات فنوتیپی و ارزیابی تنوع ژنتیکی واریته‌ها با دو نشانگر مولکولی فوق، اختلاف قابل‌توجهی بین واریته‌ها مشاهده شد (Abou El-Nasr et al., 2013). همچنین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گون سفید (*Astragalus gossypinus* fisher) در شش مکان در استان اصفهان بررسی و با توجه به نتایج حاصل از ترادف بین نوکلئوتیدها و باندهای نوکلئوتیدی بر روی الکتروفورز، تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های گون سفید گزارش شد (ده‌دشتیان و همکاران، ۱۳۹۰). در بررسی تنوع ژنتیکی شش جمعیت بادام‌کوهی (*Prunus scoparia*) از قسمت‌های مختلف دامنه پراکنش این‌گونه در ایران با استفاده از نشانگرهای هسته‌ای SSR، بالاترین تعداد آلل‌ها را در جمعیت‌های فارس و لرستان گزارش شد (Mehdigholi et al., 2013). در این مطالعه رابطه معنی‌دار بین پارامترهای تنوع ژنتیکی و ارتفاع از سطح دریا یا مکان جمعیت‌های مورد مطالعه ، مشاهده نشد. همچنین در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ۲۳ ژنوتیپ نمونه‌های گیاه چمنی مرغ (*Cynodon dactylon*) و چهار رقم دو رگه با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و ۱۴ نشانگر ISSR بررسی شد. در این مطالعه درمجموع ۳۳۶ نوار تولید شد

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

که ۳۰۵ مورد از آن‌ها چند شکل بودند. ژنوتیپ‌ها در چهار گروه طبقه‌بندی شدند، به طور ی‌که ارقام تریپلوئید و دیپلوئید متعلق به یک گروه بودند و از جمعیت تتراپلوئید جدا شدند (محمدی فارسانی و همکاران، ۱۳۸۷).

با توجه به پیشینه تحقیقات کم صورت گرفته در رابطه با گیاه رمس و پراکنش وسیع آن در سطح کشور و با توجه به نبود گزارشی مبنی بر ارزیابی تنوع ژنتیکی این گیاه، پژوهش حاضر به‌عنوان اولین مطالعه با هدف بررسی تنوع ژنتیکی گونه مذکور در رویشگاه‌هایش در استان یزد با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR و شناسایی نشانگرهای ISSR مؤثر در تفکیک جمعیت آن‌ها انجام شد

مواد و روش‌ها

استخراج DNA

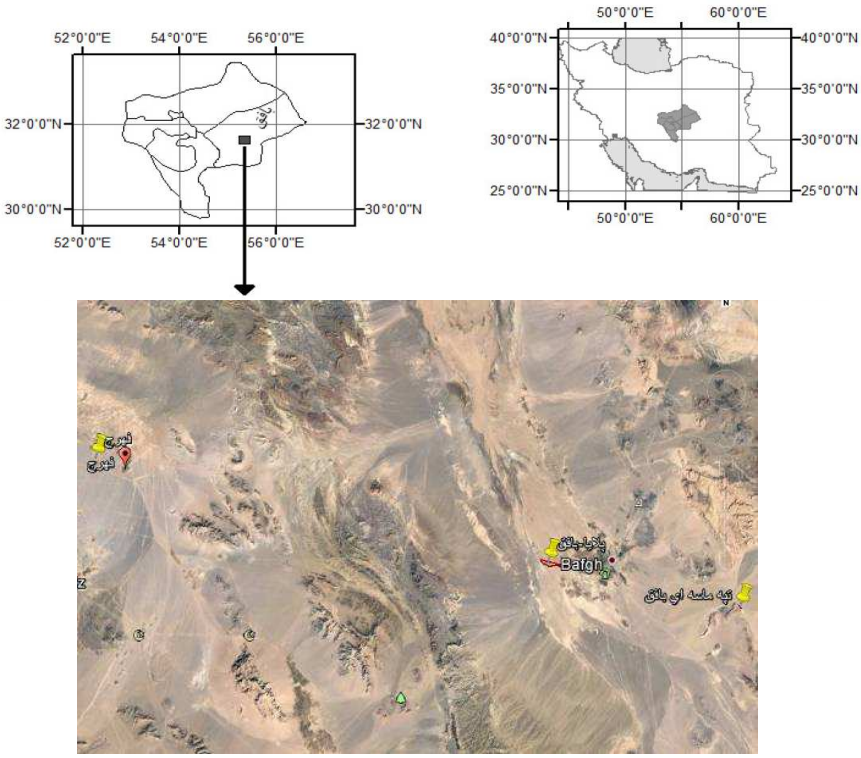
مواد گیاهی جهت استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل ۳۰ ژنوتیپ از سه منطقه جغرافیایی شهرستان بافق و فهرج در استان یزد بود. مشخصات جغرافیایی نمونه‌های مورد استفاده در جدول یک آمده است (جدول ۱).

