فصلنامه گیاه‌پزشکی
(دانشگاه آزاد اسلامی شیراز)
جلد ۶، شماره ۱، سال ۱۳۹۳ (۱۱۲-۱۰۱)

تنوع ژنتیکی در ارقام و لاین‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

علیرضا افتخاریان جهرمی[1*]، محمدرضا نقوی[2]، امیرموسوی[3]، علی نیازی[4]

۱- گروه باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- گروه اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ایران
۳- گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران
۴- پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

چکیده

در این تحقیق روابط ژنتیکی ۷۵ ژنو تیپ لوبیا از ۳ جمعیت سفید، قرمز و چیتی و از ۳ منطقه (استان‌های مرکزی، لرستان و مرکز CIAT در کلمبیا) با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD مورد ارزیابی قرار گرفت. دی. ان. ای ژنومی استخراج شده از نمونه‌های گیاهی، با ۶ آغازگر RAPD، تحت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز قرار گرفته و محصولات روی ژل آگارز الکتروفورز شدند. درصد چندشکلی با میانگین ۸ ، از ۳۸ درصد برای آغازگر OPO3 با کمترین درصد چندشکلی تا ۷۸ درصد در آغازگر OPBD20 با بیشترین درصد چندشکلی، متغیر بود. میانگین میزان اطلاعات چندشکلی حساب شده برابر ۲۶ / به دست آمد که آغازگرهای OPO10 و OPM9 به ترتیب با مقادیر ۰/۱۷ و ۰/۳۵، کمترین و بیشترین مقادیر را دارا بودند. میانگین تنوع ژنی نی و شاخص اطلاعاتی شانون نیز به ترتیب ۰/۱۸ و ۰/۱۴ محاسبه گردیدند. همچنین روابط ژنتیکی بین نمونه‌ها با استفاده از ضریب تشابه نی محاسبه و دندروگرام مربوطه به روش UPGMA ترسیم گردید. نتایج حاصله بیانگر این نکته می‌باشد که آغازگرهای استفاده شده به‌طور نسبی باعث تفکیک جمعیتی نمونه‌های لوبیا گردیده‌اند . به علاوه تنوع ژنتیکی به دست آمده عمدتاً ناشی از تنوع درون جمعیت‌ها بوده و بین جمعیت‌ها تفاوت عمده‌ای وجود نداشته است که دلیل این امر را می‌توان استفاده از نمونه‌های ۳ منطقه در هر جمعیت و خود گرده‌افشانی بالا در لوبیا عنوان نمود.

واژه‌های کلیدی: لوبیا ، نشانگر مولکولی، تنوع ژنتیکی، RAPD

---

[*]مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alirezaeftekharian88@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۲/۰۶، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۲

مقدمه

یکی از پایه‌های اساسی اصلاح نباتات، دسترسی و آگاهی از میزان تنوع در مجموعه‌های ژنتیکی و مراحل مختلف پروژه‌های اصلاحی است. تخمین ترکیب ژنتیکی گیاهان زراعی و مجموعه‌های ژنتیکی و قرابت بین آنان از گذشته‌ای دور معمول بوده است. به‌طور تاریخی این تخمین بر اساس بیولوژی اندام‌های جنسی، داده‌های اکو جغرافیایی، زیست‌شناسی، شجره‌نامه، ارزیابی صفات زراعی و اخیراً با استفاده از نشانگرها صورت می‌گیرد. بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان، از طریق صفات مورفولوژیکی یا بیوشیمیایی همواره متداول بوده است. ارزیابی فنوتیپی به دلیل اثر محیط روی بیان ژن ممکن است روش قابل اعتمادی برای تعیین تفاوت‌های ژنتیکی نباشد (Matus & Hayes,2002). بررسی DNA گیاهان امکان ارزیابی مستقیم تنوع ژنتیکی را ارائه می‌دهد (Danylchenko & Sorochinsky, 2005). نشانگر مولکولی رپید به دلیل مزایای آن به‌طور گسترده در تهیه نقشه ژنتیکی و تعیین روابط ژنتیکی استفاده وسیعی شده است (Chtourou *et al*.,2002).