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق

کد یا نام	منشأ	شماره ژنوتیپ	مختصات جغرافیایی	
			طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
R11	بافق (پلایا)	۱	۵۵ ۱۴ ۵۴	۳۱ ۳۸ ۹/۸
R12	بافق (پلایا)	۲	۵۵ ۱۴ ۴۵/۶	۳۱ ۳۸ ۳۲/۹
R13	بافق (پلایا)	۳	۵۵ ۱۴ ۳۵	۳۱ ۳۸ ۳۳/۱
R14	بافق (پلایا)	۴	۵۵ ۱۴ ۴۵	۳۱ ۳۸ ۳۳/۳
R15	بافق (پلایا)	۵	۵۵ ۱۴ ۴۶/۶	۳۱ ۳۸ ۳۲/۴
R16	بافق (پلایا)	۶	۵۵ ۱۴ ۴۰/۶	۳۱ ۳۸ ۳۴/۵
R17	بافق (پلایا)	۷	۵۵ ۱۴ ۴۵/۸	۳۱ ۳۸ ۳۳/۴
R18	بافق (پلایا)	۸	۵۵ ۱۴ ۴۵/۱۰	۳۱ ۳۸ ۳۱/۷
R19	بافق (پلایا)	۹	۵۵ ۱۴ ۴۷/۳	۳۱ ۳۸ ۳۱/۴
R110	بافق (پلایا)	۱۰	۵۵ ۱۴ ۴۶/۳	۳۱ ۳۸ ۳۱/۳
R21	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۱	۵۵ ۳۷ ۲۳/۵	۳۱ ۳۲ ۳۳/۱
R22	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۲	۵۵ ۳۷ ۲۴/۵	۳۱ ۳۲ ۴۸/۷
R23	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۳	۵۵ ۳۷ ۲۵/۹	۳۱ ۳۲ ۴۸/۲
R24	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۴	۵۵ ۳۷ ۲۵/۵	۳۱ ۳۲ ۴۷/۸
R25	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۵	۵۵ ۳۷ ۲۷/۴	۳۱ ۳۲ ۴۷
R26	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۶	۵۵ ۳۷ ۲۷/۷	۳۱ ۳۲ ۴۶/۴
R27	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۷	۵۵ ۳۷ ۲۲/۹	۳۱ ۳۲ ۴۹/۸
R28	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۸	۵۵ ۳۷ ۲۴/۶	۳۱ ۳۲ ۴۹/۵
R29	بافق (تپه ماسه‌ای)	۱۹	۵۵ ۳۷ ۲۲/۸	۳۱ ۳۲ ۴۹/۷
R210	بافق (تپه ماسه‌ای)	۲۰	۵۵ ۳۷ ۲۳/۹	۳۱ ۳۲ ۴۹/۹
R31	فهرج	۲۱	۵۵ ۳۱ ۰/۸	۳۱ ۴۶ ۲۲/۹
R32	فهرج	۲۲	۵۵ ۳۱ ۰/۴	۳۱ ۴۶ ۲۳
R33	فهرج	۲۳	۵۵ ۳۱ ۱	۳۱ ۴۶ ۲۲/۲
R34	فهرج	۲۴	۵۵ ۳۱ ۱/۴	۳۱ ۴۶ ۲۳/۶
R35	فهرج	۲۵	۵۵ ۳۱ ۱/۵	۳۱ ۴۶ ۲۳/۹
R36	فهرج	۲۶	۵۵ ۳۱ ۱/۱	۳۱ ۴۶ ۲۲
R37	فهرج	۲۷	۵۵ ۳۱ ۲	۳۱ ۴۶ ۲۱/۴
R38	فهرج	۲۸	۵۵ ۳۱ ۰/۹	۳۱ ۴۶ ۲۲/۵
R39	فهرج	۲۹	۵۵ ۳۱ ۲/۳	۳۱ ۴۶ ۲۳
R310	فهرج	۳۰	۵۵ ۳۱ ۳	۳۱ ۴۶ ۲۲/۶

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]



شکل۱- سه رویشگاه رمس در منطقه بافق (پلایا، تپه ماسه‌ای) و فهرج

جهت استخراج DNA از ۵ گرم برگ هر ژنوتیپ استفاده شد. در ابتدا برگ‌ها در ازت مایع و با هاون خردشده و به‌صورت پودر درآمدند. استخراج DNA با استفاده از دو روش دستی CTAB و کیت تجاری شرکت توپاز ژن البرز و حلال‌های مرتبط انجام گردید. جهت اطمینان از حصول مولکول‌های DNA سالم و بدون شکستگی برای انجام بهتر واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، کیفیت DNA با استفاده از ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. محصولات حاصل از PCR بعد از جریان دادن روی ژل آگارز در میدان الکتریکی به مدت ۱۵ دقیقه در محلول رنگی اتیدیوم بروماید (۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) قرارداده‌شده و رنگ‌آمیزی شدند و سپس محصولات رنگ گرفته با استفاده ازدستگاه Gel Documentation مدل IMAGO (B□L System) دارای لامپ UV مشاهده و تصویربرداری شدند. با توجه به نیاز مقدار مشخصی از مولکول‌های DNA (حداقل ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر)، کمیت DNA نیز با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (UNICO UV-Visible, USA) با طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با توجه به میزان بالای DNA به دست آمده ، به‌اندازه ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

رقیق‌سازی گردید و در واکنش زنجیره‌ای پلی مراز مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های استوک با غلظت اولیه، جهت نگهداری به یخچال ۸۰- منتقل گردیدند.

انتخاب آغازگرهای مورد استفاده در تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌های رمس

در این مطالعه تعداد ۱۲ عدد آغازگر از نواحی داخلی توالی‌های کوتاه تکراری که در بررسی تنوع ژنتیکی گیاه تاغ استفاده شده بودند، انتخاب و جهت این مطالعه با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز مورد استفاده قرار گرفتند. آغازگرهای موردنظر جهت سنتز به شرکت World Meridian ارسال گردید. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ آمده است. غلظت اولیه آغازگرهای ساخته‌شده، ۲۰ پیکوگرم بود که جهت استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی مراز این غلظت رقیق‌سازی گردید و از غلظت رقیق‌شده دو پیکوگرم استفاده گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر) با استفاده از دستگاه ترموسایکر (Peqlab, Germany) انجام گردید.

واسرشت‌سازی اولیه DNA ژنومی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه انجام و سپس ۴۰ چرخه شامل: دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ ثانیه و درنهایت دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت دقیقه انجام گردید. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از تانک الکتروفورز افقی (شرکت پدیده نوژن پارس، مشهد) حاوی بافر TBE و ژل آگارز دو درصد و با ولتاژ ۷۰ بازمان ۴۰ دقیقه انجام شد. به‌منظور برآورد جرم مولکولی قطعات DNA تکثیرشده از نشانگر bp100 استفاده شد. رنگ‌آمیزی ژل با محلول اتیدیوم -بروماید به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انجام و پس از سه دفعه شستشوی ژل در آب مقطر، با دستگاه Gel Doc از آن عکس‌برداری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

قطعات ISSR قابل‌رؤیت روی ژل آگارز بر اساس وجود (یک) یا عدم وجود (صفر) باند رتبه‌بندی شدند. سپس آنالیز خوشه‌ای داده‌های مربوط به انگشت‌نگاری DNA که در فایل Microsoft Excel 2003 ذخیره‌شده بود، با استفاده از نرم‌افزار NTSYSpc version 2.1 انجام شد. داده‌های مذکور به‌عنوان داده‌های ورودی در آنالیز خوشه‌ای که با استفاده از الگوریتم UPGMA و ضریب شباهت دایس صورت گرفت و دندروگرام مربوط به آن‌ها که نشانگر میزان تشابه و یا فاصله ژنتیکی جدایه‌های مورد استفاده در آزمون بود، ترسیم گردید. در این تحقیق میانگین کل داده‌ها و انحراف از معیار داده‌ها

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

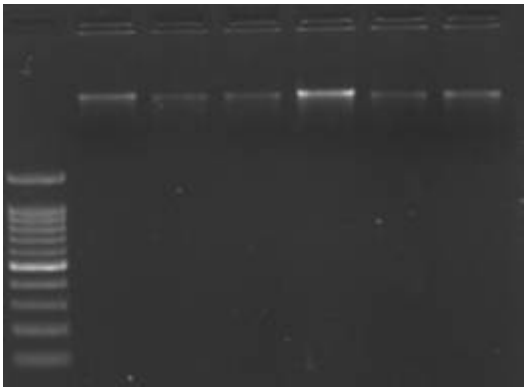
(STDEV) به دست آمد که به کمک این اعداد Cut off point (خط برش) دندروگرام رسم شد. قطعات DNA تکثیرشده براساس هم ردیفی باندها و به‌صورت صفر (عدم حضور باند) و یک (حضور باند) امتیاز بندی و با استفاده از آزمون منتل از ضریب تشابه جاکارد برای محاسبه تشابه بین هر یک از زوج‌های ژنوتیپی استفاده گردید. جهت انتخاب بهترین خوشه‌بندی از تست کوفنیک استفاده شد و میزان فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش Unveigthed Pair Grop Method With Arithmtic Mean (UPGMA) و در نرم‌افزار (NTSYS pc 2.02) محاسبه و ارتباط ژنوتیپ‌ها با استفاده از دندروگرام نشان داده شد. آنالیز تنوع مولکولی (AMOVA) با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریکس دو گانه برای به‌دست آوردن تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌ها با نرم‌افزار GenAlEx 6.5 انجام گرفت.

نتایج

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

نتایج حاصل از عملیات استخراج DNA نشان دهنده کیفیت قابل قبول مولکول‌های به دست آمده جهت استفاده در مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی بود. نتایج حاصل از ژل الکتروفورز نشان داد که مولکول-های اسیدهای نوکلئیک حاصل فاقد هرگونه شکستگی و اسمیر می‌باشند و می‌توان از آن‌ها در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز استفاده نمود (شکل ۲). تمام آغازگرهای انتخاب‌شده از گیاه تاغ برای این مطالعه استفاده گردید در بین چهار آغازگر، فقط دو عدد قادر به سنتز ناحیه ژنی از توالی ژنی رمس بودند درحالی‌که بقیه آغازگرها قادر به سنتز ناحیه ژنی مربوطه نبودند.

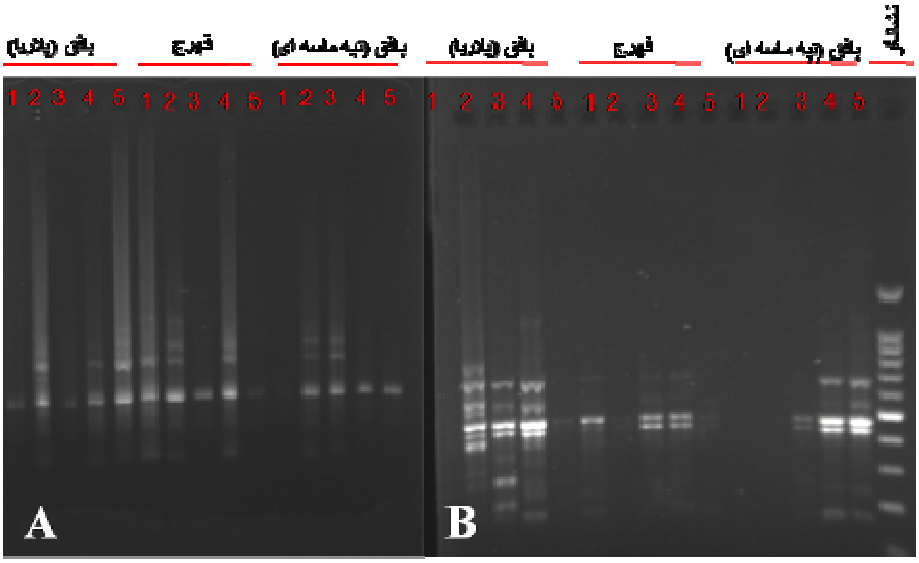
[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]



شکل ۲- بررسی کیفیت DNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد باندهای تشکیل شده نشان از کیفیت مناسب DNA جهت انجام واکنش PCR دارد

دو آغازگر فوق قادر به ایجاد الگوی باندی با وضوح و با تکرارپذیری بالا بوده و بین ارقام چندشکلی نشان دادند. در مطالعه روابط ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ رمس با استفاده از آغازگرهای استفاده شده، درمجموع ۱۸ مکان ژنی شناسایی شد که ۱۱ مکان (۶۱٪) از آن‌ها چند شکلی نشان دادند. در بین این دو آغازگر، آغازگر ISSR26 بیشترین تعداد مکان (۱۳ مکان) و آغازگر ISSR13 کمترین تعداد مکان (پنج مکان) را تولید نمودند. در نتیجه بیشترین و کمترین درصد چند شکلی به ترتیب با استفاده از آغازگر ISSR26 و ISSR13 تولید شد (شکل۳).