در تحقیقی در استرالیا، میزان تنوع ژنتیکی لوبیا مورد بررسی قرار گرفت. نشانگر مورد استفاده شامل ۱۰ نشانگر RAPD بود که بر اساس آن ارقام مختلف در دو گروه A و B دسته‌بندی گردیدند . اختلاف باندهای ایجاد شده در این تحقیق ۱۶٪ گزارش شده است (Braithwaite & Manners, 1994).

در پژوهشی که توسط Beeb & Skorch (2000) در مکزیک صورت گرفت ، تنوع ژنتیکی ۲۶۹رقم لوبیا با استفاده از ۳۹ آغازگرRAPD مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین PIC به دست آمده در این طرح برابر۰/۵۳ گزارش گردیده است.

Agrama & Tuinstra (2003) در مطالعه‌ای از نشانگرهای SSR و RAPD برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی سورگوم استفاده کردند. آن‌ها چندشکلی یا تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنو تیپ سورگوم را که نماینده‌ای از منابع ژرم پلاسم با صفات زراعی مهم بودند، با استفاده از ۳۲ آغازگر RAPD و ۲۸ جفت آغازگر SSR سورگوم بررسی کردند. نتایج نشان داد که نشانگرهای SSR دارای چندشکلی بالایی با میانگین ۴/۵ آلل برای هر جایگاه هستند، که این مقدار نسبت به میزان چندشکلی نشانگرهای RAPD بیشتر بود. در تجزیه RAPD تقریباً ۴۰ درصد از قطعات تکثیری یک شکل بودند. در این مطالعه، فاصله ژنتیکی بین ژنو تیپ‌ها بر اساس داده‌های SSR همبستگی پائینی با فاصله‌ها بر مبنای داده‌های RAPD داشت.

Grassi *et al*. (2006) ، ۸ رقم از لوبیاهای لیگورین را با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که همه ارقام لیگورین لوبیا دارای تنوع ژنتیکی پایین هستند و از نظر ژنتیکی خیلی به ارقام تجاری نزدیک می‌باشند، بخصوص ارقام گروه بیانکو وابستگی ژنتیکی نزدیکی با یکدیگر نشان دادند که شاید این به خاطر منشاء ژنومی مشترک آن‌ها باشد. Saraladevi & Selvaraju (2008) تنوع ژنتیکی ۱۰ جمعیت بومی لوبیا را با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD و ISSR مورد مطالعه قرار دادند. میزان اطلاعات چندشکلی به ترتیب برای نشانگرهای RAPD و ISSR ۰/۲۴۳ و ۰/۲۰۳ بود. بنابراین آن‌ها عنوان کردند که بازدهی و کارآیی هر دو نشانگر در این تحقیق تقریباً یکسان بوده است. همچنین دندروگرام حاصل از هر دو نشانگر بسیار شبیه بوده و همبستگی بالایی با هم داشتند. Moyib *et al*. (2008) با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD تنوع ژنتیکی را در بین لوبیاهای آفریقایی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه ۲۴ جمعیت لوبیا وجود داشت که نسبت به ۹ آغازگر از مجموع ۱۱ آغازگر چندشکلی نشان دادند و ۵۳ باند تولید شد.نتایج این تحقیق مشخص کرد که تنوع ژنتیکی خوبی در بین این نمونه‌ها وجود دارد که می‌توان از آن در برنامه‌های اصلاحی سود جست.

علی‌رغم جایگاه خاص لوبیا در کشاورزی ایران، متأسفانه تاکنون تحقیقات قابل قبولی در مورد تنوع ژنتیکی لوبیا با استفاده از نشانگرهای مولکولی صورت نگرفته و عمده کار انجام شده بر پایه صفات مورفولوژیکی بوده است که این روش نیز به دلیل تأثیر محیط از دقت مناسبی برخوردار نمی‌باشد. در این راستا، این تحقیق به منظور پر نمودن خلاء موجود و با اهداف زیر انجام پذیرفت:

الف – گروه‌بندی ارقام ولاین‌های لوبیا با استفاده از نشانگر RAPD

ب - مشخص کردن قرابت ژنتیکی ارقام و لاین‌های لوبیا با یکدیگر جهت سهولت در انتخاب پایه‌های والدی در پروژه‌های اصلاحی مبتنی بر هیبریداسیون.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، ۷۵ رقم و لاین لوبیا از انواع مختلف قرمز، چیتی و سفید مورد مطالعه قرار گرفتند. مشخصات ارقام و لاین‌های مورد مطالعه در جدول یک درج گردیده است.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

اسپکتروفتومتری و انجام الکتروفورز در ژل آگارز(۰/۷ درصد) استفاده گردید. جهت انتخاب آغازگر و با استفاده از منابع موجود تعداد ۲۰ آغازگر انتخاب گردید که ۶ عدد از آن‌ها چندشکلی مطلوب ایجاد نمودند (جدول ۲) (Martins *et al*., 2006) . واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۰

میکرولیتر انجام گرفت که مواد واکنش شامل DNA با غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر، یک واحد Taq DNA Polymerase ، ۵ نانو گرم در میکرولیتر آغازگر، ۱۰ میلی مولار dNTPs، یک میکرولیتر بافر 10xPCR و ۵۰ میلی مولار $MgCl_2$ بود.

جدول ۱- مشخصات ارقام و لاین‌های لوبیا مورد مطالعه

Table 1. Common bean subpopulations subjected to RAPD analysis

No.	Red bean		No.	White bean		No.	Chiti bean	
	Gynotype	Collection site		Gynotype	Collection site		Gynotype	Collection site
1	Asna	Lorestan	**26**	G5710	CIAT	**51**	KS-21305	CIAT
2	KS-31115	CIAT	**27**	KS41136	CIAT	52	KS-21202	CIAT
3	KS-31158	CIAT	28	WA8528-9	Khomin	**53**	KS-21320	CIAT
4	KS-31155	CIAT	29	11805	Khomin	54	Daneshjoo	Khomin
5	Sayyad	Lorestan	30	KS-41205	CIAT	55	Talash	Khomin
6	KS-3159	CIAT	31	KS-41234	CIAT	56	Khomin	Khomin
7	KS-31113	CIAT	32	KS-41209	CIAT	57	KS-21378	CIAT
8	KS-31160	CIAT	33	KS-41202	CIAT	58	KS-21424	CIAT
9	KS-31163	CIAT	34	KS-41238	CIAT	59	KS-21304	CIAT
10	KS-31162	CIAT	35	KS-41207	CIAT	60	Cos16	Lorestan
11	KS-31117	CIAT	36	shekoofa[1]	[1] Khomin	61	pinto	Lorestan
12	KS-31118	CIAT	37	KS-237	CIAT	62	tylor	Lorestan
13	KS-31168	CIAT	38	KS-232	CIAT	63	cardinal	Lorestan
14	D81083	CIAT	39	Dehghan	Khomin	64	KS-21313	CIAT
15	Talash	Khomin	40	yas	Khomin	65	KS-21234	CIAT
16	Capsooli	Khomin	41	daneshkadeh	Khomin	66	Cran75	Lorestan
17	naz	Khomin	42	Line1	Lorestan	67	KS-21300	CIAT
18	Goli	Khomin	43	Line2	Lorestan	68	KS-21317	CIAT
19	Line 1	Lorestan	44	Line3	Lorestan	69	KS-21425	CIAT
20	Line 2	Lorestan	45	Line3	Lorestan	70	KS-21275	CIAT
21	Line 3	Lorestan	46	Line4	Lorestan	71	KS-21419	CIAT
22	Line 4	Lorestan	47	Line5	Lorestan	72	KS-21273	CIAT
23	Line 5	Lorestan	48	Line7	Lorestan	73	KS-21451	CIAT
24	Line 6	Lorestan	49	marmar	Khomin	74	KS-21461	CIAT
25	Akhtar	Lorestan	50	sadaf	Khomin	75	KS-21393	CIAT