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]



شکل ۳- واکنش زنجیره‌ای پلی مراز جهت تعیین توانایی بازیابی مکان‌های ژنی به‌وسیله دو آغازگر ISSR826 (A) و ISSR7 (B) در ۳۰ نمونه رمس از سه ناحیه جغرافیایی

چند شکلی نواحی ISSR

با استفاده از ۴ آغازگر ریز ماهواره استفاده شده در این تحقیق جهت بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های رمس، تعداد ۳۹ باند حاصل از تکثیر قطعات مربوط به مکان‌های ژنی تکثیر گردید. از این تعداد ۳۲ باند چندشکلی (۸۲٪) را نشان دادند. باندهای ضعیف و شکسته برای آنالیز داده‌ها در نظر گرفته نشدند. اندازه باندها از ۱۶۰ تا ۱۵۰۰ جفت باز متغیر بود. بیشترین و کمترین میزان تولید باندها به ترتیب مربوط به آغازگرهای ISSR826 (۱۵ باند) و ISSR13 (۵ باند) بود (جدول۲). تعداد متوسط تکثیر مکان‌های ژنی برای هر آغازگر ۹/۷۵ تعیین گردید. تمام آغازگرها قدرت تفکیک نسبتاً بالایی با محتوای ژنتیکی به ارزش ۰/۳۷۵ را نشان دادند. بالاترین میزان PIC برای آغازگر ISSR7 (۰/۴۳) و پایین‌ترین آن برای آغازگر ISSR13 (۰/۳۴) مشاهده گردید (جدول ۲).

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در مطالعه تنوع ژنتیکی گیاه بیابانی رمس با نشانگر ISSR (Sheng et al., 2005)

کد آغازگر	توالی آغازگر	تعداد باندها	تعداد چندشکلی	درصد چندشکلی باندها	محتوای اطلاعات چندشکلی
ISSR13	$(ACG)_6Ga$	۹	۵	٪۵۵	۰/۳۴
ISSR826	CCCGGATCC $(CA)_8$	۱۵	۱۳	٪۸۱/۶۱	۰/۳۶
ISSR810	$(GA)_8T$	۸	۶	٪۷۵	۰/۳۸
ISSR7	$(AC)_8AG$	۷	۶	٪۸۵	۰/۴۳
Mean		۹/۷۵		٪۷۹/۹۰	۰/۳۹۵
SE				٪۷۵/۶	

تنوع ژنتیکی

در جمعیت‌های مورد مطالعه گونه‌های رمس، تعداد متوسط آلل‌های مشاهده‌شده از ۱/۹۹ آلل مربوط به ناحیه فهرج تا تعداد ۱/۵۷ مربوط به منطقه بافق (پلایا) متغیر بود. به طور نسبی بالاترین سطح تنوع آللی (Ne) در جمعیت فهرج و کمترین آن برای منطقه بافق (پلایا) ثبت گردید. در ارتباط با این دو پارامتر منطقه بافق (تپه ماسه‌ای) حالت بینابینی را ازنظر تنوع آللی نشان داد.

جدول۳- مقادیر تنوع ژنتیکی در سه جمعیت گیاه رمس

جمعیت	(Na) تعداد آلل‌های مشاهده‌شده	(Ne) تعداد آلل‌های مؤثر	(H) ضریب شاخص نی	(I) شاخص اطلاعاتی شانون	(uHe) هتروزیگوسیتی مورد انتظار	(%p) درصد پلی مورفیسم
بافق (پلایا)	۱/۵۷۵	۱۳/۳۷	۰/۲۴۶	۰/۴۰۰۲	۰/۳۱۵۹	٪۸۳/۱۰
بافق (تپه ماسه)	۱/۶۳۴	۱/۴۳۴	۰/۲۷۶	۰/۴۳۷۰	۰/۳۱۱۲	٪۸۶/۵۵
فهرج	۱/۹۹۸	۱/۸۱۸	۰/۴۴۸	۰/۶۴۰۱	۰/۳۶۱۰	٪۹۶/۲۱
میانگین	۱/۷۰	۱/۸۲۶	۰/۴۵۱	۰/۶۴۳۴	۰/۳۳۲	٪۹۱/۹۵

الگوی مشابهی برای شاخص اشتقاق شانون (I) و تنوع ژنتیکی نی (h') با بالاترین میزان مربوط به فهرج (h'-0.448; I-0.640) ثبت گردید. میانگین کل شاخص شانون و ضریب نی به ترتیب ۰/۶۴۳۴ و ۰/۴۵۱ تعیین گردید. بیشترین درصد چندشکلی مکان‌های ژنی از ۹۶ درصد برای منطقه فهرج آغاز

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

و تا ۸۳ درصد برای منطقه بافق (پلایا) تعیین گردید و این در حالی است که متوسط درصد چندشکلی برای هر سه جمعیت از رمس بالای ۹۱ درصد محاسبه گردید. مقادیر به دست آمده برای پارامترهای قابل انتظار هتروزیگوسیتی جمعیت فهرج ارزش نسبی بالایی نسبت به دو جمعیت دیگر نشان داد (uHe=0.36,He=0.34) در حالی که متوسط درصد هتروزیگوسیتی ۰/۳۳۲ تعیین گردید. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص گردید که جمعیت منطقه فهرج تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به دو جمعیت دیگر از خود نشان دادند.

تفکیک ژنتیکی[2]

. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی (۹۹٪) در درون جمعیت و کمترین میزان تنوع ژنتیکی (۱٪) در بین جمعیت‌ها دیده می‌شود (جدول۴).

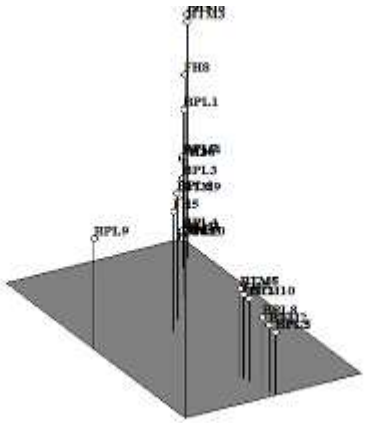
جدول۴- نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) مربوط به ۳۰ جمعیت رمس از سه منطقه جغرافیایی استان

منبع تغییرات	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	درصد واریانس (VAR)%	انحراف استاندار (SV)	نسبت پراش (VR)
بین جمعیت‌ها	۲	۱۲/۶۶	۶/۳۳	٪۱۱	۰/۰۳۹	
درون جمعیت‌ها (خطا)	۲۷	۱۶۰/۶۰	۵/۹۴	٪۸۹	۵/۹۴	۱/۰۶
کل	۲۹	۱۷۳/۲۶۷	۱۲/۲۷	٪۱۰۰	۵/۹۸	

نتایج تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که براساس آماره ptφ در بین گروه-ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نمودار حاصل از آنالیز تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی۳ نشان داد که بین منشأ و گروه ژنوتیپی جدایه‌ها ارتباط نسبتاً محسوسی وجود دارد و جدایه‌هایی که از مناطق مشابه و نزدیک به هم جمع‌آوری شدند در گروه‌های نزدیک به هم پراکنده هستند (شکل۴).

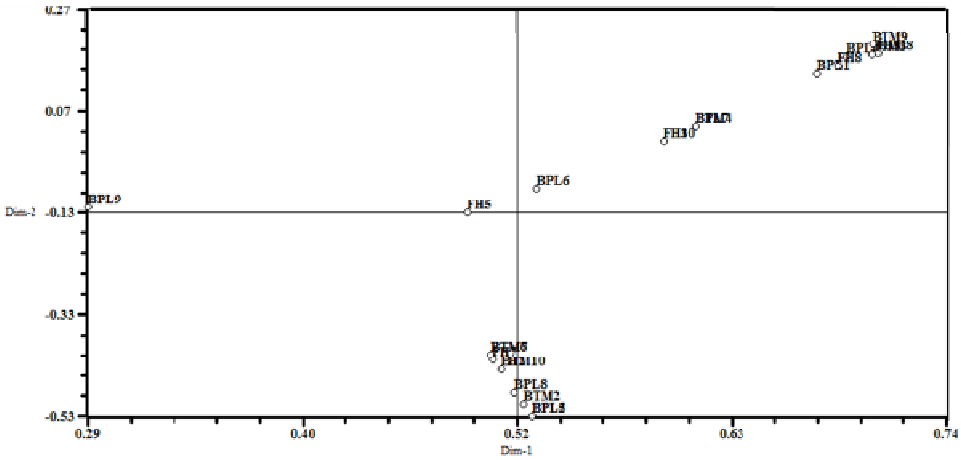
[2] Genetic differentiation
[3] Principal Component *Analysis (PCoA)*

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]



شکل ۴- نمایش سه‌بعدی آنالیز PCoA نمایانگر تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ رمس از سه منطقه جغرافیایی استان یزد.

نمودار دو بعدی بر اساس مؤلفه‌های اول و دوم نشان داد که ژنوتیپ‌ها در چهار ناحیه از صفحه پراکنده‌شده‌اند که در این وضعیت، فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها را می‌توان به‌خوبی مشاهده نمود. پراکنش ژنوتیپ‌ها نشان‌دهنده توزیع بسیار مناسب نشانگر ISSR در طول ژنوم می‌باشد. با توجه به پراکنش ژنوتیپ‌ها که در شکل ۵ نشان داده‌شده است چنین نتیجه‌گیری می‌شود که چهار نمونه BPL6-BPL10-BTM5-BTM4 از بقیه نمونه‌ها جدا شده و دوباره با هم گروه‌بندی شده‌اند.



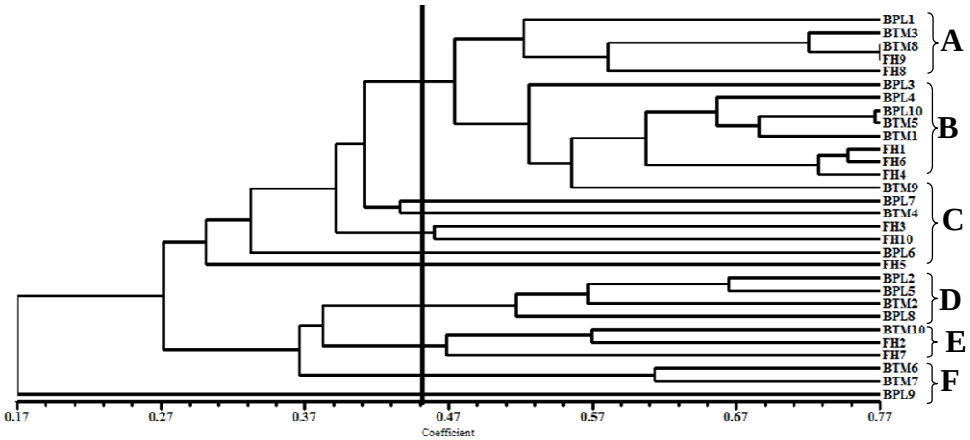
شکل ۵ -نمودار دوبعدی تجزیه به مختصات اصلی ژنوتیپ‌های رمس با نشانگرهای ISSR