تکثیر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر به صورت زیر انجام شد: به مدت ۵ دقیقه دریک چرخه اولیه و در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و سپس یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه، یک دقیقه در۳۷ درجه و دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه در ۴۰ چرخه ، پس از انجام ۴۰ چرخه به مدت ۷ دقیقه دمای ۷۲ درجه باعث تکثیر نهایی رشته‌های DNA گردید (Duran & Blair, 2005).

بذر ارقام مختلف لوبیا پس از کاشت در گلدان ، در دستگاه ژرمیناتورو در شرایط کنترل شده شامل دمای روزانه ۲۵ و شبانه ۲۰ درجه و با طول مدت روشنایی ۱۶ ساعت قرار داده شد و در مرحله دو برگی از برگ‌های کاملاً رشد کرده اقدام به نمونه‌گیری گردید. برگ‌های هر بوته به‌طور جداگانه در کیسه‌های نایلونی بسته‌بندی شده و در داخل ظرف یخ به فریزر ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند. استخراج DNA کل از گیاهان به روش Hot CTAB با اندکی تغییرات جزئی انجام گرفت (Zhang *et al*.,1998).

محصولات تکثیرشده در ژل آگارز ۱/۲ با بافر TAE 1x در ولتاژ ۹۵ به مدت دو ساعت در الکتروفورز بارگذاری شدند و سپس بر اساس وجود و یا عدم وجود باند، کد صفر و یک داده شد. پارامترهای مربوط به ساختار ژنتیکی درون و بین زیر جمعیت‌ها (سفید ، قرمز و چیتی) با استفاده از نرم‌افزار POPGENE 32 و بر اساس روش تشابه نی و شانون محاسبه گردیدند (Yeh, 1999).

به منظور ترسیم دندروگرام‌های مربوطه نیز پس از تشکیل ماتریس تشابه با استفاده از ضریب نی و تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم UPMGA ، با استفاده از نرم‌افزار NTYSYSpc 2.02eS، انجام پذیرفت. پارامترهایی که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند به شرح زیر می‌باشند:

۱) تعداد کل باندهای تشکیل شده هر آغازگر: با شمارش تعداد باندهای ایجاد شده در اثر استفاده از هر آغازگر

۲) تعداد باندهای چند شکل هر آغازگر: با شمارش تعداد باندهای چند شکل ایجاد شده در اثر استفاده از هر آغازگر

۳) درصد چند شکلی: با استفاده از درصدگیری تعداد باندهای چند شکل به تعداد کل باندها

۴) میزان اطلاعات چندشکلی (PIC): با استفاده از فرمول $PIC = 1- \sum Pi^2$

(Pi فراوانی نوار i ام)

۵) شاخص نشانگر[1] (MI): با استفاده از فرمول$MI=PIC.N.B$ (Prasad *et al*, 2000)

(PIC میزان اطلاعات چندشکلی، N تعداد کل باندها برای هر آغازگر، B درصد چندشکلی هر آغازگر)

[1]-Marker Index

سایر موارد زیر با استفاده از نرم‌افزار محاسبه گردید:

۶) تعداد آلل مشاهده شده[۱] (Na)

۷)تعداد آلل‌های موثر[۲] (Ne)

۸) تنوع ژنتیکی نی[۳] (H)

۹) شاخص اطلاعاتی شانون[۴] (I)

۱۰) جریان ژنی[۵] (Nm)

۱۱) ضریب تمایز ژنی[۶] (G_{ST})

۱۲) تنوع ژنتیکی نهایی[۷] (HT)

۱۳) تنوع ژنتیکی داخل زیر جمعیت‌ها[۸] (HS)

جدول ۲- مشخصات و اطلاعات آغازگرهای RAPD مورد استفاده

Table 2. primers with their sequences used for RAPD analysis

Cod	Primer sequences(5-3)
OPM9	GTCTTGCGGA
OPO3	CTGTTGCTAC
OPO10	TCCCACGCAA
OPBC2	ACAGTAGCGG
OPBD18	ACGCACACTC
OPBD20	AGGCGGCACA

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های مربوط به معیارهای آغازگرها و تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها در جدول ۳ درج گردیده است.

در کل جمعیت لوبیا، مجموعاً تعداد ۷۲ باند ایجاد گردید که آغازگر OPM9 با ۱۵ باند بیشترین تعداد را داشته است. میانگین حاصله برای آغازگرها ۱۲ محاسبه گردید. از ۷۲ باند ایجاد شده تعداد ۴۳ باند چند شکلی نشان داده است که بیشترین متعلق به OPBD20 بوده است. میانگین باندهای چند شکل نیز ۷ محاسبه شد.

[1]-Observed number of alleles
[2]-Efficient number of alleles
[3]-Neis gene diversity
[4]-Shannons information index
[5]-Gene flow
[6]-Gene differentiation coefficient
[7]-Total genetic diversity
[8]-Genetic diversity within subpopulation

مطابق جدول ۳ آغازگر OPBD20 با ۷۸٪ بیشترین درصد چندشکلی را دارا بوده‌اند و OPO3 با ۳۸٪، کمترین میزان را داشته است. میانگین به دست آمده برای آغازگرها ۵۹٪ می‌باشد. در آنالیز ارقام لوبیا آغازگرOPM9 با ۰/۴ بالاترین و OPBD18 با ۰/۳۱ کمترین مقدارPIC را دارا بودند. میانگینPIC به دست آمده در این ارقام معادل ۳۵/ بوده است. میزان PIC به عواملی مثل تعداد آلل هر جایگاه و توالی تکراری وابسته است (Roder et al, 1998). در جمعیت مورد مطالعه بیشترین شاخص نشانگر متعلق به OPBD20 و به میزان ۳/۸۵ و OPBC2 با ۱/۶۵ کمترین شاخص را دارا بوده است. میانگین شاخص‌های محاسبه شده نیز ۲/۵۲ بوده است. این شاخص پتانسیل هر آغازگر در تولید نوار بیشتر را نشان می‌دهد (Anderson et al, 1993). داده‌های تعداد آلل موثر مؤید این نکته است که بیشترین آلل به میزان ۱/۶۷ آلل متعلق به OPM9 بوده و OPBD18 نیز کمترین تعداد آلل موثر را به میزان ۱/۱۴ دارا بوده است. در جمعیت لوبیا میانگین آلل‌های موثر به دست آمده، معادل ۱/۳۷ می‌باشد. بیشترین میزان H و I مربوط به آغازگر OPM9 به ترتیب با ۰/۳۷ و ۰/۵۵ و کمترین نیز متعلق به OPBD18 به ترتیب با ۰/۱۲ و ۰/۲۴ می‌باشد. میانگین این شاخص‌ها نیز ۰/۲۳ و ۰/۳۸ محاسبه گردید.

جدول ۳- شاخص‌های اندازه‌گیری شده مربوط به آغازگرهای RAPD و تنوع ژنتیکی جمعیت کل لوبیا

Table 3. Calculated indexes related to genetic diversity of common bean population

Primer Code	Total Bands	Polymorphic Bands	Percentage of polymorphism	PIC	MI	Na	Ne	H	I
OPM9	15	8	53	0.4	3.2	2	1.67	0.37	0.55
OPO3	13	5	38	0.35	1.75	2	1.51	0.29	0.45
OPO10	9	6	66	0.37	2.22	2	1.39	0.26	0.42
OPBC2	9	5	55	0.33	1.65	2	1.3	0.22	0.37
OPBD18	12	8	66	0.31	2.48	2	1.14	0.12	0.24
OPBD20	14	11	78	0.35	3.85	2	1.21	0.14	0.26
Mean	12	7.1	59	0.35	2.52	2	1.37	0.23	0.38