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

این تحقیق اولین تحقیق در زمینه استفاده از این آغازگرها در گیاه مرتعی رمس در دنیا می‌باشد. بر اساس این نتایج مـی‌تـوان چنین نتیجـه گرفـت کـه استفاده از این آغازگرها به شرطی می‌تواند روش مناسـبی در ارزیابی و بررسی درجه شباهت و تفاوت‌هـای ژنوتیپ‌های رمس در نظر گرفته و مورد استفاده قرار گیرد که ژنوم این گیاه به طور کامل توالی‌یابی گردد که با توالی یابی کامل ژنوم، می‌توان تعداد بیشتری آغازگر اختصاصی رمس شناسایی و با تکثیر قطعاتی با اندازه‌های مختلف در ژنوتیپ های مورد مطالعه ، چندشکلی‌های موجود را نشان داد که با توجه به بررسی‌های به عمل‌آمده چنین موردی در گیاه تاغ که گیاهی نزدیک به این‌گونه می‌باشد، دور از انتظار نمی‌باشد.

خوشه‌بندی و ساختار جمعیت [4]

بر اساس آنالیز PCoA داده‌ها با استفاده از ماتریس تشابه جاکارد در نرم‌افزار NTSYS از بین ۱۰۰ مؤلفه‌ی حاصل،۴ مؤلفه مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک داشتند و ۵۵/۸ درصد تنوع موجود را توجیه کردند. جدایه‌ها براساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه جاکارد به ۵ دودمان کلونی با سطح تشابه ۴۵ درصد تقسیم‌بندی شدند و دندروگرام مربوطه به آن‌ها که مربوط به میزان تشابه و یا فاصله ژنتیکی جدایه‌های مورد استفاده در آزمون بود، رسم گردید.



شکل۶- دندروگرام ارتباط ژنتیکی میان جدایه‌های گیاه رمس از سه منطقه جغرافیایی استان یزد بر اساس الگوی باندی محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد. تشابه جدایه ها بر اساس ضریب ژاکارد محاسبه و دندروگرام به روش UPGMA ترسیم‌شده است (BPL: بافق، BTM: بافق تپه ماسه‌ای، FH: فهرج)

[4] Clustering and population structure

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

بهترین ضریب تشابه براساس آزمون منتل ضریب تشابه جاکارد و فاصله ژنتیکی مورد بررسی از ۳۳/. تا ۹۳/. متغیر بود. بالا بودن یا پایین بودن دامنه فاصله ژنتیکی یادشده نشان‌دهنده میزان تنوع بالا یا پایین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. در این مطالعه دامنه ژنتیکی نسبتاً بالا بود و می‌توان چنین نتیجه گرفت که در میان ژنوتیپ‌های مختلف گیاه رمس از مناطق نمونه‌برداری شده دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشد. براساس آزمون کوفنیک بهترین روش خوشه‌بندی روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد بود.

گروه A از محل فاصله ژنتیکی ۰/۴۵ شامل ۵ ژنوتیپ از سه منطقه جغرافیایی نمونه‌برداری شده می باشد

گروه B دارای هشت ژنوتیپ از هر سه منطقه مورد مطالعه پلایا و تپه ماسه‌ای (بافق) و فهرج می‌باشد.

گروه C دارای شش عضو از دو منطقه تپه ماسه‌ای (بافق) و فهرج می‌باشد.

گروه D و F هر یک به ترتیب با پنج و سه ژنوتیپ فقط از دو منطقه بافق بوده و ژنوتیپی از فهرج دیده نمی‌شود

گروه‌های E نیز با سه ژنوتیپ کوچک‌ترین گروه ژنوتیپی با غالبیت منطقه فهرج می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

درک صحیح از محتوای ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف از یک‌گونه، تنوع و ساختار ژنتیکی و همچنین تمایز بین جمعیت‌های رمس در سه منطقه جغرافیایی یزد با استفاده از نشانگر ریز ماهواره بر پایه تکثیر به‌وسیله واکنش زنجیره‌ای پلی مراز برای آنالیز ژنتیکی درون و بین جمعیتی استفاده گردید. این آغازگر قادر به تعیین چندشکلی به میزان ۷۴ درصد در مطالعه حاضر گردید. نتایج حاصل از تکثیر قطعات ژنومی مورد نظر در رمس نشان داد که تقریباً نیمی از این آغازگرها قادر به سنتز ناحیه ژنی گونه موردنظر نمی‌باشند و این می‌تواند به دلیل تغییرات ایجادشده در ژنوم ناشی از جهش در هنگام اشتقاق این‌گونه از گونه مادری صورت گرفته باشد. در این مطالعه با استفاده از این نشانگر ۷۹/۹ درصد از مکان‌های ژنی چندشکلی در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش نشان داده شد. سطوح تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌های ژنوتیپ‌های رمس می‌تواند با گونه‌های درختی چوبی که دارای منشأ ژنتیکی مشابه با حالت منوفیلیتیک هستند مقایسه گردد (Ge and Sun, 1999). با استفاده از نشانگر RAPD سطوح قابل‌توجهی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های *Plathymenia reticulata* (Fabaceae) مشاهده گردیده است (P = 70·8%) (Yan et al., 2005). همچنین با استفاده از ۱۸ آغازگر RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی ۱۲ جمعیت *Acacia radiana* (Mimosaceae) مشخص گردید که ۹۰ درصد از آغازگرها چندشکلی ژنتیکی را نشان می‌دهند (Ge and Sun, 1999) که این نتایج با نتایج تحقیق