PIC: Polymorphism Information Content, MI: Marker index, Na: Observed number of alleles, Ne: Efficient number of alleles, H: Neis gene diversity, I: Shannons information index

جهت بررسی روابط بین جمعیت‌های لوبیا (قرمز، سفید، چیتی)، شاخص‌های بین جمعیتی محاسبه شدند (جدول ۴). اولین شاخص، میانگین تنوع ژنتیکی نهایی (Ht) می‌باشد که ۰/۲۳ محاسبه گردید. بیشترین میزان Ht به آغازگر OPM9 و کمترین به آغازگر OPBD18 تعلق دارد. شاخص متوسط تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها (Hs) نیز ۰/۱۷ برآورد شد که نشان‌دهنده تنوع ژنی بین افراد در هر جمعیت می‌باشد. OPM9 با ۰/۲۴ بیشترین و OPBD18 با ۰/۱۱ کمترین میزان Hs را

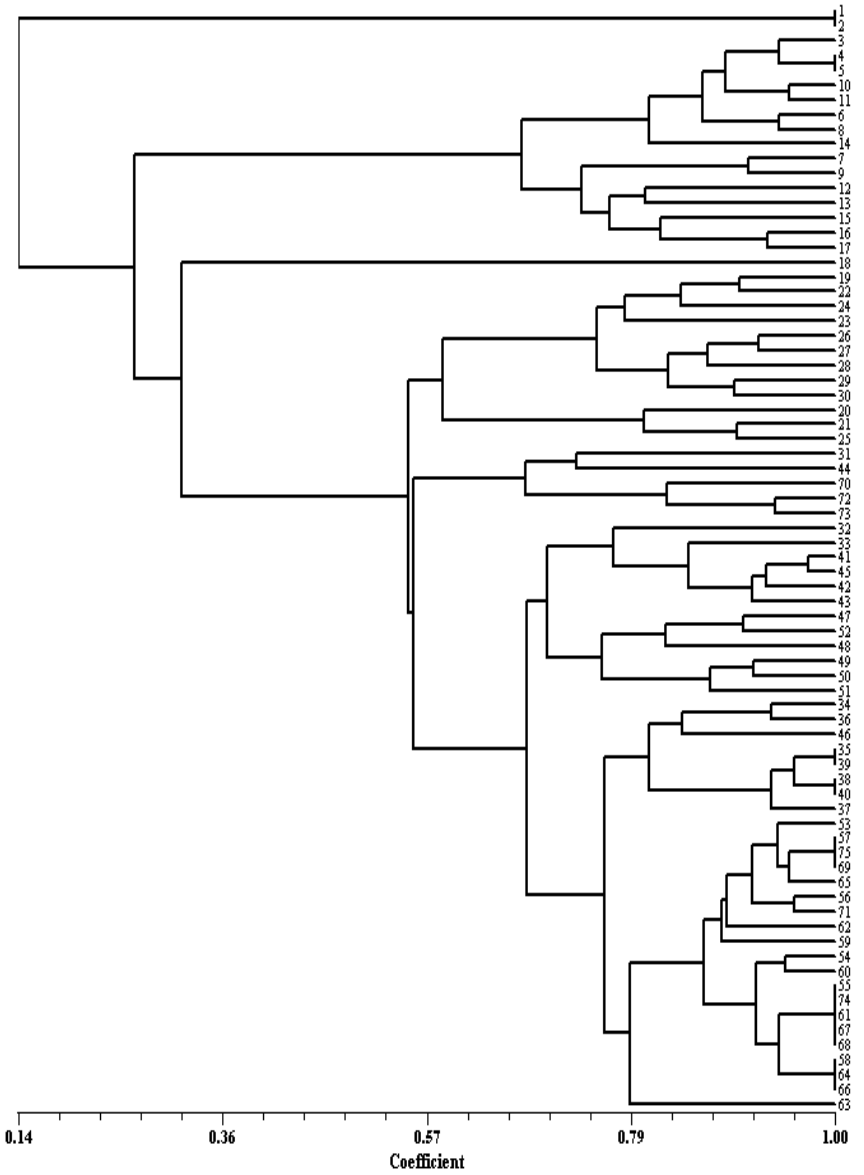
دارا بوده‌اند. با توجه به مفهوم مقدار تنوع ژنی در جمعیت نهایی که حاصل جمع تنوع ژنی در داخل جمعیت‌ها و تنوع ژنی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Nie,1973)، نتایج حاصله نمایانگر اختلاف بین تنوع ژنی در جمعیت نهایی با متوسط تنوع ژنی درون جمعیت‌ها می‌باشد که بیانگر وجود تفاوت بین جمعیت‌ها می‌باشد. به عبارت بهتر آنچه که به عنوان تنوع ژنتیکی نهایی لوبیا مشخص گردیده، به میزان ۰/۱۷ از تنوع درون جمعیتی و ۰/۰۶ نیز به دلیل تفاوت بین جمعیت‌ها ایجاد شده است. بررسی ضریب تمایز ژنی (Gst) و جریان ژنی (Nm) نیز مؤید همین نکته می‌باشد. با توجه به میزان Gst محاسبه شده (۰/۲۸)، مشخص می‌گردد که ۲۸ درصد از تنوع مشاهده شده در جمعیت نهایی ناشی از تنوع بین جمعیت‌ها و عمده آن (۷۲ درصد) ناشی از بروز تنوع بین افراد جمعیت‌ها بوده است. بالا بودن این ضریب نمایانگر تعداد کم آلل مشترک بین جمعیت‌ها می‌باشد. به عبارت بهتر هرچه این ضریب بیشتر باشد، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها نیز بیشتر بوده و این فاصله سبب بروز تنوع نهایی می‌گردد. بیشترین میزان Gst به آغازگر OPM9 و کمترین به آغازگر OPBD20 تعلق دارد. مقدار جریان ژنی نیز متأثر از ضریب تمایز ژنی بین جمعیت‌ها بوده و همبستگی منفی ب آن دارد. OPBD18 بیشترین و OPO10 کمترین میزان Nm را دارا بوده‌اند. تجزیه خوشه‌ای کلی مربوط به ارقام لوبیا، با استفاده از ضریب تشابه نی و به روش UPGMA و در ضریب تشابه ۰/۷ صورت پذیرفت (شکل ۱). آنچه که به عنوان هدف اصلی در رسم دندروگرام کلی مدنظر بوده، بررسی این نکته است که آیا تقسیم ارقام و تفکیک آن‌ها به ۳ جمعیت قرمز، چیتی و سفید امکان‌پذیر می‌باشد یا خیر. نتایج حاصل از آنالیز شاخص‌های تنوع ژنتیکی (بر اساس آغازگرهای RAPD) نشان داده است که بین جمعیت‌های لوبیا ۲۸٪ تنوع ژنی وجود دارد و عمده تنوع ناشی از اختلاف ارقام بوده است.