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

ما نزدیکی دارد. البته مقدار به دست آمده در این مطالعه مقدار کمتری از چندشکلی را نسبت به مطالعات مشابه نشان می‌دهد که این نتایج می‌تواند ناشی از عدم کارآیی آغازگرهای مورد استفاده و تعداد بسیار کم آن‌ها باشد که با توالی‌یابی ژنوم گونه رمس می‌توان به تعداد زیادی نشانگر مولکولی بسیار اختصاصی دست یافت و به طور قطع با آغازگرهای اختصاصی مربوط به مکان‌های چندشکلی، می‌توان جمعیت‌های زیادی را مورد مطالعه و ساختار ژنتیکی و تنوع ژنتیکی بین آن‌ها را مورد بررسی قرارداد که این اطلاعات در تعیین گونه‌های مقاوم و کارآ در جهت تثبیت شن‌های روان و همچنین مقاومت به خشکی و استفاده از ترکیبات ناشی از متابولیت‌های ثانویه در صنعت گیاهان دارویی مورد استفاده قرار خواهد گرفت. پراکنش بذر گونه‌های رمس به مناطق دور دست به‌وسیله باد و بقاء نامحدود آن بر روی خاک به‌علت تغذیه مورچه‌ها و دیگر بذر خواران، انتقال صفات ژنتیکی و پراکنش ژنی را با مشکل روبرو کرده است ولی دانه گرده از طریق بادهای اواخر بهار و اوایل تابستان امکان گسترش دانه-های گرده و تلاقی ژنتیکی و دگر آمیزشی را باعث می‌شود که در غنی‌سازی خزانه ژنتیکی گونه‌ها مؤثر است. بنابراین یک جریان ژنی گسترده در بین ژنوتیپ‌های مختلف از مناطق جغرافیایی دور از هم قابل پیش‌بینی می‌باشد. در بررسی تنوع ژنتیکی گونه تاغ با استفاده از نشانگر ژنتیکی ISSR این مهم به خوبی نشان داده‌شده است (Sheng et al, 2005). پایین بودن درصد چندشکلی ژنوتیپ‌های رمس در این مطالعه علاوه بر دلیل ذکرشده در فوق که ناشی از عدم وجود آغازگرهای اختصاصی می‌باشد، می-تواند به‌علت عدم فاصله زیاد جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری باشد که با صحیح بودن این فرض، اشتقاق ژنتیکی به علت آمیزش‌های درون‌گونه‌ای و خودگشنی‌های حاصل از تلاقی بین فرزندان یک نسل مشترک می‌تواند از پراکنش ژنی و جریان ژنی جلوگیری نماید. نتایج مربوط به تجزیه خوشه‌ای در بین جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد که تنوع مولکولی با تنوع جغرافیایی همخوانی ندارد. عدم ارتباط تنوع مولکولی با تنوع جغرافیایی در بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های باریجه گزارش‌شده است (خونانی و همکاران، ۱۳۹۰). در مطالعه دیگری که با استفاده از نشانگر ISSR بر روی گونه تاغ *H. ammodendron* صورت گرفته است مشخص شد که تنوع عمده ژنتیکی در درون جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها وجود دارد که با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد (Sheng et al, 2005). در تجزیه خوشه‌ای افراد متعلق به هر جمعیت و هر منطقه جغرافیایی در خوشه‌های مجزا قرارگرفته‌اند. قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مجزا، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا در درون جمعیت‌ها و شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها بود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی نیز تنوع ژنتیکی بالای درون جمعیت‌ها و تنوع ژنتیکی کم بین جمعیت‌ها را اثبات کرد. در بررسی جمعیت‌های *Harperella nodosa* و کنار (*Ziziphus spina*-christi) نیز افزایش تنوع در داخل جمعیت‌ها نسبت به بین جمعیت‌ها گزارش شد (Alansi et al., 2016 و Smith et al., 2015). تنوع ژنتیکی بالای درون

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

جمعیت‌ها احتمالاً به‌دلیل پدیده دگرگشنی است (Alansi et al., 2016). بالا بودن چندشکلی به دست آمده در پژوهش‌های مشابه را می‌توان به کارایی بالای روش ISSR به RAPD و آیزوزایم و نشانگرهای مورفولوژیک و وسعت مناطق نمونه‌برداری شده نسبت داد. ازآنجاکه درروش ISSR-PCR، آغازگرها مکمل نواحی ریز ماهواره‌ای می‌باشند که در یوکاریوت‌ها با فراوانی بالا در سراسر ژنوم پراکنده‌اند، استفاده از این روش می‌تواند سطح بالایی از چندشکلی را نشان دهد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی موجود در بین ژنوتیپ‌های گیاه رمس بسیار مناسب برای انجام برنامه-هایی اصلاحی جهت افزایش مقاومت به خشکی و شوری، کیفیت و سازگاری این گیاه می‌باشد. همچنین به‌نظر می‌رسد که روش ISSR-PCR به همراه روش‌های چند متغیره آماری تجزیه خوشه‌ای، پتانسیل قابل‌توجهی جهت بررسی روابط خویشاوندی، سیر تکاملی تنوع ژنتیکی و جغرافیایی گیاهان را داراست. با توجه به اطلاعات موجود در منابع حاضر، این تحقیق اولین تحقیق در زمینه استفاده از این آغازگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاه مرتعی رمس می‌باشد. بر اساس این نتایج مـی‌تـوان چنین نتیجـه گرفـت کـه استفاده از این آغازگرها به شرطی می‌تواند روش مناسـبی در ارزیابی و بررسی درجه شباهت و تفاوت‌هـای ژنوتیپ‌های رمس در نظر گرفته و مورد استفاده قرار گیرد که ژنوم این گیاه به طور کامل توالی‌یابی گردد که با توالی‌یابی کامل ژنوم، می‌توان تعداد بیشتری آغازگر اختصاصی رمس شناسایی و با تکثیر قطعاتی با اندازه‌های مختلف در ژنوتیپ های مورد مطالعه ، چندشکلی‌های موجود را نشان داد که با توجه به بررسی‌های به‌عمل‌آمده چنین موردی در گیاه تاغ که گیاهی نزدیک به این‌گونه می‌باشد، دور از انتظار نمی‌باشد.