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص‌های تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های لوبیا به دست آمده از آغازگرهای RAPD

Table 4. Calculated indexes related to genetic diversity between subpopulations of common bean

primer	Nm	Gst	Hs	Ht
OPM9	6.5	0.5	0.24	0.37
OPO3	6.21	0.23	0.18	0.29
OPO10	2.6	0.2	0.2	0.26
OPBC2	7.9	0.15	0.17	0.22
OPBD18	48	0.04	0.11	0.12
OPBD20	12	0.07	0.12	0.14
Mean	13.8	0.28	0.17	0.23

Nm: Gene flow, Gst: Gene differentiation coefficient, Hs: Genetic diversity within subpopulation, Ht:Total genetic diversity



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ارقام لوبیا با استفاده از آغازگرهای RAPD

Figure 1. Cluster analysis of 75 common bean using UPGMA method based on RAPD data

بحث

در اجرای این طرح دو هدف عمده مورد نظر بوده که یکی امکان تفکیک مکانی و دیگر تفکیک جمعیتی لوبیاهای مورد بررسی بوده است. نتایج به دست آمده در این تحقیق بیانگر این نکته است که اختلاف عمده‌ای بین جمعیت‌های لوبیا وجود نداشته و تفاوت بین ارقام بوده است. پایین بودن ضریب تمایز ژنی به دست آمده نشان می‌دهد تعداد آلل‌های مشترک بین جمعیت‌ها زیاد می‌باشد.