منابع

توکلی، ح.، پاریاب، ع.ا.، قادری، غ.ر.، دشتی، م. ۱۳۸۴. بررسی برخی از خصوصیات بوم‌شناختی گیاه رمس (*Hammada salicornica*). تحقیقات مرتع و بیابان ایران، ۱۲ (۳): ۲۱۱-۲۳۲.

خونانی، ز.، نقوی، م.، امیدی، م.، سبکدست، م.، طالبی کویخی، ا. ۱۳۹۰. بررسـی تنـوع ژنتیکی اکوتیپ‌های باریجه (*Ferula gummosa*) مناطق مختلف ایـران با استفاده از نشانگر AFLP. فصلنامه گیاهان دارویی. ۲ (۳۸): ۱۱۷-۱۲۶.

عبدمیشانی، س.، شاه نجات بوشهری، ع.ا. ۱۳۹۴. اصلاح نباتات. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۳۲ صفحه.

فارسی، م.، ذوالعلی، ج.، شهریاری، ف. ۱۳۹۴. اصول بیوتکنولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۵۵۴ صفحه.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

محمدی فارسانی، ط.، اعتمادی، ن.، سید طباطبایی، ب. ۱۳۸۷. ارزیابی تنوع ژنتیکی نمونه‌های گیاه چمنی مرغ (*Cynodon dactylon*) با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی ISSR. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۹ (۲): ۸۳-۹۶.

ده‌دشتیان، ز.، وهابی، م.، فضیلتی، م.، قائدی، ق.، سلامیان، آ. ۱۳۹۰. مطالعه تنوع ژنتیکی *Astragalus gossypinus* fisher در اصفهان. ژنتیک در هزاره سوم، ۹ (۳): ۲۴۷۴-۲۴۶۷.

Abou El-Nasr, T.H.S., Sherin, A., Mahfouze, Al –Kordy, M. 2013. Assessing Phenotypic and Molecular Variability in Fennel (*Foeniculum vulgare*) Variet ies. Australian. Journal o f Basic and Applied Sciences, 7: 715-722 .

Ajabnoor, M.A., Yahya, M.A., Tariq, M., Jayab, A.A. 1984. phytochemical and biological studies on saudi medicinal plants. Antidiabetic activity of *Hammada salicornica*. Fitotrapia, 55(2): 107-109 .

Alansi, S., Tarroum, M., Al-Qurainy, F., Khan, S., Nadeem, M. 2016. Use of ISSR markers to assess the genetic diversity in wild medicinal Ziziphus spina-christi (L.) Willd. Collected from different regions of Saudi Arabia. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30(5): 942-947.

Brown, G., Prorembski, D. 1997. The maintenance of species diversity by minature dunes in a sand depleted *Halxylon salicornicum* community in Kuwait. Journal of Arid Environment, 73: 461-463 .

Dougrameji, J., Kaul, R. N. 1973. Sand dune reclamation in Iraq: present status and future prospects. Annals of Arid Zone, 11(3,4): 133–144 .

Fernández –Fernandez, F., Harvey NG., James, CM. 2006. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from European pear (*Pyrus communis*). Molecular Ecology Notes, 6(4): 1036-1041.

Ge, X.J., Sun M. 1999. Reproductive biology and genetic diversity of a crypto viviparous mangrove *Aegiceras corniculatum* (Myrsinaceae) using allozyme and inter simple sequence repeat (ISSR) analysis. Molecular Ecology, 8: 2061–206.

Mehdigholi, K., Sheidai, M., Niknan,V., Attar, F., Noormohammadi, Z. 2013. Population structure and genetic diversity of Prunus scoparia in Iran. Annales Botanici Fennici, 50:327–336.

Ramantha Rao, V., Riley, R. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Genet Resour News, 97: 3-20 .

Runo, M.S., Muluvi, G.M., Odee, D.W. 2004. Analysis of genetic structure in Melia volkensii (Gurke.) populations using random amplified polymorphic DNA. African Journal of Biotechnology, 3(8): 421-425.

Sheng, Y., Zheng, W., Pei, K., Ma, K. 2005. Genetic variation within and among populations of a dominant desert tree *Haloxylon ammodendron* (Amaranthaceae) in China. Annals of Botany, 96(2): 245-252.

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]

Sicard, D., Nanni, L., Porfiri, O., Bulfon, D., Papa, R. 2005. Genetic diversity of Phaseolus vulgaris L. P. coccineus L. landraces in central Italy. Plant Breeding, 124(5): 464-472.

Smith, W. B., Frye, C. T., Veliz, E., Hiebler, S., Taylor, R. C., Hunter, K. L. 2015. Genetic Variability of Maryland and West Virginia Populations of the Federally Endangered Plant *Harperella nodosa* (Rose) (Apiaceae). Northeastern Naturalist, 22(1): 106-119.

Soreni, A., Nazer, I V., Fatahi Moghdam, M.R., Ahadi Dolatsara, E. 2012. Genetic diversity of plant populations of motherwort in Iran with markers RAPD. Journal of Agricultural Biotechnology.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalskiand, J.A., Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphism mplified by arbitrary Primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Research, 18: 6531-6535 .

Yan, S., Zheng, W., Pei, K., Ma, K. 2005. Genetic variation within and among populations of a dominant desert Tree *Haloxylon ammodendron* (Amaranthaceae) in China. Annal Botany, 96(2): 245–252.

Zaman, S. 1997. Effects of rainfall and grazing on vegetation yield and cover of two arid rangelands in Kuwait. Environmental Conservation, 24(4): 344-350

[Downloaded from pec.gonbad.ac.ir on 2025-07-08]