به عبارت دیگر تبادل ژنی بین جمعیت‌ها زیاد بوده و یا این جمعیت‌ها دارای منشأ مشترک می‌باشند. با توجه به اینکه لوبیا بومی ایران نبوده و از نمونه‌های وارد شده برای کاشت استفاده گردیده و با توجه به خود گرده‌افشان بودن این گیاه، عدم تفکیک جمعیتی و مکانی قابل توجیه است. این نتیجه همانند گزارش Grassi *et al*. (2006) می‌باشد، در صورتی‌که Moyib *et al*. (2008) در تحقیق خود خلاف این امر را گزارش نموده است. از سوی دیگر نتایج نشان داده است که آغازگرهای به کار برده شده بعضی از ارقام را با یک ضریب تشابه جدا نموده‌اند که به نظر می‌رسد این تشابه به دلیل آغازگرها بوده و نه یکسان بودن ارقام مورد بررسی.

سپاسگزاری

انجام این تحقیق با همکاری مرکز تحقیقات لوبیای خمین و ایستگاه تحقیقات بروجرد و همچنین دانشگاه آزاد اسلامی شیراز میسر گردیده که بدین‌وسیله از همه عزیزان قدردانی می‌گردد.

منابع

Agrama, H. A and Tuinstra, M. R. 2003. Phylogenic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs. *African Journal Biotechnology*, 2: 334- 340.

Anderson, J, A. and J. E. Church. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage map. *Genome* 36(1) 181-188.

Beebe, S. Skroch, P. W. Tohme, J. Duque, M. C. Pedraza, F and Nienhus, J. 2000. Structure of genetic diversity among bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Science*, 40: 264-273.

Braithwaite, K. S. and Manners, J. M. 1994. DNA markers reveal hybrids between two diverse background genotypes in Australian collections. *Australian Journal of Botany*: 42: 255-267.

Chtourou-Ghorbel, N., Lauga, B., Brahim, N., Combes, D. and Marrakchi. M. 2002. Genetic variation analysis in the genus *Lathyrus* using RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 363-370.

Danylchenko, O and Sorochinsky, B. 2005. Use of RAPD assay for the detection of mutation changes in plant DNA induced by UV-B and g-rays. *BMC Plant Biology*, 5 (Suppl. 1), S9.

Duran, L. Blair, M.W. 2005. Morphological and molecular characterization of common bean landraces and cultivars from the Caribbean. *Crop Science*.45:1320-1328

Grisi, M.C.M., Blair, M.W. and Gepts, P. 2007. Genetic mapping of a new set of microsatellite markers in a reference common bean population BAT93 × Jalo EEP558. *Genetic and Molecular Research*, 6:691-706

Martins, S. R., Venses, F. J., Saenz, L. E., Barroso, M. R. and Carnide, V. 2006. RAPD analysis of genetic diversity among and within Portuguese landraces of common white bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Scientia Horticulturae*108:133-142.

Matus, I. A. and Hayes, P. M. 2002. Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, 45: 1095- 1106.

Prasad, M., Varsheny, R. K. and Roy J. K. 2000. The use of microsatellite for detection DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 584-52.

Roder, M. S. and Korzun, V. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 149: 2007-2023.

Saraladevi, M. and Selvaraju, A. 2008. Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of bean landraces. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11 (3):1-10.

Yeh, F. C. and Yang, R. C. 1999. *POPGENE, the user-friendly Shareware for Population Genetic Analysis*. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.

Zhang, X. Y., Blair, M. W and Wang, S. 2008. Genetic diversity of Chinese common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces assessed with simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 117(4): 629- 640.